



# **O impacto do jejum no prognóstico do cancro**

**Maria João Pinto da Silva**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Medicina**

(Mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutor José Luís Ribeiro Themudo Barata

Co-orientador: Doutor David Filipe André da Silva Dias

**Abril de 2023**



## **Declaração de Integridade**

Eu, Maria João Pinto da Silva, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 39574 do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 30/04/2023

Maria João Pinto da Silva



## Resumo

No mundo inteiro, milhões de pessoas vivem com o diagnóstico de cancro. Nos países desenvolvidos, a incidência e a prevalência desta doença tem vindo a aumentar devido a uma população mais envelhecida e contínua exposição a fatores de risco. Em Portugal, no ano de 2020, registaram-se cerca de 60467 novos casos e 30168 de mortes causadas por esta doença crónica.

Embora a alimentação / restrição calórica já provaram ser ferramentas eficazes na prevenção da incidência de cancro, pouco se sabe do seu uso no prognóstico da doença. Recentemente, surgiram evidências científicas que relacionam práticas do jejum com o aumento da eficácia de terapias convencionais como a quimioterapia, radioterapia e imunoterapia.

Assim, estudos contemporâneos equacionam o potencial do jejum como terapia adjuvante, uma vez que o seu impacto diferencial na resistência ao *stress* em células saudáveis *vs* tumorais começa a suscitar interesse na comunidade científica.

Após a revisão bibliográfica sobre o tema, pode observar-se que o jejum pode ter vários efeitos benéficos no tratamento anti-cancerígeno, em termos de qualidade de vida e de toxicidade dos fármacos.

Outro aspeto positivo desta intervenção alimentar, é que ajuda a promover a participação dos doentes no processo terapêutico, algo que é fortemente recomendado pela comunidade oncológica.

Conclui-se que para validar estes estudos primordiais são necessários mais ensaios clínicos e com uma amostra estatisticamente mais relevante. De maneira a ser possível inferir sobre os resultados, é de salientar que as variáveis em teste devem ser reduzidas ao mínimo, de maneira a isolar os efeitos de cada combinação entre tipo de cancro *vs* estadio *vs* terapia *vs* tipo de jejum e a sua duração.

## Palavras-chave

Cancro; jejum; restrição calórica; autofagia; tratamento



# **Abstract**

World wide, millions of people live with a cancer diagnosis. In developed countries, the incidence and prevalence of this disease has been increasing due to an aging population and continued exposure to risk factors. In Portugal, in the year 2020, there were about 60467 new cases and 30168 deaths caused by this chronic disease.

Although diet/caloric restriction have proven to be effective tools in preventing cancer incidence, little is known about their use in the prognosis of the disease. Recently, scientific evidence has emerged that links fasting practices with increased efficacy of conventional therapies such as chemotherapy, radiation and immunotherapy.

After reviewing the literature on the subject, it can be seen that it can have several beneficial effects on anticancer treatment, in terms of quality of life and drug toxicity.

Another positive aspect of this dietary intervention is that it helps to promote patient participation in the therapeutic process, something that is strongly recommended by the oncology community.

It is concluded that to validate these primary studies, more clinical trials are needed and with a more statistically relevant sample size. In order to be able to make any conclusions about the results, it should be noted that the variables under test should be kept to a minimum, in order to isolate the effects of each combination between cancer type vs stage vs therapy vs type or duration of fasting.

## **Keywords**

Cancer; fasting; caloric restriction; autophagy; treatment



# Índice

1	Introdução	1
2	O jejum e as <i>Fast Mimicking Diets (FMDs)</i>	3
3	Resposta sistémica ao jejum	5
4	Resposta celular ao jejum	7
5	O metabolismo das células cancerosas	10
6	Autofagia	13
7	Resistência diferencial ao <i>stress</i> (DSR)	15
8	Sensibilização diferencial ao <i>stress</i> (DSS)	18
9	Estudos Clínicos	21
10	Conclusão	25
11	Bibliografia	27



# Lista de Figuras

Figura 1. Resistência diferencial ao *stress* e sensibilização diferencial ao *stress*

# Lista de Acrónimos

PI <sub>3</sub> K	<i>Phosphoinositide 3 kinases</i>
AKT/PKB	Proteína quinase B
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IGFBP-1	<i>IGF-binding protein 1</i>
FMDs	<i>Fasting mimicking diets</i>
CR	Restrição calórica
PF	Jejum periódico
IF	Jejum intermitente
ADF	Jejum de dias alternados
TRF	alimentação com restrição de tempo
GH	Hormona de crescimento
CoA	Coenzima A
STF	<i>Short-term fasting</i>
IGFBP-3	<i>IGF-binding protein 3</i>
Ras	Proteína codificada pelo gene RAS
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
mTOR	<i>Mammalian target of rapamycin</i>
FOXO	<i>Forkhead box protein O</i>
PPAR $\gamma$	<i>Peroxisome proliferation-activated receptor-gamma</i>

Nrf2	<i>Nuclear factor erythroid-2-related factor 2</i>
HO-1	Enzima hemeoxigenase 1
SOD	Enzima superóxido dismutase
PKA	Proteína quinase A
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
EGR1	<i>Early growth response protein 1</i>
P53	Proteína de tumor
CDK	Quinase dependente de ciclina
P27	Proteína inibidora das CDK
LKB1	<i>Liver kinase 1</i>
NF-κB	<i>Fator nuclear kappa B</i>
JAK	<i>Janus kinases</i>
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription proteins</i>
VEGF	Fator endotelial vascular
HIF-1α	<i>Hypoxia-inducible factor-1α</i>
SIRT1	Sirtuína 1
ASGR2	Recetor 2 da asialoglicoproteína
T3	Tri-iodotironina
T4	Tiroxina
TSH	Hormona estimulante da tiróide
ATP	Adenosina trifosfato

PET	Tomografia por emissão de positrões
HSP	Via da síntese de hexosamina
PPP	Via das pentoses-fosfato
GLUT	Proteínas transportadoras de glicose
HKs	Hexoquinases
MYC	<i>Myelocromatosis oncogene</i>
KRAS	<i>Kirsten rat sarcoma virus</i>
YAP	<i>Yes associated protein</i>
LDH	Desidrogenase láctica
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
NAD+	Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado
G6P	Glicose-6-fosfato
R6P	Ribulose-5-fosfato
GSSG	<i>Glutathione disulfide</i>
ROS	Espécies reativas de oxigénio
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
SREBP1	<i>Sterol regulatory elemento-binding protein 1</i>
TK	Transcetolase
FFA	Ácidos gordos livres
ALL	Leucemia Aguda linfoblástica
BCCA	Aminoácidos de cadeias ramificadas

PTEN	Fosfatase homóloga à tensina
TSC	<i>Tuberous sclerosis complex</i>
DSR	Resistência diferencial ao <i>stress</i>
Rb	Proteína retinoblastoma
LID	<i>Liver IGF-1-deficient</i>
DXR	Doxorrubicina
ANP	Peptídeo natriurético atrial
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
DSS	Sensibilização diferencial ao <i>stress</i>
TKIs	Inibidores da tirosina quinase
IGF-1R	Recetor do IGF-1
USC	<i>University of Southern California</i>
CTCAE	<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
PSA	Antigénio prostático específico
CA-125	<i>Cancer antigen 125</i>
LUMC	<i>Leiden University Medical Center</i>

**Folha em branco**

# 1 Introdução

O cancro é uma das causas mais frequentes de morte e morbilidade no mundo inteiro e é um problema *major* de saúde pública. (1) A sua incidência tem vindo a aumentar ao longo dos anos e, prevê-se que assim continue, devido a uma população cada vez mais envelhecida e a uma prevalência de fatores de risco, como obesidade, tabagismo e maus hábitos alimentares, (em países desenvolvidos). (1) Apesar de, hoje em dia, serem usados vários métodos de tratamento, incluindo quimioterapia, imunoterapia e radioterapia, estes induzem toxicidades nos tecidos vizinhos e não são totalmente eficazes. (1)

A alimentação tem um grande impacto na saúde. (2,3) Uma alimentação pouco saudável, caracterizada por um consumo excessivo de gorduras saturadas e trans, açúcares adicionados e sal e, por outro lado, pouca ingestão de fibras, vitaminas e minerais, aumenta o risco de várias doenças crónicas, como a obesidade, doenças cardiovasculares, Diabetes *Mellitus* tipo 2 e doenças neoplásicas. (2) Existem fortes associações epidemiológicas entre uma má alimentação e cancro, nomeadamente o consumo exagerado de carnes processadas. (2) O jejum assim como a restrição calórica, têm grandes benefícios na prevenção de doenças e longevidade celular. (2,4) Efetivamente, manter uma alimentação saudável ao longo da vida reduz o risco de desenvolver doenças neoplásicas. (2) No entanto, pouco se sabe do impacto da alimentação depois da doença neoplásica já estar estabelecida e diagnosticada, particularmente o impacto desta no tratamento do cancro. (2)

O jejum tem sido falado, pelos seus benefícios na saúde, há décadas. (2,5) Estudos epidemiológicos mostram um aumento da esperança de vida e diminuição da incidência de cancro, assim como doenças cardiovasculares, em pessoas que fazem jejum intermitente, quer por motivos religiosos quer por motivos pessoais. (2,5) O jejum é a privação alimentar completa, exceto para beber água, com intervalos de ingestão regular de alimentos. (6) Existem vários tipos de jejum, o periódico, o de dias alternados e, o mais conhecido, o jejum intermitente. (6)

Recentes estudos têm testado o potencial da restrição calórica como terapia adjuvante para aumentar a eficácia da quimioterapia, radioterapia e imunoterapia. (7) No entanto, é muito desafiante implementar uma restrição calórica crónica em pacientes com cancro, e, por isso, o jejum intermitente parece ser mais indicado, já que, também tem mostrado, otimizar essas mesmas terapias. (7) Tanto a restrição calórica como o jejum intermitente, induzem diferentes respostas em células normais e cancerosas, e, reduzem os efeitos secundários citotóxicos das terapias convencionais. (7) Estudos clínicos atuais e futuros, vão revelar

mais informação para se perceber em que tipo de cancro, e em que estadio, o jejum é mais eficaz. (7)

O jejum reforça a resistência ao *stress* em células saudáveis, enquanto que, as células tumorais, ficam mais sensíveis a toxinas, talvez por falta de nutrientes para satisfazer as suas condições de alta taxa de proliferação, e/ou, perda de flexibilidade para responder a circunstâncias extremas. (8) A restrição nutricional é um protocolo promissor para modular a autofagia, que se encontra, muitas vezes, diminuída nas células cancerosas. (9)

Um dos marcadores *major* das células malignas é o seu metabolismo aberrante. (10) O metabolismo anormal destas células, assim como, glicólise e aumento das vias anabólicas, tem um papel importante na tumorigénese e na metastização. (10) Vias de sinalização oncogénicas, já bem conhecidas e descritas, como a fosfoinositido 3-kinase (PI3K)/AKT, mediam a expressão de genes metabólicos e aumentam a atividade de enzimas metabólicas. (10) O contrário também acontece, isto é, vias metabólicas desreguladas provocam defeitos na transdução dos sinais celulares, o que, por sua vez, reduz o potencial para a proliferação descontrolada de células tumorais. (10)

Estudos e ensaios clínicos, estão focados na inibição de enzimas metabólicas através de intervenções na alimentação (jejum, restrição calórica e jejum intermitente). (11) Este metabolismo das células malignas leva a um aumento de absorção de glicose, alteração da função mitocondrial e diminuição da resposta a sinais anti proliferativos. (10) O jejum provoca a diminuição do IGF-1, de insulina e glicose, e, o aumento, de IGFBP1 e corpos cetónicos. (10) Assim, criam-se condições que forçam as células cancerosas a depender mais de metabolitos e fatores que estão em concentração limitada no sangue, o que resulta, em morte celular. (12)

## **2 O jejum e as *Fast Mimicking Diets (FMDs)***

Em mamíferos, várias formas de privação, completa ou parcial, de alimentos têm sido investigadas, desde reduzir o consumo diário de calorias a 20-40% (restrição calórica, CR), restrição de nutrientes específicos sem afetar o consumo calórico (restrição proteica), o jejum intermitente (jejum intermitente, jejum de dias alternados), o jejum periódico (PF) e as FMDs. (13)

O jejum pode ser realizado por períodos frequentes de curto prazo, chamado jejum intermitente (IF), ou períodos menos frequentes, mas mais longos, conhecido como jejum periódico. (14) O IF é um padrão de alimentação que tem ciclos de jejum e de consumo alimentar. (13) Existem múltiplos exemplos de IF, incluindo: jejum completo de dois em dois dias (também chamado ADF - jejum de dias alternados); alimentação com restrição de tempo (TRF), durante a qual a ingestão de alimentos se restringe a 6-12 h por dia; dieta 5:2, que é conseguida consumindo apenas 500-700 calorias durante dois dias por semana. (13,14) O jejum intermitente está entre os métodos de jejum mais estudados em roedores e tem comprovado de forma consistente não só a capacidade de proteção contra várias patologias como também o aumento da esperança de vida. (13) O jejum periódico consiste na abstinência total de comida por vários dias, em ratos, são geralmente 48-72h, sem limitação hídrica. (13) Os benefícios do PF em estudos pré-clínicos incluem perda de peso (durante o período de jejum que voltam a ganhar no período de reintrodução alimentar), aumento da sensibilidade à insulina, ativação da autofagia, renovação celular e efeitos anticancerígenos, mas as preocupações sobre a segurança e a adesão podem ser responsáveis pela limitada contribuição do PF na prática médica. (13)

As FMD's foram desenvolvidas para abordar as preocupações de segurança associadas ao PF, tais como as baixas taxas de adesão e a subnutrição. (13) As FMD's foram criadas para serem uma intervenção de curto prazo que é baixa em proteínas, rica em gorduras saudáveis e com carboidratos complexos, bem como vitaminas essenciais e minerais, imitando os efeitos do jejum ao diminuir a ativação da via da insulina/glicose, enquanto evita os potenciais efeitos secundários da falta de nutrientes essenciais. (13,14) Em ratos, as FMD's aumentam o tempo de vida, reduzem a inflamação e a incidência de cancro, aperfeiçoam o desempenho cognitivo e, no geral, melhoram a saúde. (13) Num ensaio clínico aleatório, as FMD's reduziram os fatores de risco para a síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, cancro e envelhecimento. (14)

As provas de estudos *in vivo*, indicam um aumento de células estaminais hematopoiéticas, após a aplicação de FMD, sugerindo a importância do seu papel na regeneração de vários tipos de células. (15) A viabilidade de uma maior duração da FMD (5 dias por mês durante

três meses) em humanos foi investigada num ensaio-piloto com 19 adultos, geralmente saudáveis. (15) Em comparação com o grupo controlo (alimentação normal), a gravidade média dos efeitos secundários e os níveis de glicose no sangue em jejum e IGF-1 em circulação registados eram mais baixos no grupo da FMD. (15) Num ensaio clínico recentemente publicado, a FMD foi administrada como adjunto da quimioterapia neoadjuvante em doentes com cancro da mama na fase aleatória 2 do ensaio DIRECT. (15,16) A FMD melhorou significativamente a eficácia da quimioterapia neoadjuvante sobre a resposta tumoral radiológica e patológica, em doentes com cancro da mama HER2 negativo precoce. (15,16) No entanto, a qualidade de vida dos pacientes não diferiu significativamente. (15,16)

### 3 Resposta sistémica ao jejum

Na maioria dos mamíferos, o fígado funciona como o principal reservatório de glicose, que é armazenada sob a forma de glicogénio. (17) Nos humanos, dependendo do seu nível de atividade física, 12 a 24 horas de jejum resultam tipicamente numa diminuição de 20% ou mais na glicose sérica e na extinção do glicogénio hepático, acompanhado por uma mudança para um estado metabólico em que a glicose não hepática, os corpos cetónicos derivados da gordura e os ácidos gordos livres são utilizados como fontes de energia. (17) A resposta ao jejum é instrumentada pelos níveis de glicose, insulina, glucagon, hormona de crescimento (GH), IGF1, glicocorticóides e adrenalina circulantes.(10)

Numa fase inicial pós-absortiva, que dura tipicamente de 6 a 24h, os níveis de insulina começam a descer, enquanto os níveis de glucagon aumentam, promovendo a degradação de glicogénio armazenado no fígado e, conseqüentemente, a libertação de glicose para produção de energia. (8,10,18) A presença de glucagon e os baixos níveis de insulina também estimulam a degradação de triglicérides, que são maioritariamente armazenados no tecido adiposo, transformando-se em glicerol e ácidos gordos livres.(10,17) Durante o jejum, a maior parte dos tecidos utiliza ácidos gordos para produzir energia, enquanto o cérebro depende da glicose e dos corpos cetónicos sintetizados pelos hepatócitos que podem ser produzidos a partir da acetil-CoA gerada da beta-oxidação de ácidos gordos ou a partir de aminoácidos cetogénicos. (8,10,17) O glicerol e os ácidos gordos livres são libertados pelo tecido adiposo e, como resultado, o acetoacetato, o beta-hidroxibutirato e a acetona tornam-se a principal fonte de carbono, ao fim de alguns dias de jejum. (17,18) Após a depleção do glicogénio hepático, os corpos cetónicos, o glicerol derivado da gordura e os aminoácidos são responsáveis pela produção de aproximadamente 80g/dia de glicose, que é produzida através de um processo denominado gliconeogénese, na sua maioria utilizada pelo cérebro. (8,10,17)

Os glicocorticóides e a adrenalina também contribuem diretamente nas adaptações metabólicas ao jejum, ajudando a manter os níveis de açúcar no sangue e estimulando a lipólise. (10) Efetivamente, apesar do jejum conseguir, pelo menos temporariamente, aumentar os níveis de GH (para aumentar a gliconeogénese e a lipólise e diminuir o consumo periférico de glicose), o jejum também diminui os níveis de IGF-1. (10) Isto deve-se ao facto de, durante o *short-term fasting* (STF), os níveis baixos de insulina causarem uma resistência hepática à GH, o que inibe a produção de IGF-1 pelo fígado. (8) Além disso, durante o jejum, a atividade biológica do IGF-1 é condicionada por um aumento dos níveis de *insulin-like growth factor-binding protein 1* (IFGBP1), que se liga ao IGF-1 circulante e previne a sua interação com o respetivo recetor de superfície celular. (10,18)

Finalmente, o jejum diminui os níveis circulantes de leptina, a hormona sintetizada predominantemente pelos adipócitos que inibe a fome, enquanto aumenta os níveis de adiponectina, o que aumenta a degradação de ácidos gordos. (10)

Dependendo do peso corporal e da sua composição, os corpos cetónicos, os ácidos gordos livres e a gliconeogénese permitem à maioria dos seres humanos sobreviver 30 dias ou mais à ausência de qualquer alimento e permitem que certas espécies, como os pinguins-rei, sobrevivam mais de 5 meses sem comida. (17) Durante a primeira semana de jejum, perde-se uma média de 0.9Kg/dia, seguindo-se uma perda de 0.3Kg/dia, na terceira semana, o que resulta numa perda de 20% do peso corporal, após 30-35 dias de jejum. (18) Assim, o jejum periódico é geralmente exequível e tolerável, mas pode ser acompanhado de efeitos secundários, como as cefaleias, náuseas, fraqueza, anemia e amenorreia. (18) Assim, para concluir, o que marca a resposta sistémica dos mamíferos ao jejum são baixos níveis de glicose, insulina, IGF-1, leptina e níveis maiores de glucagon, corpos cetónicos e adiponectina. (8,10,17,19)

## 4 Resposta celular ao jejum

O jejum tem grandes efeitos metabólicos. (8) Os níveis de glicose sérica caem após algumas horas e são mantidos em concentrações baixas devido à produção endógena de glicose, estimulada pelo glucagon. (8) A capacidade de armazenamento do glicogénio é limitada, de tal modo que as reservas ficam virtualmente esgotadas, após 24h. (8) A partir daí, a gliconeogénese fornece ao cérebro glicose como a sua principal fonte de energia. (8) Os ácidos gordos são a principal fonte de energia do resto do corpo. (8) A beta-oxidação de ácidos gordos produz corpos cetónicos que podem servir de fonte de energia auxiliar para o cérebro e resto do corpo. (8) Os níveis de insulina caem rapidamente e o IGF-1 diminui drasticamente, após 36-72h de jejum. (8) Já que o fígado é resistente à GH durante o jejum prolongado, a produção de IGF-1 é muito reduzida. (8) A redução dos níveis circulantes de insulina e IGF-1 provoca o aumento dos níveis plasmáticos de GH. (8) As proteínas de ligação ao IGF-1, que regulam a biodisponibilidade de IGF-1, também variam durante o jejum. (8) Os níveis de IGF-BP3 diminuem, enquanto os de IGF-BP1 aumentam. (8) A diminuição de IGF-1 diminui a ativação das vias Ras/MAPK e PI3K/Akt, através das quais a proliferação é estimulada e a apoptose, inibida. (8)

A resposta de células saudáveis ao jejum confere proteção celular e, pelo menos em organismos modelo, mostrou aumentar o tempo de vida. (10) A cascata de sinalização do IGF-1 é a via de sinalização chave, envolvida na mediação dos efeitos do jejum a nível celular. (1,8,10) Numa nutrição normal, o consumo de proteínas e o aumento de aminoácidos provocam a subida dos níveis de IGF-1 e estimulam a atividade do AKT assim como do mTOR, impulsionando, assim, a síntese proteica. (10) Pelo contrário, em jejum, os níveis de IGF-1 diminuem, assim como toda a sinalização a jusante, reduzindo a inibição, mediada por AKT, dos fatores de transcrição FOXO, permitindo, deste modo, a ativação de genes e fatores de transcrição como o *peroxisome proliferation-activated receptor-gamma* (PPAR $\gamma$ ) e a expressão do *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) que levam à ativação de enzimas, como a *heme oxygenase 1* (HO1), a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, com atividade anti-oxidante e efeitos protetores antineoplásicos. (1,10) Foi observado que a falta de Nrf2 induz tumores espontâneos e promove o desenvolvimento de metástases. (1)

Assim, o desenvolvimento de indutores de Nrf2, como o jejum, podem considerar-se uma abordagem para terapias anti-cancerígenas. (1) Elevados níveis de glicose estimulam a sinalização da proteína quinase A (PKA), que regula negativamente o sensor principal de energia, a proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que, por sua vez, estimula a expressão do fator de transcrição de resistência ao *stress*, a *early growth response protein 1* (EGR1). O AMPK atua como um supressor tumoral, ao ativar a p53 e a proteína inibidora das

quinases dependentes de ciclina (CDK), a p27. (1) Para além disso, o AMPK inibe a via do mTOR, ao fosforilar os inibidores de mTOR, o que resulta na diminuição da atividade proliferativa e aumenta os processos catabólicos, o que reprime o metabolismo de rápido crescimento das células malignas. (1) O jejum e a consequente restrição de glicose inibem a atividade da PKA, aumentam a atividade da AMPK e ativam o EGR1, conseguindo, assim, alcançar efeitos protetores nas células. (10)

Os níveis aumentados de adiponectina, induzidos pelo jejum, resultam na ativação da *liver kinase B1* (LKB1) e da AMPK e na diminuição da ativação das vias do PI3/AKT, o MAPK e o NF-κB, o que conduz à inibição da adesão celular, migração e proliferação dos tumores. (1) Isto é importante, porque o aumento da ativação da via de sinalização do NF-κB em células tumorais promove a proliferação e a angiogénese, inibindo a apoptose e facilitando as metástases. (1) Em muitos cancros, a desregulação da leptina ou do seu recetor, promove o processo cancerígeno, como a angiogénese, as metástases e a resistência à apoptose. (10) Isto ocorre, principalmente, através da via do JAK/STAT, que modula a sinalização do PI3K/AKT e a expressão de proteínas anti-apoptóticas, de factores angiogénicos (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) e do *hypoxia-inducible factor-1α* (HIF-1α). (1)

O jejum e as FMD's também têm a capacidade de promover efeitos regenerativos através de mecanismos moleculares, alguns dos quais foram implicados no cancro, como o aumento da autofagia ou a diminuição da atividade das sirtuínas. (10) Existe literatura que defende que o jejum aumenta a atividade da SIRT1, que tem um papel importante na homeostase energética, na adaptação do músculo à deficiência de nutrientes e no aumento da duração de vida, ao fazer a desacetilação de genes alvo que codificam fatores de transcrição, como o p53 e o FOXO1. (1,20) A SIRT1 também promove a desacetilação de genes que codificam enzimas glicolíticas, o que diminui a glicólise e aumenta a produção hepática de glicose. (1,20) O jejum aumenta a autofagia e os seguintes mecanismos estão implicados: inativação da via do JAK/STAT; ativação do AMPK; redução da ativação do AKT e do mTOR; aumento dos efeitos da quimioterapia, como lesões no DNA, aumento do *stress* oxidativo, inibição das vias do MAPK, desregulação de proteínas anti-apoptóticas e indução de alterações mitocondriais. (1) O jejum pode ter um efeito protetor, ao mobilizar componentes autofágicos antes da quimioterapia e limitar os efeitos quimio-tóxicos. (1) A autofagia induzida pelo jejum mostrou aumentar a imunogenicidade das células cancerosas que estão a morrer e, assim, mediar a morte celular imunológica, aumentando as propriedades antineoplásicas da quimioterapia. (1) A autofagia induzida pelo jejum também pode aumentar a apresentação de epítomos citosólicos e aumentar a imunização contra os antígenos tumorais, levando a uma sensibilização aos tratamentos antineoplásicos. (1) Estudos animais revelaram que ciclos de jejum diminuiriam a imunossupressão causada

pela quimioterapia, com efeitos pró-regenerativos em células estaminais, devido à redução dos níveis de IGF-1 (induzidos pelo jejum). (1) Consistente com isto, um estudo recente em humanos mostrou que 30 dias de *time-restricted feeding* (TRF) do amanhecer ao pôr-do-sol, aumenta a expressão do ASGR2, uma subunidade do recetor da asialoglicoproteína, que é uma proteína hepática imunorreguladora, levando a uma otimização da função imune. (1) Já é bem conhecido que a inflamação tem um papel essencial no desenvolvimento e prognóstico do cancro, além de interferir com a habilidade do sistema imune de contrariar as células tumorais, afetando a resposta ao tratamento. (1) A expressão de várias citocinas pró-inflamatórias e dos seus mediadores está aumentada em vários cancros, o que está relacionado com a proliferação aumentada das células tumorais, maior malignidade, elevada ocorrência de metástases e um pior prognóstico, no geral. (1) Devido aos mecanismos celulares implicados no jejum, a restrição energética tem efeitos anti-inflamatórios. (1) Efetivamente, o jejum reduz o número e a atividade de monócitos inflamatórios circulantes, em humanos e animais, sem alterar as suas respostas inflamatórias agudas. (1) A quimioterapia causa toxicidade na medula óssea e depleção das células imunitárias circulantes, especialmente a depleção de células mielóides. (10) Em ratos, o jejum, protege as células estaminais hematopoiéticas e as células imunitárias circulantes, dos efeitos prejudiciais da quimioterapia. Consequentemente, um sistema imunitário mais eficiente, como resultado do jejum, levará a uma menor taxa de infeções e neutropenia febril. (8)

Além disso, o jejum diminui a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tiroide. Isto diminui particularmente a T3, enquanto a T4 e a TSH estão apenas ligeiramente diminuídas ou normais. (8) O jejum por períodos superiores a 48h é necessário para facilitar a grande redução dos níveis de IGF-1. (8) Assim, é provável que os efeitos positivos do STF estejam aumentados, se o período do jejum for prolongado. (8) Uma FMD baixa em açúcares e proteínas pode ser uma alternativa para aliviar o fardo do jejum, já que imita os efeitos do STF no metabolismo. (8)

## 5 O metabolismo das células cancerosas

Para perceber como a alimentação pode afetar o tratamento e o prognóstico do cancro, é essencial perceber alguns dos aspetos únicos do metabolismo destas células. (6) Na segunda metade do século XX, em 1925, Otto Warburg observou que as células tumorais consomem mais glicose do que as células saudáveis e a metabolizam, sem recorrer à fosforilação oxidativa, aquilo que denominamos como efeito de Warburg.(2,21) Após este efeito ter sido revelado, estudos demonstraram que o metabolismo da glicose é a fonte chave para fornecer energia às células cancerosas. (11)

Como as células tumorais apresentam um elevado nível de proliferação, a consequência é a perturbação no acesso a nutrientes, incluindo a glicose e oxigénio. (6) Como resultado, mudam o metabolismo celular para a respiração anaeróbica. (21)

Apesar da glicólise não produzir tanto ATP como a fosforilação oxidativa, uma molécula de glicose produz 2 moléculas de ATP, pensa-se que é mais apropriada para suportar o metabolismo das células tumorais, por inúmeras razões. (2,21) Primeiro, os tumores podem crescer rapidamente, ultrapassando, por vezes, o seu fornecimento de sangue, criando um ambiente de hipóxia. (2) Segundo, a maquinaria metabólica que é necessária para realizar a glicólise é muito menos extensa do que para a fosforilação oxidativa. (2) Terceiro, os átomos de carbono da glicose podem ser usados para sintetizar aminoácidos, ácidos nucleicos e outros intermediários metabólicos nas reações anapleróticas. (2,11) Por conseguinte, a manutenção de um metabolismo estável da glicose é um requisito importante para a sobrevivência das células malignas e progressão tumoral. (2,11,21) Nas investigações conduzidas em modelos animais nos últimos 60 anos, foi confirmado o aumento da absorção de glicose por células cancerosas, em comparação com as células normais. (21) Usando a tomografia por emissão de positrões (PET), os autores do estudo observaram um aumento da absorção de glicose e da libertação de lactato, por parte das células cancerosas malignas, em comparação com células cancerosas benignas. (21)

Quando a glicose entra no citoplasma, pode ser utilizada como combustível através da glicólise, para a via da síntese de hexosamina (HSP), a via das pentoses-fosfato (PPP) ou a via da biossíntese da serina. (11) A glicose entra na célula através de proteínas transportadoras da glicose (GLUT). (11,21) No citoplasma, a glicose é fosforilada por hexoquinases (HKs) e permanece presa dentro da célula. (11) Através da glicólise, a glicose é metabolizada até ao produto final, o piruvato. (11) Durante este processo, os oncogenes c-MYC, KRAS, e YAP aumentam a expressão do GLUT1 nas células cancerosas. (11) A sobre-expressão do YAP e as mutações por perda de função na p53 aumentam a expressão de GLUT3, o que provoca a sua acumulação na membrana plasmática. (11) A via do PI3K/AKT

encontra-se hiperativa nas células malignas e aumenta a atividade da HK2, através do aumento da associação mitocondrial de HK. (11) As células tumorais dependem da glicólise aeróbica para cumprir os requisitos metabólicos. (11) Como resultado, a desidrogenase láctica (LDH) catalisa o piruvato a lactato, em vez de o transformar em acetil-CoA, que de outra forma pode ser utilizada como intermediária do ciclo de *Krebs*. (11) A LDH tem duas isoformas, a LDHA e a LDHB. (11) Ambas as enzimas podem catalisar tanto a reação do piruvato a ácido láctico como a reação inversa. (11) No entanto, em várias linhas celulares cancerosas, a isoforma LDHA está altamente expressa porque a LDHA prefere a transição do piruvato ao lactato. (11) O HIF-1 $\alpha$  induz a ativação do LDHA em microambientes tumorais hipóxicos. (11) Durante esta etapa, o NADH, que é um subproduto de glicólise, é oxidado para NAD<sup>+</sup> e a sua regeneração mantém a glicólise. (11)

A glicose-6-fosfato (G6P) é produzida pelas HK. A G6P pode iniciar a PPP em duas fases, a oxidativa e a não oxidativa. (11) A fase oxidativa produz NADPH e ribulose-5-fosfato (R5P); a fase não oxidativa produz apenas R5P, o precursor dos nucleótidos. (11) O NADPH é necessário para a síntese de ácidos gordos e tem um poder redutor, que é necessário para regenerar o glutatião, a partir do *glutathione disulfide* (GSSG). (11) Dado que as células cancerosas são expostas ao *stress* metabólico crónico, o controlo dos níveis de espécies reativas de oxigénio celular (ROS) é importante para evitar resultados negativos, incluindo a morte de células por apoptose. (11) Assim, a PPP é fundamental para manter a homeostasia *redox* e a proteção das células malignas contra o *stress* oxidativo. (11,17) Várias proteínas oncogénicas aumentam o influxo da PPP. (11) Nas células cancerosas, a sinalização hiperativa de PI3K/AKT e de mTOR aumenta a expressão de enzimas *rate-limiting* da PPP (por exemplo, a glicose-6-fosfato desidrogenase, G6PD), através da ativação da *sterol regulatory element-binding protein 1* (SREBP1). (11) A ativação anómala de AKT nas células cancerosas ativa a enzima transcetolase (TK) na PPP, através de fosforilação direta. O c-Myc oncogénico aumenta a afluência da PPP. (11) Finalmente, a atividade da PPP aumenta, quando a mutação de perda de função da p53 não se pode ligar e inibir a G6PD. (11)

Além do aumento de utilização de glicose, as células cancerosas costumam exibir uma dependência de ácidos gordos livres (FFA). (2) Os FFA fornecem as cadeias acil dos fosfolípidos, os componentes primários da membrana lipídica das células e organelos. (2) Ao fazer a divisão celular, as membranas plasmáticas são duplicadas em cada divisão, o que requer um maior investimento em FFA para a proliferação das células malignas. (2) A síntese de FFA é energeticamente cara, sendo necessários 14 NADPH e 7 ATP para sintetizar uma molécula de palmitato. (2) O aumento da síntese de FFA, assim como o aumento da sua captação exógena, foram associados à agressividade do cancro. (2) Pelo contrário, os

FFA podem fornecer uma grande quantidade de energia e são muitas vezes abundantes nos microambientes dos tumores, particularmente daqueles que estão mais próximos dos adipócitos. (2) Assim, as células cancerosas que se encontram em ambientes ricos de adipócitos, dependem profundamente da oxidação de FFA. (2)

Os adipócitos também podem ser uma fonte de aminoácidos. (2) Foi demonstrado que a libertação de glutamina e asparagina pelos adipócitos pode interferir particularmente no tratamento da leucemia aguda linfoblástica (ALL), com a *L-asparaginase*. (2) A glutamina também é muito importante para outros tipos de cancro, contribuindo para a síntese de nucleótidos, aminoácidos e intermediários do ciclo de ácido tricarboxílico. (2) As células cancerosas usam os aminoácidos de cadeias ramificadas (BCAA) para a síntese proteica e metabolismo energético e, frequentemente, têm uma expressão aumentada de aminotransferases de cadeias ramificadas, enzimas importantes para o metabolismo de BCAA. (2) Para concluir, as células cancerosas exibem necessidades metabólicas únicas, que podem ser satisfeitas em ambientes ricos de adipócitos. (2)

Acredita-se que privar as células malignas da fonte de energia, nomeadamente a glicose, pode resultar na inibição da sua proliferação, o que pode determinar uma maior eficácia da radio e da quimioterapia. (21) A hiperglicemia é de grande importância para o crescimento e para a proliferação das células cancerosas. (21) Uma alimentação inadequada, constituída por quantidades elevadas de carboidratos simples, fornece nutrientes às células tumorais, podendo, assim, afetar negativamente a eficácia do tratamento do cancro. (21)

## 6 Autofagia

A autofagia (do grego “auto-consumo”) é um processo catabólico essencial para manter a homeostase celular e a sobrevivência face a estímulos tanto fisiológicos como patológicos, através da degradação e reciclagem dos componentes endógenos (organelos disfuncionais, proteínas mutantes e macromoléculas) e exógenos (vírus e bactérias). (6,8,9,12,22) Este mecanismo é importante para a sobrevivência celular, porque promove materiais primários, como os aminoácidos, ácidos gordos, nucleósidos/nucleótidos e açúcares, durante um estado de privação celular. (6,9) A autofagia ocorre em níveis basais, dentro de circunstâncias fisiológicas, e pode ser estimulada em resposta a estímulos de *stress*, como a hipóxia, a privação nutricional, as lesões no DNA e agentes citotóxicos. (6,9,12,21)

O papel da autofagia no cancro é complexo e a sua função pode variar, consoante vários fatores biológicos, incluindo o tipo de tumor, a sua progressão e o panorama genético, juntamente com a ativação dos oncogenes e a inativação dos supressores tumorais. (9,12) Assim, a autofagia pode ser relacionada quer com a prevenção do desenvolvimento de tumores quer com a adaptação celular das células malignas, assim como a sua proliferação, sobrevivência e capacidade de metastizar. (9,12) Várias vias de sinalização têm sido implicadas no aumento ou diminuição da autofagia, incluindo PI3K-mTOR e AMPK, assim como vários genes supressores tumorais (p53, PTEN, TSC1/TSC2) e oncogenes (p21, AKT). (9,12,21)

A autofagia está frequentemente inibida numa fase inicial da patologia neoplásica, permitindo o desenvolvimento de tumores, mas, nos cancros em fase avançada, a autofagia e a resistência à quimioterapia que a acompanha é alta. (9,12,21) Uma vez estabelecido o tumor, a principal função da autofagia é fornecer um meio para lidar com os fatores de *stress* celular, incluindo a hipóxia, privação nutricional e de fatores de crescimento e estímulos prejudiciais no geral, permitindo, deste modo, a adaptação, proliferação, sobrevivência e disseminação do tumor. (9) A autofagia, por degradar macromoléculas e organelos defeituosos, fornece metabólitos e aumenta a função metabólica, suportando a viabilidade das células cancerosas, mesmo em ambientes de *stress* constante. (9) A autofagia aumenta em regiões de hipóxia de tumores sólidos, favorecendo a sua sobrevivência. (9) A inibição da autofagia leva a uma indução intensa de morte celular, nesses locais de hipóxia. (9) Embora a autofagia basal seja geralmente baixa sob condições fisiológicas, os tumores exibem um elevado nível da autofagia basal, reforçando o papel de pró-sobrevivência no cancro. (9) As células cancerosas com a mutação RAS têm a autofagia aumentada para suprir as necessidades metabólicas e manter as mitocôndrias funcionais, o que favorece o estabelecimento de tumores. (9,21) A autofagia também tem um papel de suporte nas metástases, ao interferir com os constituintes de transição do mesênquima-

epitélio para favorecer a disseminação das células malignas. (9) Para concluir, os estudos têm demonstrado que a autofagia é induzida como um mecanismo de sobrevivência contra os tratamentos anticancerígenos, como a quimioterapia e a radioterapia, contribuindo, assim, para a resistência ao tratamento. (9) *Lock et al.* observou que o bloqueio da autofagia em células malignas com a mutação no oncogene Ras estava relacionado com a diminuição do seu potencial de proliferação. (21)

A autofagia também pode agir de forma completamente oposta, contribuindo para a eliminação de células cancerosas, causando a sua apoptose e o aumento da eficácia do tratamento. (21) A privação alimentar é uma das formas mais eficazes de tratamento para promover a autofagia nas células tumorais, uma vez que melhora a resposta imunológica e o processo de tratamento em doentes com cancro. (21,23)

## 7 Resistência diferencial ao *stress* (DSR)

Durante o jejum, as células saudáveis e as células malignas manifestam um comportamento diferente aos tratamentos antineoplásicos. (6,8,10,13,18) Este fenômeno tem o nome de resistência diferencial ao *stress*, DSR. (6,8,10,13,18) A privação nutricional desliga as vias que promovem o crescimento celular, para fornecer energia às vias de manutenção e reparação. (6,8,10,13,18) Isto resulta no aumento da proteção celular, contribuindo para uma melhor resistência a diferentes agressores, como a quimioterapia e a radioterapia. (6,8,10,13,18) Pelo contrário, as células cancerosas são incapazes de ativar uma resposta protetora, devido a: 1) ativação descontrolada de vias de crescimento e autossuficiência em sinais de crescimento, como consequência das mutações oncogênicas e da produção autócrina de fatores de crescimento; 2) perda de sinais anti-proliferativos, devido às mutações nos genes de supressão tumoral. (8) Assim, ao ganhar a capacidade de aumentar o crescimento, estas células perdem a habilidade de se adaptarem a ambientes extremos, como o de privação de nutrientes. (8)

Como já foi descrito, o jejum inativa parcialmente as vias pró-proliferativas e aumenta a resistência ao *stress* oxidativo. (6,8,10,13,18) A ligação entre a proliferação celular e a resistência ao *stress* é a base teórica para a proteção diferencial das células saudáveis, induzida pelo jejum, contra a toxicidade da quimioterapia. (6,8,10,13,18) O jejum periódico reduz os níveis circulantes de IGF-1 e glicose e inativa as cascatas de sinalização sensíveis a nutrientes, incluindo mTOR e PKA, em células normais, induzindo, desta forma, a resistência às tensões oxidativas. (6)

A DSR baseia-se na hipótese de que, em resposta ao jejum, as células normais entram num estado de resistência ao *stress*, caracterizado pela redução das divisões celulares e a utilização de metabólitos gerados pela quebra de gorduras, proteínas e organelos. (18) A autossuficiência em sinais de crescimento, permitida pelo ganho de funções devido a mutações em oncogenes (Ras, Akt, mTOR), garante a ativação constitutiva de vias de proliferação, juntamente com a perda de função devido a mutações em genes supressores tumorais (Rb, p53, PTEN), permite que as células cancerosas não respeitem os sinais anti-proliferativos, como os que ocorrem durante o jejum, impedindo, assim, as células malignas de entrarem num estado protegido não-proliferativo. (18) A incapacidade das células cancerosas de responder a sinais anti-proliferativos ou crescerem na ausência de fatores de crescimento, um marcador bem estabelecido do cancro, previne o efeito protetor do jejum, independentemente do tipo de neoplasia ou do oncogene mutado. (18) A DSR apresenta, portanto, um método para atingir preferencialmente as células malignas, com a quimioterapia e outros fármacos, enquanto aumenta a resistência contra os fatores de *stress*

citotóxicos através da desintoxicação celular nos sistemas normais de divisão ou de não divisão celular. (18)

De facto, o jejum induz proteção contra doses letais de etoposido em ratos. (13,18) Os ratos com uma deficiência hepática de IGF1 (*liver IGF1-deficient*, LID), isto é, ratos geneticamente modificados com deleção do gene *Igf1* e, conseqüentemente, com uma redução de 70-80% dos níveis de IGF1 circulante (níveis semelhantes aos alcançados com um jejum de 72h), estavam protegidos de 3 fármacos quimioterapêuticos em 4 que foram testados. (10,13,18) Estes ratos estão protegidos contra a quimioterapia citotóxica de altas doses, como a ciclofosfamida, e doxorrubicina e a 5-fluorouracil. (13) Em particular, os corações dos ratos tratados com doxorrubicina mostraram perda de miofibrilas e infiltração de células imunitárias, enquanto a miopatia cardíaca dependente de DXR não foi observada nos ratos LID. (13) Pelo contrário, o aumento dos níveis de IGF-1 inverte a prevenção do cancro, estimulando a proliferação celular e inibindo a apoptose e restaurando o IGF-1 para níveis normais durante o jejum inverte a sua proteção contra doses letais de doxorrubicina. (13) Similarmente, 3 dias de jejum protegeram os ratos que desenvolveram tumores intestinais espontaneamente, contra os efeitos secundários de uma dose elevada de irinotecano, enquanto os ratos que foram alimentados e não fizeram jejum, experienciaram perda de peso, atividade reduzida, diarreia e leucopenia. (18) Assim, de uma forma geral, estes resultados confirmam que a regulação negativa de IGF1 é um mecanismo chave, através do qual o jejum aumenta a tolerabilidade à quimioterapia. (10)

Para além da redução dos níveis de IGF-1, os níveis de glicose no soro também desempenham um papel importante nos efeitos da DSR mediada pelo jejum e, ao reduzir os níveis de glicose, os ratos ficam protegidos contra a quimiotoxicidade. (13) No entanto, os fármacos que promovem hiperglicemia, incluindo a dexametasona e a rapamicina, são geralmente administrados para ajudar com a gestão dos efeitos adversos relacionados com a quimioterapia em doentes com cancro, apesar de ter sido mostrado que sensibilizam os cardiomiócitos e os ratos à doxorrubicina. (13) Este aumento da toxicidade pode ser revertido, combinando o tratamento com a dexametasona ou a rapamicina com o jejum ou insulina. (13) Só as injeções de glicose invertem a proteção rápida do jejum contra a doxorrubicina em ratos, indicando que a glicose elevada medeia, pelo menos em parte, os efeitos sensibilizantes da rapamicina e da dexametasona. (13) Os efeitos do jejum ou a restrição da glicose inibem a atividade de PKA, ao mesmo tempo que aumentam o AMPK que ativa o EGR1. (10,13) O EGR1 promove também a expressão de péptidos cardioprotetores, como o *atrial natriuretic peptide* (ANP) e o *B-type natriuretic peptide* (BNP), no tecido cardíaco, o que contribui para a resistência à doxorrubicina. (10,13)

O efeito protetor do jejum é parcialmente mediado por alterações na população de células estaminais. (13) O jejum antes do tratamento com etoposido de alta concentração preserva a arquitetura e a função de barreira do intestino delgado, mantendo a viabilidade das células estaminais. (13,24) O jejum periódico reduz a imunossupressão e a mortalidade do fármaco ciclofosfamida, através de alterações na transdução das vias de sinalização de células estaminais hematopoiéticas de longo prazo, para promover a auto-renovação e regeneração equilibrada da linhagem, de acordo com conclusões preliminares de um estudo sobre a proteção de linfócitos, induzida pelo PF, contra quimiotóxicos, em doentes com cancro. (13,18,25) O jejum também tem demonstrado promover efeitos regenerativos tanto no sangue como outros sistemas, incluindo o sistema nervoso, músculo e fígado, indicando que, além de proteger contra a toxicidade dos fármacos anti-cancerígenos, também estimula a geração de células saudáveis. (13,18) Devido a estas diferentes respostas ao STF, a quimioterapia causa mais lesões do DNA e apoptose nas células tumorais, deixando as outras intactas, quando combinada com o STF. (6)

## 8 Sensibilização diferencial ao *stress* (DSS)

Se usadas sozinhas, a maioria das intervenções alimentares têm efeitos limitados contra a progressão do cancro. (10) De acordo com a hipótese de *differential stress sensitization* (DSS), a combinação do jejum com um segundo tratamento é muito mais promissora. (10) Muitos tipos de células malignas não são capazes de fazer mudanças que lhes permitiriam sobreviver num ambiente tóxico e com falta de nutrientes, gerado pela combinação do jejum e da quimioterapia. (10) As células cancerosas desenvolvem-se num ambiente altamente nutrido e geralmente experienciam um fornecimento quase ilimitado de nutrientes; assim, a disponibilidade reduzida de glicose, aminoácidos e outros metabólitos durante o jejum apresenta uma desvantagem significativa para as células tumorais. (13,18) A glicólise permite o metabolismo da glicose-6-fosfato na via de derivação da pentose, o que fornece substratos essenciais para a síntese de nucleótidos e produção de NADPH. (18) O efeito de Warburg pode restringir a apoptose mediada pelo citocromo c, favorecendo, assim, a sobrevivência das células tumorais e evasão à apoptose, através da diminuição da respiração celular. (13,18) No entanto, a glicose isolada não fornece todas as ferramentas necessárias para a proliferação celular e, assim, as células tumorais dependem dos aminoácidos, particularmente da glutamina, como fonte de azoto. (13,18) A glutamina, o aminoácido circulante com a maior concentração em humanos, tem um papel crucial na absorção de aminoácidos essenciais e pode apoiar a produção de NADPH, tornando-se necessária para a biossíntese de lípidos e nucleótidos. (18) Similarmente aos efeitos da restrição calórica, a restrição de proteínas/aminoácidos mostrou aumentar a longevidade e atrasar o aparecimento de várias patologias relacionadas com o envelhecimento, incluindo o cancro. (13,18)

As mesmas mutações que levam as células malignas a ficarem fechadas num estado pró-proliferativo, tornam-nas também sensíveis a alterações no ambiente celular. (18) Na biologia evolutiva, está bem esclarecido que a maioria das mutações adquiridas se tornam desfavoráveis. (18) As mutações que resultam em células cancerosas são também, na sua maioria, prejudiciais, embora tais efeitos negativos possam não ser observáveis até que as células malignas estejam num ambiente que expõe esse efeito. (18) Por exemplo, a mutação que exige altos níveis de glutamina não seria problemática para as células tumorais, até a concentração de glutamina ser limitada. (18)

De acordo com a hipótese da DSS, os ciclos periódicos de jejum são suficientes para atrasar o crescimento de vários tipos de células malignas, desde tumores sólidos a leucemias linfóides no rato, e, mais importante, conseguem sensibilizar as células malignas à quimioterapia, radioterapia e inibidores da tirosina quinase (TKIs). (10,13,18) Muitos oncogenes são tirosinas quinases e, portanto, são um alvo para o tratamento do cancro. (18)

O jejum periódico potencia a eficácia inibidora dos inibidores da tirosina quinase, como o erlotinibe, o gefitinibe, o lapatinibe, o crizotinibe e o regorafenibe, em modelos *in vitro* e xenográficos, inibindo a sinalização de MAPK e a inibição da transcrição dependente de E2F. (13,18,26) Num modelo xenográfico de cancro de pulmão não pequenas células, o crescimento tumoral subcutâneo foi reduzido pelo crizotinibe ou pelo jejum, enquanto a combinação dos dois foi a opção mais eficiente.(13,18,26) Resultados semelhantes foram observados num modelo xenográfico de cancro colorretal. (18) Estes resultados mostram a dependência das células malignas de níveis estáveis de glicose, aminoácidos e fatores de crescimento e indicam que a redução destes pode proteger o organismo, enquanto reduzem a progressão tumoral, particularmente em combinação com a quimioterapia, ao originar um ambiente desafiante para a sobrevivência das células cancerosas. (18)

Ao reduzir a disponibilidade de glicose e aumentar a beta-oxidação dos ácidos gordos, o jejum também promove uma mudança da glicólise (efeito de Warburg) para a fosforilação oxidativa mitocondrial nas células cancerosas (efeito anti-Warburg), o que é necessário para sustentar o crescimento destas células num ambiente pobre em nutrientes. (10) Esta mudança provoca um aumento da produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), como resultado do aumento da atividade respiratória mitocondrial e pode envolver, ainda, uma redução no potencial antioxidante celular, devido a uma redução na síntese de glutatião, da glicólise e da via das pentoses-fosfato. (10) O efeito combinado do aumento das ROS e da diminuição do efeito antioxidante aumenta o *stress* oxidativo em células malignas e amplia o efeito da quimioterapia. (10) Notavelmente, porque a elevada atividade glicolítica demonstrada pela elevada produção de lactato é preditiva de agressividade e propensão metastática em vários tipos de cancros, o efeito anti-Warburg do jejum tem potencial para ser particularmente eficaz contra cancros mais agressivos. (8,10)

Ciclos de jejum *in vivo*, só de água (com duração de 48-72 h), podem ser tão eficazes como a quimioterapia na redução da progressão dos modelos de melanoma subcutâneo e cancro da mama, enquanto a combinação do jejum com a quimioterapia melhora a eficácia do tratamento. (13,27) O jejum combinado com gemcitabina diminui a progressão do tumor pancreático em  $\geq 40\%$ , em parte através do aumento da absorção de gemcitabina. (13,28,29) A cisplatina em combinação com o jejum reduz a progressão do mesotelioma em  $\geq 60\%$  em comparação com o grupo controlo e uma remissão completa é observada em 60% dos ratos tratados com PF/cisplatina.(13,29) Quarenta e oito horas de jejum sensibilizam os modelos de glioma em ratos à radio e quimioterapia, um efeito não observado na restrição alimentar isolada de proteínas. (13,30,31) Do mesmo modo, o jejum, quando combinado com radioterapia, atrasa o crescimento de um modelo de tumor pancreático KPC ortotópico após a radiação e, aumenta a esperança de sobrevivência a 43 dias, em

comparação com os 7 dias em ratos que não fizeram jejum. (13,32) O jejum sozinho ou quando combinado com oxaliplatina demonstrou reduzir a progressão do tumor colorretal CT26. (13,33)

Foram realizados estudos com o IGF-1R e este agente tem sido capaz de inverter os fenótipos em várias linhas celulares cancerosas, em roedores e humanos, em analogia ao jejum, as células malignas ficam sensibilizadas ao tratamento convencional antineoplásico e irradiação. (18) No entanto, o bloqueio do IGF-1R não teve resultados positivos em ensaios humanos, possivelmente, porque também interfere com os resultados positivos da função do IGF-1 na proliferação de células normais, incluindo as células estaminais e imunitárias. (18) Em contraste, o jejum permite que estes níveis reduzidos de glicose e IGF-1 voltem ao normal durante o período de reintrodução alimentar, gerando, assim, um ambiente ideal para afetar negativamente o crescimento e a sobrevivência das células cancerosas, mas não o de células saudáveis. (18)

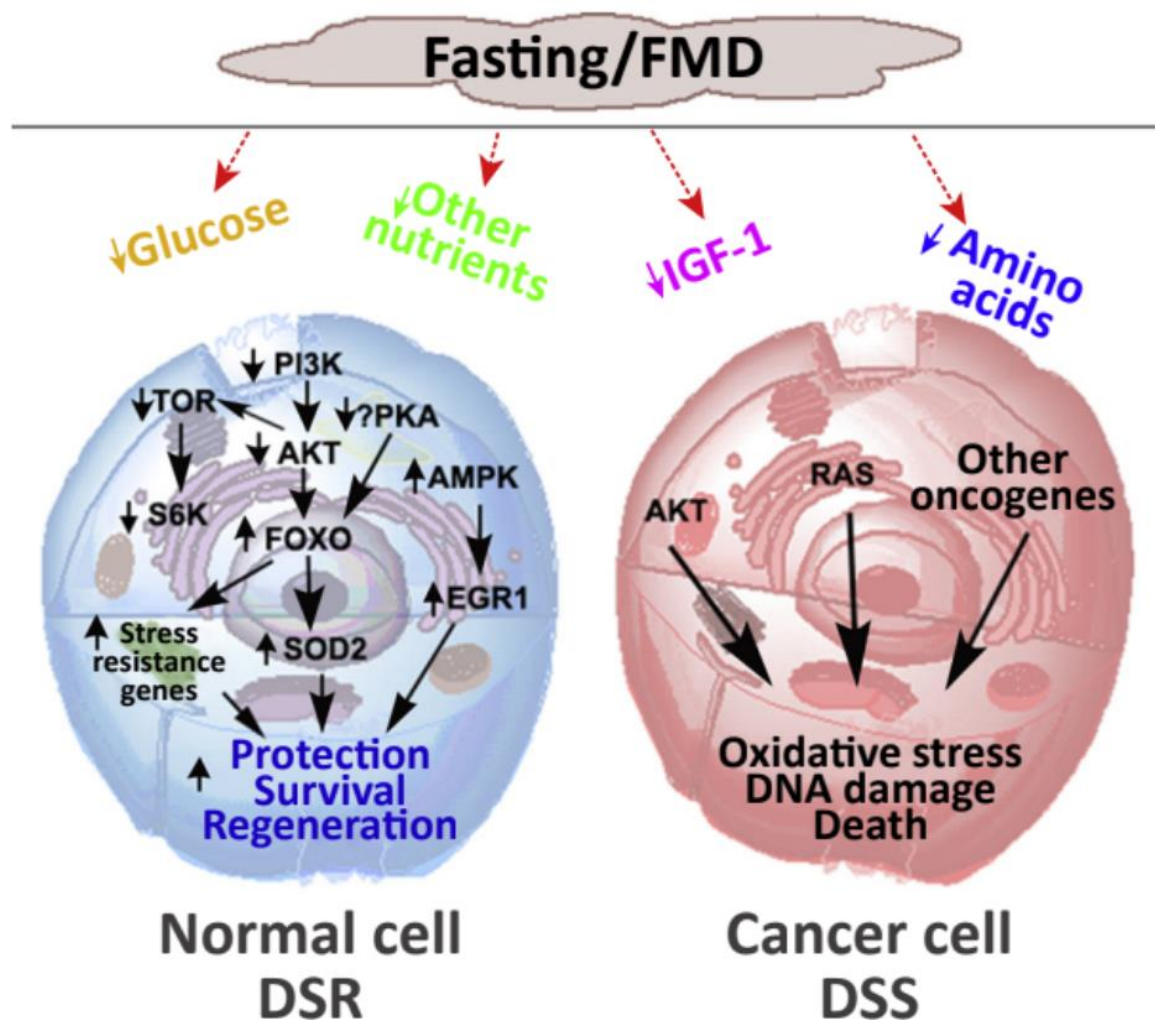


Figura 1. Resistência diferencial ao stress e sensibilização diferencial ao stress (12)

## 9 Estudos Clínicos

Embora numerosos estudos pré-clínicos enfatizem os benefícios de combinar o jejum ou as FMD's com medicamentos quimioterapêuticos, apenas um número limitado de ensaios sobre o jejum e as FMD's em doentes submetidos a quimioterapia foram publicados. (13) Estes ensaios limitados apoiam a segurança e viabilidade do jejum/FMDs, quando combinadas com a quimioterapia. (13)

Para investigar a viabilidade e o impacto das FMDs em seres humanos, foram realizados ensaios clínicos em seres humanos saudáveis. (14,34,35) Os participantes foram sujeitos a 5 dias de FMD por mês, durante 3 meses seguidos, e foi-lhes pedido que retomassem a sua dieta normal, após o período da FMD. (14,34,35) Os componentes e os nutrientes da FMD foram selecionados pela sua capacidade de reduzir o IGF-1 e a glicose em circulação e para aumentar o IGFBP-1 e a produção de corpos cetônicos, de acordo com os efeitos da FMD obtida em estudos pré-clínicos em roedores. (14,34,35) A FMD humana é composta aproximadamente por, pelo menos, 11-14% de proteínas, 42-43% de hidratos de carbono e 44-46% de gorduras e foi concebida para fornecer entre 34-54% da ingestão calórica normal. Assim, a gordura e os hidratos de carbono complexos são as fontes mais elevadas de calorias neste regime. (12,14,34,35) Os sujeitos submetidos a ciclos de FMD reportaram uma diminuição de 11,3% nos níveis de glicose no sangue e uma redução de ~24% no IGF-1 em circulação, que se manteve, respetivamente, ~6% e ~15% mais baixa do que os níveis de base, mesmo após o período de ingestão alimentar. (14,34,35) Além disso, os participantes sujeitos a FMD mostraram um aumento de 3,7 vezes nos corpos cetônicos séricos e um aumento de 1,5 vezes no IGFBP-1, que voltou aos níveis de base depois de retomar a alimentação normal. (14,34,35) Além disso, a FMD reduziu a pressão arterial sistólica e diminuiu o peso corporal, a circunferência da cintura, a gordura total e abdominal em 3%, enquanto aumentou a massa magra relativa do corpo, sugerindo que conduz apenas a uma perda de massa gorda. (14,34,35) Estudos realizados em humanos relatam que três ciclos de FMD reduziram o nível sérico de proteína C-reativa, um marcador de inflamação, em sujeitos de risco para patologias relacionadas com a idade, sugerindo que a FMD também promove efeitos anti-inflamatórios. (14,34,35) Em geral, os ciclos de FMD foram bem tolerados e não foram relatados acontecimentos adversos graves (de acordo com os Critérios Terminológicos Comuns para Eventos Adversos). (14,34,35)

A partir de 2008 a 2009, dez doentes, não relacionados, diagnosticados com uma variedade de cancros (mama, próstata, pulmão, etc.) tentaram jejuar com os seus tratamentos de quimioterapia. (12) Em todos os pacientes o jejum foi bem tolerado e foi associado a uma redução de múltiplos efeitos secundários associados à quimioterapia, tais como a fadiga, fraqueza, náuseas e outros. (12) A segurança do jejum, antes da quimioterapia, foi também

demonstrada num ensaio clínico diferente, no *Norris Comprehensive Cancer Center* e no *Los Angeles County/USC Medical Center*, onde 18 pessoas foram inscritas de 2009 a 2012, para testar o jejum antes da administração da quimioterapia com platina. (12,36) Observou-se uma redução dos efeitos secundários e uma redução dos danos do DNA leucocitário no grupo que jejuou 72h, mas não no que fez jejum apenas por 24h. (12,36) No Centro Médico da Universidade de Leiden, 13 mulheres com cancro de mama HER2 negativo em fase inicial foram incluídas e randomizadas num ensaio clínico (NCT01304251) para testar a segurança de 48 h de jejum antes da quimioterapia. (12,36) Este estudo piloto confirma que o jejum de curto prazo é bem tolerado assim como seguro e pode ter efeitos benéficos na toxicidade hematológica e, possivelmente, no dano do DNA em células saudáveis (linfócitos e células mielóides), induzido pela terapêutica do cancro. (12,36)

Noutro estudo randomizado, pacientes com cancro da mama HER2 negativo foram aleatoriamente distribuídas, para fazer jejum 24h antes e depois da quimioterapia ou para terem uma alimentação normal de acordo com as *guidelines* da alimentação saudável. (1) O grupo que fez jejum revelou uma elevação nas contagens de eritrócitos e plaquetas, 7 dias após a quimioterapia, em comparação com o grupo controlo. O grupo experimental mostrou, também, um aumento menor de marcadores de lesão do DNA. (1)

Num estudo da *University of Southern California* (USC), 10 pacientes com diferentes cancros jejuaram em conjunto com a administração de docetaxel, carboplatina, paclitaxel e/ou gencitabina. (8,37,38) Foram descritos 7 mulheres e 3 homens, com idade média de 61 anos, diagnosticados com cancro da mama, da próstata, do esófago, do pulmão, do útero e do ovário. (8,37,38) Os doentes fizeram jejum durante 48-140h antes da quimioterapia e 56h depois da mesma. (37,38) Seis dos dez pacientes jejuaram alternadamente, durante os ciclos de quimioterapia, enquanto os outros quatro fizeram jejum em todos os ciclos, comparando-se os efeitos secundários entre os ciclos de quimioterapia combinados com jejum e a quimioterapia isolada. (8,37,38) Os efeitos secundários foram pontuados de acordo com a *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE). (8,37,38) Tirando a fome e as tonturas, o jejum não teve nenhum efeito secundário significativo. (8,37,38) Os autores reportaram uma diminuição dos efeitos secundários associados à quimioterapia, como a fadiga, fraqueza, vômitos e diarreia, quando estavam sob a terapia combinada em comparação com a quimioterapia isolada. (8,37,38) Em 5 doentes, o volume do tumor (avaliado com a ajuda da PET ou da PET-CT) ou os marcadores tumorais (PSA ou CA-125) foram avaliados. (8,37,38) O *short-term fasting* não diminuiu a redução do volume tumoral nem dos marcadores tumorais, induzida pela quimioterapia, sugerindo que o jejum não interfere com a eficácia da quimioterapia. (8,37,38)

Outro estudo clínico, realizado na *King Fahad Medical City*, teve como objetivo avaliar a segurança e a praticabilidade do tratamento combinado da quimioterapia e do jejum intermitente durante o Ramadão. (8) Onze doentes, com diferentes tipos de neoplasias, fizeram um ciclo de quimioterapia. Os efeitos adversos e as contagens de células sanguíneas foram comparados aos valores medidos em resposta a uma dose similar de quimioterapia, 2 semanas após o fim do Ramadão. (8,39) Os autores concluíram que a combinação da quimioterapia e do jejum, durante o mês do Ramadão, era bem tolerada e segura. (8,39) Os efeitos da quimioterapia tendem a ser inferiores em comparação com a quimioterapia isolada, sem o jejum. (8,39) No entanto, porque o grupo experimental era pequeno, não foram feitas estatísticas. (8,39) Além do mais, devido ao curto período de jejum (12h mais ou menos), não se pode esperar pelos benefícios major, já que os níveis de IGF-1 não estarão tão visivelmente reduzidos. (8,39)

Numa série de casos, 10 doentes com cancro (4 de mama, 2 da próstata, 1 do ovário, 1 do útero, 1 do pulmão e 1 esofágico), com uma idade média de 61 anos, jejuaram 140 h antes e/ou até 56 h após a quimioterapia. (13,38) Os pacientes que receberam uma média de 4 ciclos de vários medicamentos de quimioterapia em combinação com o jejum relataram não terem experienciado grandes efeitos secundários durante o jejum, para além da fome e das vertigens. (13,38) Seis pacientes que foram submetidos a quimioterapia, com e sem jejum, relataram uma redução significativa da fadiga, fraqueza e eventos adversos gastrointestinais, quando combinaram o jejum e a quimioterapia em comparação com a quimioterapia isolada. (13,38) Além disso, o jejum não impediu a redução do volume tumoral induzida pela quimioterapia ou dos marcadores tumorais, naqueles pacientes em que a progressão do cancro poderia ser avaliada. (13,38)

No tratamento do cancro, estudos preliminares de 10 pacientes com uma variedade de neoplasias, que voluntariamente fizeram jejum durante 180h em combinação com a sua quimioterapia prescrita, mostraram uma redução nos efeitos secundários comuns associados à quimioterapia, como os vômitos, náuseas, diarreia, fadiga e fraqueza e, em casos onde a progressão do cancro foi seguida, não houve evidência de que o jejum protegeu os tumores ou interferiu na eficácia da quimioterapia. (18,38) Análogos aos efeitos do jejum no sistema imunitário em ratos, os resultados da fase I de um ensaio clínico indicam que 72h, e não 24h, de PF, combinado com a quimioterapia, estavam associados a contagens normais de linfócitos e manutenção do equilíbrio normal das linhagens dos glóbulos brancos. (18,38,40)

Foi realizado um estudo randomizado na *Leiden University Medical Center (LUMC)*, para avaliar os efeitos do STF na tolerância à quimioterapia neoadjuvante, em doentes com cancro da mama HER2-negativo. (8,18,36) 7 de 13 mulheres diagnosticadas com cancro da

mama HER2-negativo em estágio II/III foram aleatorizadas para fazer jejum durante 24h antes e 24h depois de receber quimioterapia adjuvante (docetaxel/ doxorubicina/ ciclofosfamida). (8,18,41,42) O jejum foi bem tolerado e protegeu contra a redução de eritrócitos e plaquetas associada à quimioterapia e, possivelmente, contra as lesões no DNA em células saudáveis, em comparação com o grupo que não jejuou. (8,18,41,42) O estudo não observou alterações nas contagens de leucócitos ou neutrófilos, o que pode estar associado à produção de glóbulos brancos induzida pelo medicamento pegfilgrastim. (8,18,41,42) Efetivamente, o uso do fármaco anti-emético dexametasona, pode explicar o aumento da glicose que foi observado, apesar das 24h de jejum e, provavelmente, atenuou alguns benefícios metabólicos da inanição, como, por exemplo, a redução dos níveis de IGF-1. (8,18,41,42) No entanto, 48h de jejum pode não ser suficiente para otimizar a resistência diferencial ao stress ou a sensibilização diferencial das células normais e das malignas. (8,18,41,42) Atualmente, uma série de ensaios clínicos estão a abordar os efeitos do jejum ou das FMDs em humanos e a proteção induzida pela alimentação contra os efeitos secundários da quimioterapia, enquanto sensibiliza as células cancerosas ao tratamento. (8,18)

Um pequeno estudo piloto, com 10 pacientes diagnosticados com cancro da mama, da próstata, do esófago e do pulmão, em estádios avançados, mostrou que o jejum intermitente, antes e depois da quimioterapia, reduziu os efeitos secundários, incluindo a fadiga, a fraqueza, os vômitos e a diarreia. (6,38)

## 10 Conclusão

Já que a nutrição e o metabolismo são essenciais na fisiologia humana, não é de estranhar que as intervenções alimentares atraiam muita atenção, como um mecanismo seguro para atrasar e inibir a progressão tumoral.

A restrição calórica tem sido conhecida por ter grandes benefícios para a saúde. Contudo, a CR crônica não é viável para a grande maioria dos indivíduos e causa frequentemente efeitos prejudiciais, possivelmente por afetar negativamente o sistema imunitário, a cicatrização de feridas e outras funções importantes. O jejum e as FMDs, têm o potencial para promover os benefícios da CR, reduzindo ou eliminando os seus efeitos adversos.

Outro aspeto positivo nestas abordagens é que ajuda a promover a participação dos doentes no processo terapêutico. Na altura do diagnóstico do cancro, os pacientes podem perguntar que modificações de estilo de vida podem iniciar que possa retardar a progressão do tumor. Identificar uma estratégia alimentar personalizada, que beneficia o doente, satisfaz a sua necessidade de envolvimento ativo no processo de cuidados, algo que é fortemente recomendado pela comunidade oncológica.

A ativação constitutiva das vias de sinalização de nutrientes que promove o crescimento das células cancerosas pode também ser o seu calcanhar de Aquiles, uma vez que permitem a utilização do jejum para promover a proteção de células e órgãos normais e, sensibilização das células tumorais, gerando assim uma ação ampla e consistente e uma estratégia barata para aumentar o índice terapêutico. Apesar dos mecanismos moleculares subjacentes ainda não terem sido completamente compreendidos, os resultados apresentados nesta revisão, fornecem evidências que o jejum tem potencial para desempenhar um papel complementar importante na medicina.

Em síntese, como demonstrado, o jejum durante a quimioterapia pode ter vários efeitos benéficos no tratamento anti-cancerígeno (em termos de qualidade de vida e de toxicidade dos fármacos). Infelizmente, apenas alguns estudos em seres humanos estão disponíveis e apenas alguns deles são estudos prospetivos. Além disso, incluem frequentemente um número reduzido de doentes afetados por vários tumores, de modo que os efeitos do jejum podem ser confusos: por exemplo, os efeitos benéficos do jejum poderiam ser mais evidentes nalguns tumores do que em outros e, estes estudos heterogêneos podem esconder esses efeitos.

Posso concluir, que serão necessários mais estudos clínicos com grandes amostras e, um plano alimentar bem definido, assim como um protocolo de tratamento estandardizado, para avaliar totalmente, os benefícios e os riscos destas intervenções alimentares, como uma

abordagem complementar às terapias anti-cancerígenas já existentes. Outra questão extremamente importante que é preciso ser investigada, é se estas abordagens alimentares poderão ser benéficas para todos os tipos de cancro e, qual deverá ser a sua duração, de maneira a equilibrar cuidadosamente os possíveis benefícios e riscos.

# 11Bibliografia

1. Alidadi M, Banach M, Guest PC, Bo S, Jamialahmadi T, Sahebkar A. The effect of caloric restriction and fasting on cancer. *Semin Cancer Biol.* 1 de Agosto de 2021;73:30–44.
2. Mittelman SD. The Role of Diet in Cancer Prevention and Chemotherapy Efficacy. 2020; Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-013120->
3. Plotti F, Terranova C, Luvero D, Bartolone M, Messina G, Feole L, et al. Diet and Chemotherapy: The Effects of Fasting and Ketogenic Diet on Cancer Treatment. Vol. 65, *Chemotherapy.* S. Karger AG; 2020. p. 77–84.
4. Patterson RE, Sears DD. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. 2017; Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816->
5. Bragazzi NL, Briki W, Khabbache H, Rammouz I, Chamari K, Demaj T, et al. Ramadan fasting and patients with cancer: State-of-the-art and future prospects. *Front Oncol.* 2016;6(FEB).
6. Ibrahim EM, Al-Foheidi MH, Al-Mansour MM. Energy and caloric restriction, and fasting and cancer: a narrative review. Vol. 29, *Supportive Care in Cancer.* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 2299–304.
7. O’Flanagan CH, Smith LA, McDonnell SB, Hursting SD. When less may be more: Calorie restriction and response to cancer therapy. *BMC Med.* 24 de Maio de 2017;15(1).
8. De Groot S, Pijl H, Van Der Hoeven JJM, Kroep JR. Effects of short-term fasting on cancer treatment. Vol. 38, *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research.* BioMed Central Ltd.; 2019.
9. Antunes F, Erustes AG, Costa AJ, Nascimento AC, Bincoletto C, Ureshino RP, et al. Autophagy and intermittent fasting: the connection for cancer therapy? Vol. 73, *Clinics.* UNIV SAOPAULO; 2018.
10. Nencioni A, Caffa I, Cortellino S, Longo VD. Fasting and cancer: molecular mechanisms and clinical application. *Nat Rev Cancer.* 1 de Novembro de 2018;18(11):707–19.
11. Park JH, Pyun WY, Park HW. Cancer Metabolism: Phenotype, Signaling and Therapeutic Targets. Vol. 9, *Cells.* NLM (Medline); 2020.
12. Buono R, Longo VD. Starvation, Stress Resistance, and Cancer. Vol. 29, *Trends in Endocrinology and Metabolism.* Elsevier Inc.; 2018. p. 271–80.
13. Brandhorst S. Fasting and fasting-mimicking diets for chemotherapy augmentation. *Geroscience.* 1 de Junho de 2021;43(3):1201–16.
14. Salvadori G, Mirisola MG, Longo VD. Intermittent and periodic fasting, hormones, and cancer prevention. Vol. 13, *Cancers.* MDPI; 2021.
15. Sadeghian M, Rahmani S, Khalesi S, Hejazi E. A review of fasting effects on the response of cancer to chemotherapy. Vol. 40, *Clinical Nutrition.* Churchill Livingstone; 2021. p. 1669–81.

16. de Groot S, Lugtenberg RT, Cohen D, Welters MJP, Ehsan I, Vreeswijk MPG, et al. Fasting mimicking diet as an adjunct to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer in the multicentre randomized phase 2 DIRECT trial. *Nat Commun.* 1 de Dezembro de 2020;11(1).
17. Longo VD, Mattson MP. Fasting: Molecular mechanisms and clinical applications. Vol. 19, *Cell Metabolism.* 2014. p. 181–92.
18. Brandhorst S, Longo VD. Fasting and caloric restriction in cancer prevention and treatment. Em: *Recent Results in Cancer Research.* Springer New York LLC; 2016. p. 241–66.
19. Clifton KK, Ma CX, Fontana L, Peterson LL. Intermittent fasting in the prevention and treatment of cancer. *CA Cancer J Clin.* Novembro de 2021;71(6):527–46.
20. Zhu Y, Yan Y, Gius DR, Vassilopoulos A. Metabolic regulation of Sirtuins upon fasting and the implication for cancer. Vol. 25, *Current Opinion in Oncology.* 2013. p. 630–6.
21. Szybowska A, Regulska-Ilow B. Significance of low-carbohydrate diets and fasting in patients with cancer. Vol. 70, *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny. NLM (Medline);* 2019. p. 325–36.
22. Bagherniya M, Butler AE, Barreto GE, Sahebkar A. The effect of fasting or calorie restriction on autophagy induction: A review of the literature. Vol. 47, *Ageing Research Reviews.* Elsevier Ireland Ltd; 2018. p. 183–97.
23. Fang RX, Yan L, Liao ZK. Potential preventive effects of time-restricted eating on cancer. 2023; Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/JN9.000000000000004>
24. Tinkum KL, Stemler KM, White LS, Loza AJ, Jeter-Jones S, Michalski BM, et al. Fasting protects mice from lethal DNA damage by promoting small intestinal epithelial stem cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 22 de Dezembro de 2015;112(51):E7148–54.
25. Cheng CW, Adams GB, Perin L, Wei M, Zhou X, Lam BS, et al. Prolonged fasting reduces IGF-1/PKA to promote hematopoietic-stem-cell- based regeneration and reverse immunosuppression. *Cell Stem Cell.* 5 de Junho de 2014;14(6):810–23.
26. Caffa I, D’agostino V, Damonte P, Soncini D, Cea M, Monacelli F, et al. Fasting potentiates the anticancer activity of tyrosine kinase inhibitors by strengthening MAPK signaling inhibition [Internet]. Vol. 6, *Oncotarget.* 2015. Disponível em: [www.impactjournals.com/oncotarget/](http://www.impactjournals.com/oncotarget/)
27. Lee C, Raffaghello L, Brandhorst S, Safdie FM, Bianchi G, Martin-Montalvo A, et al. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy. *Sci Transl Med.* 7 de Março de 2012;4(124).
28. D’aronzo M, Vinciguerra M, Mazza T, Panebianco C, Saracino C, Pereira SP, et al. Fasting cycles potentiate the efficacy of gemcitabine treatment in in vitro and in vivo pancreatic cancer models [Internet]. Vol. 6, *Oncotarget.* 2015. Disponível em: [www.impactjournals.com/oncotarget/](http://www.impactjournals.com/oncotarget/)
29. Shi Y, Felley-Bosco E, Marti TM, Orłowski K, Pruschy M, Stahel RA. Starvation-induced activation of ATM/Chk2/p53 signaling sensitizes cancer cells to cisplatin [Internet]. 2012. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/12/571>
30. Safdie F, Brandhorst S, Wei M, Wang W, Lee C, Hwang S, et al. Fasting Enhances the Response of Glioma to Chemo- and Radiotherapy. *PLoS One.* 11 de Setembro de 2012;7(9).

31. Brandhorst S, Wei M, Hwang S, Morgan TE, Longo VD. Short-term calorie and protein restriction provide partial protection from chemotoxicity but do not delay glioma progression. *Exp Gerontol*. Outubro de 2013;48(10):1120–8.
32. de la Cruz Bonilla M, Stemler KM, Jeter-Jones S, Fujimoto TN, Molkenhine J, Asencio Torres GM, et al. Fasting Reduces Intestinal Radiotoxicity, Enabling Dose-Escalated Radiation Therapy for Pancreatic Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1 de Novembro de 2019;105(3):537–47.
33. Bianchi G, Martella R, Ravera S, Marini C, Capitanio S, Orengo A, et al. Fasting induces anti-Warburg effect that increases respiration but reduces ATP-synthesis to promote apoptosis in colon cancer models [Internet]. Vol. 6. 2015. Disponível em: [www.impactjournals.com/oncotarget](http://www.impactjournals.com/oncotarget)
34. Brandhorst S, Choi IY, Wei M, Cheng CW, Sedrakyan S, Navarrete G, et al. A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. *Cell Metab*. 7 de Julho de 2015;22(1):86–99.
35. Wei M, Brandhorst S, Shelehchi M, Mirzaei H, Cheng CW, Budniak J, et al. Fasting-mimicking diet and markers/risk factors for aging, diabetes, cancer, and cardiovascular disease [Internet]. Disponível em: <https://www.science.org>
36. de Groot S, Vreeswijk MPG, Welters MJ, Gravesteijn G, Boei JJWA, Jochems A, et al. The effects of short-term fasting on tolerance to (neo) adjuvant chemotherapy in HER2-negative breast cancer patients: A randomized pilot study. *BMC Cancer*. 5 de Outubro de 2015;15(1).
37. Raffaghello L, Safdie F, Bianchi G, Dorff T, Fontana L, Longo VD. Fasting and differential chemotherapy protection in patients. Vol. 9, *Cell Cycle*. Taylor and Francis Inc.; 2010. p. 4474–6.
38. aging.100114.
39. Bouhrel E, Zaouali M, Miled A, Tabka Z, Bigard X, Shephard R. Ramadan fasting and the GH/IGF-1 axis of trained men during submaximal exercise. *Ann Nutr Metab*. Setembro de 2008;52(4):261–6.
40. Cheng CW, Adams GB, Perin L, Wei M, Zhou X, Lam BS, et al. Prolonged fasting reduces IGF-1/PKA to promote hematopoietic-stem-cell- based regeneration and reverse immunosuppression. *Cell Stem Cell*. 5 de Junho de 2014;14(6):810–23.
41. Veldhuis JD, Lizarralde G. Divergent Effects of Short Term Glucocorticoid Excess on the Gonadotropic and Somatotropic Axes in Normal Men\*. Vol. 74, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* Copyright Q 1992 by The Endocrine Society. 1992.
42. Inder WJ, Jang C, Obeyesekere VR, Alford FP. Dexamethasone administration inhibits skeletal muscle expression of the androgen receptor and IGF-1 - Implications for steroid-induced myopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(1):126–32.