

Índice

Resumo / Abstract	3
Lista de Abreviaturas	6
Introdução.....	7
Métodos.....	8
Desenvolvimento	
1. Noções Introdutórias	9
2. Passado.....	12
2.1. Teorias Evolucionistas	12
2.1.1. Teoria da Morte Programada.....	14
2.1.2. Teoria da Acumulação de Mutações.....	16
2.1.3. Teoria da Pleiotropia Antagonista.....	18
2.1.4. Confronto AM vs PA.....	20
2.1.5. Teoria Soma Descartável.....	21
2.2. Teorias Mecanicistas.....	22
2.2.1. Teoria dos Radicais Livres.....	22
3. Presente	24
3.1. Componentes de vias de sinalização do envelhecimento.....	25
3.2. Sobre a Teoria dos Radicais Livres: Mecanismos de Defesa Antioxidante	29
3.3. Sobre a Restrição Calórica.....	34
3.4. Sobre as Teorias Evolucionistas	35
3.5. Teoria Mitocondrial	37
3.6. Teoria Oxidação-Inflamação.....	42
3.7. Teoria do Óxido Nítrico.....	48
3.8. Teorias Hormonais.....	51

3.9. Teoria Reprodução-Ciclo Celular	54
3.10. Teoria da Electricidade Diminuída	63
Discussão / Conclusão.....	66
Bibliografia.....	69

Resumo

A população mundial, particularmente a dos países desenvolvidos, encontra-se envelhecida. Com o desenvolvimento tecnológico e científico, assistiu-se à redução da mortalidade extrínseca, tornando a mortalidade intrínseca, baseada na senescência, como principal causa de morte. A pertinência da investigação da origem do envelhecimento é progressivamente maior. Desde o século XIX que a criação de teorias científicas explicativas não tem cessado. O objectivo consiste na descoberta de um mecanismo justificativo do processo senescente, com potencial ou não, de ser influenciado ou até controlado pelo ser humano. A presente revisão pretende compilar de forma sintética e estruturada a evolução da investigação gerontológica sobre a génese do envelhecimento. Inicia-se com a descrição de teorias desenvolvidas no século XIX e século XX, com maior foco nas teorias evolucionistas (Morte Programada, Acumulação de Mutações, Pleiotropia Antagonista e Soma Descartável) e na mais relevante teoria mecanicista desenvolvida (Teoria dos Radicais Livres). Posteriormente, debruça-se sobre as significativas descobertas de mecanismos bioquímicos e metabólicos, prosseguindo para a contextualização actual das teorias evolucionistas e para a descrição das teorias de envelhecimento mais pertinentes, formuladas neste novo século. O método utilizado foi a pesquisa nas bases de dados da PubMed e Medline, de literatura científica relacionada com as teorias de envelhecimento, mas também de publicações referentes a determinados processos metabólicos ou investigações referidas neste trabalho. A análise sobre o tema conclui que a descoberta de um mecanismo universal de envelhecimento ainda não foi conseguida. Existe, no entanto, referência a vias de expressão genética e metabólicas, com progressivamente maior evidência, do seu papel no controlo da sobrevivência ou do ritmo do envelhecimento, apresentando-se conservadas na evolução (via insulina/IGF-1 por exemplo). Neste trabalho são descritas teorias que constituem relevantes formas de encarar o envelhecimento, encerrando um vasto potencial explicativo universal, requerendo ainda de aprofundada investigação adicional.

Palavras-Chave: envelhecimento; senescência; seleção natural; evolução; teorias evolucionistas; teorias mecanicistas; expressão génica; radicais livres; balanço hormonal no envelhecimento.

Abstract

The world population is aged, particularly in developed countries. With the technological and scientific advances, we've assisted the reduction of the extrinsic mortality, causing the main cause of mortality to be the intrinsic mortality, based on senescence. The importance of the investigation of the origins of aging is increasingly higher. Since the beginning of the XIX century, the creation of explicative scientific theories hasn't ceased. The purpose consists in the discovery of a mechanism that justifies the senescence process, with or without potential of being influenced or even controlled by the human being. This present revision pretends to organize in a structured, synthetic way the evolution of the gerontologist investigation about the genesis of aging. It begins with the description of theories developed in the XIX and XX centuries, with greater focus on the evolutionist theories (Programmed Death, Mutation Accumulation, Antagonistic Pleiotropy and Disposable Soma) and on the most relevant mechanistic theory developed (Free Radical Theory). After that, it explores the most important discoveries on metabolic and biochemical mechanisms, going forward to the actual context of evolutionist theories and to the description of the most relevant aging theories, formulated in this new century. The used method was the research in the online database of Pubmed and Medline, and the scientific literature about the aging theories, but also the publications that refer to specific metabolic processes and investigations referred in this work. The analysis of the theme concludes that the discovery of a universal mechanism of aging hasn't been reached yet. It exists, however, reference to metabolic pathways and pathways of genetic expression with

increasingly greater evidences in its role to control longevity or aging rhythm, conserved in evolution (the pathway of insulin/IGF-1, for example).

In this work, there are descriptions of relevant ways of looking to aging, closing a wide and universal explicative potential, that still require additional deeper investigation.

Key-words: aging; senescence; natural selection; evolution; evolutionist theories; mechanistic theories; genetic expression; free radicals; hormonal balance in aging.

Lista de Abreviaturas

AL – Ad Libitum

AM – Acumulação de Mutações

CAT - Catalase

CE - Caenorhabditis Elegans

DA – Doença de Alzheimer

DM – Drosophila Melanogaster

HHG – Hipotálamo-Hipofise-Gónadas

HSP – “Heat Shock Proteins”

MMR – “Mismatch Repair”

MsrA - Redutase Sulfoxidante da Metionina

NAC - N-Acetilcisteína

NER – “Nucleotide Excision Repair”

PA – Pleiotropia Antagonista

RC – Restrição Calórica

SD – Soma Descartável

SOD – Dismutase do Superóxido

Introdução

O desenvolvimento de um ser vivo sexuado determina que a sua máxima capacidade fisiológica coincida com o seu pico reprodutivo¹. Após esta fase, irá ser traçado um rumo inexorável de deterioração funcional que culminará na morte, constituindo um período designado como envelhecimento. Antes da aquisição do conhecimento observada nos últimos séculos, a génese dos determinismos biológicos era associada a forças divinas que subjogavam a condição humana. Na consequência da revolução industrial houve espaço para um desenvolvimento técnico e científico sem precedentes. O conhecimento médico acompanhou essa evolução. A medicina, marcada pelas preocupações e limitações da época, foi orientada para a diminuição da mortalidade extrínseca, permitindo um aumento generalizado da esperança média de vida, especialmente nos países desenvolvidos. Actualmente defende-se que o início do envelhecimento ocorre aos 28 anos². Constata-se que, nos países desenvolvidos, a esperança média de vida ao nascimento ultrapassa os 75 anos, com associada inversão da pirâmide demográfica. Existe um largo intervalo de tempo entre o início do envelhecimento e a idade da morte. Os idosos (>65 anos) representam a maioria da população que necessita de cuidados médicos: >50% internamentos; >85% habitação em lares; >90% unidades de cuidados continuados.³ Emerge do envelhecimento populacional um importantíssimo impacte económico e social.

A compreensão dos mecanismos base da senescência constituiria um ponto de partida para o desenvolvimento de processos de intervenção, para evicção das consequências deletérias associadas. Importa responder à pergunta “**Porque se Envelhece?**”⁴.

Este artigo de revisão foi construído para compreensão abrangente de alguns dos estudos que têm vindo a ser realizados desde o final do século XIX. O objectivo prende-se com a construção de um trabalho que aborde de forma sucinta diferentes formas de encarar o envelhecimento.

Métodos

Os artigos científicos que serviram de base para esta revisão foram obtidos através da pesquisa nas bases de dados Pubmed e Medline, disponibilizados pelos " Serviços de Documentação da Biblioteca Central dos Hospitais da Universidade de Coimbra".

Em geral, foram usados como critérios de inclusão, estudos e publicações incidindo especificamente sobre as teorias de envelhecimento, ou revisões a estas mas, também sobre determinados processos fisiológicos, metabólicos e bioquímicos com relevância para a compreensão plena de certos mecanismos descritos ao longo da revisão. Não foram incluídos documentos não escritos em português ou inglês, não tendo existido limitações temporais à pesquisa.

Desenvolvimento

1) Noções Introdutórias

Porque morremos?⁴

A morte traduz um acontecimento natural determinado pela vulnerabilidade do indivíduo ao seu meio. Retira-se daqui que uma primeira causa de morte, a *extrínseca*, relacionada com a alimentação, predação, doença ou fenómenos climatéricos. Devido ao extraordinário avanço das condições de saúde nas sociedades ocidentais, a mortalidade extrínseca foi reduzida a um papel mais secundário. Surgiu como principal mecanismo de morte ou de aumento da susceptibilidade a esta, a mortalidade *intrínseca*, resultante da deterioração global e progressiva inerente ao envelhecimento.

Envelhecimento

Actualmente não existe uma definição consensual sobre a génese do envelhecimento⁵. Para Bernard Strehler o conceito de envelhecimento é caracterizado por quatro princípios: universal, progressivo, intrínseco e deletério⁶.

Inicialmente começou por ser entendido como um aumento da probabilidade de morrer. Esta definição ignorava que, durante os primeiros tempos de vida, a probabilidade de morte era superior à da idade adulta. Nos dias de hoje, é entendido como a acumulação de diversas mudanças adversas, de carácter degenerativo e progressivo, que aumentam o risco de morte^{2,7}, devido a um declínio de capacidades vitais e funcionais, com redução da capacidade de preservação da homeostasia, universal a todos os organismos⁷⁻⁹.

Uma noção alternativa descreve o envelhecimento como conceito que abarca não apenas a perda de função, mas também o ganho funcional. Deste modo, constrói um novo conceito, que

se pode definir simplesmente como mudança, quer positiva quer negativa, sendo o ritmo dessa mesma mudança, sinónimo de ritmo de envelhecimento, que se inicia com a concepção¹.

Porque se envelhece?

A resposta a esta pergunta tem sido um problema de longa data na história da biologia moderna.¹⁰ Em 1990, Zhores Medvedev colheu mais de 300 explicações para este conceito¹¹. Nos dias de hoje ainda mais se contariam. Todas estabelecem a sua base em construções teóricas a partir de observações práticas, não conseguindo, ainda, atingir a realidade global do envelhecimento.

Com o armazenamento progressivo de maiores quantidades de informação, é atribuído ao envelhecimento uma natureza extremamente complexa e multifacetada. Os fenótipos e o ritmo de progressão são altamente variáveis consoante as espécies e consoante os níveis de hierarquia de organização celular no âmbito do organismo¹⁰. Estas observações criam dificuldades para atingir uma conclusão acerca da causa e das consequências universais do envelhecimento, exceptuando a morte.¹⁰ O que não implica este seja um problema de impossível resolução à luz da Biologia. Com o objectivo direccionado na compreensão e explicação deste processo, a comunidade científica não tem cessado a investigação sobre o tema.

Existem diferentes formas de classificação geral das teorias de envelhecimento.

Simplificando, a base construtora das diferentes teorias separa-se em três possíveis. Envelhece-se devido a:

- 1) Limitações fundamentais como leis da física / química;
- 2) O organismo não contraria a senescência;
- 3) A senescência é controlada por determinados mecanismos suicidas.¹²

Certos estudiosos defendem a divisão principal entre teorias programadas e não programadas¹³. No âmbito das teorias programadas, podemos subdividi-las em três grupos: Longevidade Geneticamente Programada; Teoria Endócrina; Teoria Imunológica. Quanto às teorias não programadas encontramos 5 categorias: “Wear and Tear” (desgaste com o uso); Teoria do Ritmo de Vida; “Cross-Linking” (ligação cruzada de proteínas como causadora do dano); Teoria dos Radicais Livres; Teoria do Dano do DNA Somático.¹⁴

Outros agrupam-nas em três grupos principais com múltiplas ramificações: Teorias da Programação Genética; Teorias Epigenéticas; Teorias Evolucionistas⁹.

Este artigo de revisão não se vai centrar nas categorizações supracitadas, nem na explicitação de cada uma. Para facilitar a organização e tendo em conta mútua ligação entre elas, consideram-se, inicialmente, as diferentes teorias do envelhecimento como sendo evolucionistas ou mecanicistas. Numa primeira fase dar-se-á destaque às ideias que maior impacte no conhecimento e investigação causaram, atendendo à sua evolução no decurso da história. Numa segunda, serão descritos estudos pertinentes desenvolvidos neste novo século. Por último, uma reflexão sobre o futuro da investigação sobre o envelhecimento e implicações inerentes.

2) Passado

A “Origem nas Espécies” é o ponto de partida das teorias de envelhecimento que se encontram alicerçadas na biologia moderna. A seleção natural é vista como a força que criou este mecanismo. Partindo deste conceito surgiram as teorias evolucionistas do envelhecimento. Duas visões distintas separaram a comunidade científica: uma otimista, outra pessimista. A primeira defendia a existência de um programa do envelhecimento, acionado na etapa final da vida, com potencial de controlo por parte do Homem. A segunda considerava o envelhecimento como o resultado inevitável da acumulação de erros e danos, por parte de um complexo sistema vivo.¹⁵

2.1) Teorias Evolucionistas

A teoria de Darwin baseia-se na ideia da existência de características biológicas distintas, de transmissão hereditária entre indivíduos, causadas por mutações, sujeitas à força da selecção natural. As que permitem uma adaptação mais vantajosa vão perdurar, por garantirem vantagem reprodutiva. Desta perspectiva não é de fácil compreensão que a selecção natural culmine com o aparecimento de um caminho marcado pela senescência. Também contra-intuitivo sob o prisma da evolução é o momento do aparecimento dos caracteres de envelhecimento, apenas quando o período reprodutivo já foi ultrapassado, numa altura em que a selecção natural já não actua da mesma forma¹⁶. A compreensão deste fenómeno é o ponto de partida para a construção das teorias evolucionistas.

A teoria evolucionista geral postula que a senescência ocorre devido ao declínio progressivo da força da selecção natural, numa população com estrutura etária. Alterações genéticas que afectem idades mais jovens irão ter maior impacte, do que se as mesmas acontecessem em indivíduos mais velhos.⁸ Se tomarmos como exemplo uma população não senescente, a morte acontece por razões relativas à mortalidade extrínseca. Assumindo o aparecimento de uma

mutação com impacte sobre a sobrevivência, durante uma altura específica da idade adulta, foi teorizado que o destino desta mutação iria ser determinado pelas suas consequências. Propôs-se que a resistência de um genótipo é correlacionável com o ritmo do crescimento da população. Usando esta representação da resistência, é possível calcular a ação da seleção natural numa mutação, que causa alteração na reprodução ou na sobrevivência, durante um período específico na vida. Usando certos modelos matemáticos, conclui-se que a força da seleção natural na sobrevivência é constante até à idade da primeira reprodução, com declínio posterior.^{8,17} Numa população que não sofre senescência, uma mutação em idade precoce que diminuí a adaptabilidade, vai ser activamente suprimida pela seleção natural, num grau muito superior do que uma com semelhante efeito, numa idade superior. O contrário também se verifica como verdadeiro. Se a transmissão dessas mutações se dá ao longo de várias gerações, a frequência das mutações deletérias, com efeitos tardios, vai aumentar significativamente. Com a elevação do número de mutações na população, desenvolve-se um processo senescente marcado pela diminuição da capacidade reprodutiva e da sobrevivência, afectando as idades mais avançadas. Este processo vai reforçar-se a si mesmo, favorecendo aqueles com maior capacidade adaptativa, os jovens. Associadamente, as mutações que se dão em idades precoces não vão ser preservadas devido aos seus efeitos deletérios.

Tendo em conta este raciocínio, a fundamental causa de envelhecimento, sob o ponto de vista evolucionista, é a mortalidade extrínseca.⁸ Trabalho posterior de investigação, baseado em variáveis mais complexas, obteve semelhantes conclusões. Esta teoria evolucionária geral foi testada em laboratório, em experiências de campo e por análises comparativas.

Em termos comparativos existe apoio à teoria. Esta prevê que espécies, com baixa mortalidade extrínseca em adultos, deveriam desenvolver senescência mais tardiamente em relação a espécies com mortalidade mais alta. A previsão foi confirmada, com estudos utilizando aves e morcegos (menor predação) comparando-os a mamíferos terrestres de dimensões semelhantes.

Constatou-se que os insectos estão sujeitos a elevada mortalidade extrínseca e a rápida senescência, exceptuando as rainhas de determinadas espécies que habitam ambientes de reduzida predação¹⁸.

Ensaio experimentais foram realizados em meios onde existe reprodução selectiva somente de indivíduos mais velhos. Em cada experiência, posterior a um determinado número de gerações, a média e a idade máxima da sobrevivência individual sofre um aumento, confirmando que alterações da força de seleção conduzirão a alterações do paradigma populacional.^{8 19}

Se assumirmos que este modelo evolucionário global é válido, há múltiplos caminhos pelos quais a senescência pode evoluir. A “Acumulação de Mutações”, “Pleiotropia Antagonista” e a “Soma Descartável” são casos especiais, dos rumos pelos quais pode divergir esta base evolucionária fundamental.

2.1.1) Teoria da Morte Programada

No âmbito das teorias evolucionistas foi formulada a primeira grande teoria do envelhecimento, enunciada por Weissmann, em 1882. Esta considera o envelhecimento como um mecanismo, desenhado pela seleção natural, para eliminar espécimes, de modo a prevenir que os mesmos compitam com os seus descendentes por espaço e alimento, no contexto de um ecossistema finito²⁰. Weissmann desenvolveu a ideia defendendo que existia um número máximo de divisões das células somáticas, sendo este limite determinado já no embrião, que condicionaria a duração máxima da vida de um espécime sem ameaçar os descendentes, sendo este limite diferente consoante a espécie²¹. Esta premissa acabou por ser provada verdadeira. As investigações de H. Earle Swim realizadas em 1959 confirmaram a existência de limites replicativos. Estas conclusões foram compiladas e elaboradas por Leonard Hayflick que instituiu o limite replicativo celular como “Limite de Hayflick”. Embora esse limite replicativo tenha sido comprovado experimentalmente, tal não confirma a teoria da morte programada.¹⁶

O próprio Weissmann acabaria por negar a sua própria teoria. Não obstante, muitos investigadores conduziram experiências no sentido de a explorar. Foram realizadas comparações entre a esperança média de vida de indivíduos da mesma espécie, sujeitos a ambientes de desenvolvimento distintos (habitat natural / laboratório). Para o programa de auto-destruição surgir e ser mantido, deveria existir a oportunidade para este exercer a sua acção em condições naturais, não podendo a idade da sua manifestação ser muito elevada comparativamente à média da idade da morte dos indivíduos no seu habitat, caso contrário esse mecanismo de morte não existiria na natureza. Para a premissa ser verdadeira e ter valor evolucionista, não se deveriam verificar diferenças muito significativas entre as esperanças médias de vida das duas populações. Estudos foram feitos com conclusões contraditórios. De uma forma transversal, todas as populações em ambientes protegidos prolongaram a sua sobrevivência em mais de 100%. A mesma conclusão é atingida por análise cuidada à esperança média de vida humana. Para os investigadores tornou-se claro que não existe programa de morte mantido pela evolução, devido à incapacidade de agir em condições naturais.¹⁶ De um ponto de vista teórico, para a morte programada ter fundamento, deveria existir uma idade de viragem, a partir da qual, a mortalidade deveria sofrer um aumento radical, semelhante intra-espécie, com maior confluência temporal nos seres com crescimento em condições protegidas. Tal não foi observado.

2.1.2) Teoria da Acumulação de Mutações

Em 1952, surgiu uma teoria evolucionista criada por Peter Medawar, com o nome de “Acumulação de Mutações”. Esta representa o envelhecimento como um produto da seleção natural e definia-o como uma característica não adaptativa, causada por eventos negligentes em indivíduos que ultrapassaram a idade reprodutiva, com reduzido impacto na evolução da espécie. Tem por base a probabilidade individual de reprodução dependente da idade. Esta é máxima em jovens adultos. Posteriormente, sofre uma redução gradual por perda funcional individual e por aumento da probabilidade de morte. Por esta razão, mutações deletérias expressas em idades juvenis são fortemente reprimidas pela seleção natural, devido ao efeito negativo que têm nas capacidades individuais. Por outro lado, mutações deletérias para a funcionalidade expressas em idades posteriores ao período reprodutivo, são relativamente neutras, visto que a transmissão dos genes já foi cumprida.

As progérias são doenças genéticas que cursam com um envelhecimento prematuro. Os doentes afectados por este tipo de patologia, vivem uma média de 12 anos, impossibilitando a transmissão de genes. Conclui-se que patologias genéticas, que cursam com afecção significativa em idades jovens, resultam de mutações de novo e não da hereditariedade (excluindo casos específicos de hereditariedade mendeliana). Um exemplo oposto é dado pela Doença de Alzheimer. Indivíduos com informação genética, que traduzirá a evolução para esta patologia, permanecerão incólumes durante o período reprodutivo, permitindo a passagem dos genes de forma plena.¹⁶

Assim, de acordo com a AM, é previsível que a frequência de doenças genéticas aumente com o avançar da idade. O equilíbrio da frequência de genes para mutações deletérias aumenta com a idade devido a um enfraquecimento da seleção natural, não contrariando a passagem desta informação genética mutada. Será expectável que a variabilidade genética que determina a esperança de vida aumente com a idade, com o aumento da prevalência de mutações.

De acordo esta teoria, os mecanismos que limitam a vida podem ser encaixados em três categorias:

1) Mecanismos de envelhecimento que envolvem uma gradual deterioração de processos celulares e metabólicos, com acumulação progressiva de dano; 2) Existência de outros mecanismos que relacionados com jovem adultos, como a restrição calórica e a sua regulação pelo metabolismo da insulina; 3) Mecanismos extrínsecos que são consequência do avançar da idade, como a disfunção da função inflamatória, causada por infeções, etc.

Defende-se que, exercitando uma comparação transversal entre as espécies, se conclui que os mecanismos inerentes à primeira categoria serão diferentes entre espécies, enquanto, no que toca à segunda e terceira categoria, um semelhante fio condutor poderá ser encontrado.²⁰

De acordo com esta teoria a taxa de mortalidade devia aumentar de forma linear com o avanço da idade. No entanto, a frequência de alelos deletérios na porção final da vida é inferior ao esperado. Confrontando esta última afirmação, foram descobertos plateaus, em que o ritmo da mortalidade estabiliza ou diminui. Assim, foi apresentado um modelo modificado da teoria de AM, que defendia a existência de plateaus de mortalidade em fases mais tardias da vida, se os alelos afectados, que condicionam e a longevidade individual, influenciarem mais do que uma classe etária específica.²² Os plateaus existem quando os alelos só se manifestam em determinadas janelas etárias, ou quando afectam cumulativamente com o avançar da idade, após determinada fase da velhice. Esta hipótese foi testada com recurso a modelos computadorizados, com resultados consistentes. Estudos posteriores usando a DM, obtiveram resultados similares. Sob certos pontos de vista, a teoria da Acumulação de mutações é uma “hipótese com trabalho produzido, ainda dependente de validação posterior”.^{7,8}

2.1.3) Teoria da Pleiotropia Antagonista

O investigador americano George Williams, em 1957, propôs uma teoria evolucionista com o nome de “Pleiotropia Antagonista” que se baseia em duas assunções: a primeira consiste na ideia de que um determinado gene não induz apenas um efeito em determinada característica, mas em várias; a segunda defende que essa pluralidade de efeitos determinados pelo gene pode influenciar a capacidade individual em direções opostas. Para Williams, os genes pleiotrópicos têm efeitos opostos na funcionalidade em diferentes idades.

A seleção de um gene que confere vantagem num determinado período e desvantagem noutra, vai depender, não só do impacto produzido, mas também do seu momento de ação. Se produz vantagem adaptativa em jovens adultos, isso vai potenciar incremento das capacidades reprodutivas, potenciando a sua transmissão, mesmo que acarrete consequências deletérias posteriormente. A seleção natural tem uma inclinação para maximizar o vigor na juventude, em detrimento do vigor de idades mais tardias. Um exemplo: o limite replicativo celular tem a função de suprimir a génese de tumores por impedir a replicação descontrolada, o que em idades mais precoces é de extrema utilidade, reduzindo mortalidade juvenil. No entanto, numa fase mais avançada da vida, pode promover patologia cancerígena, porque as células, que foram sujeitas a uma paragem na sua replicação, poderão estimular a proliferação de precursores malignos, formando tumores. O limite replicativo constitui, assim, um processo vantajoso em idades jovens e prejudicial mais tardiamente.¹⁶

A PA explicita o custo da reprodução na longevidade da espécie. Mutações que propiciem vantagens reprodutivas serão mantidas, não entrando na equação as possíveis consequências negativas tardias. Uma mutação, que provoque uma maior produção de hormonas sexuais, causa aumento da libido e dos esforços reprodutivos, com consequente aumento do sucesso reprodutivo. No entanto, mutações que aumentem a carga hormonal sexual elevam a probabilidade de desenvolvimento de cancros (próstata e ovário).

Williams defendia que um rápido desenvolvimento deveria ser correlacionado com uma rápida senescência e que a maturação reprodutiva era um importante ponto de referência, sendo o seu pico considerado como o ponto de partida para envelhecimento. Quanto mais cedo se atinge, mais cedo se inicia a senescência, com o fenómeno contrário a ser verdadeiro.¹⁶

Conduziram-se experiências para avaliar a verdade dessas afirmações. Testes com DM foram realizados e nenhuma relação linear entre a velocidade de desenvolvimento e a longevidade foi encontrada. O mesmo ser vivo foi utilizado para investigação da segunda afirmação. Ao adiar a reprodução para idades mais tardias, verificou-se um aumento da média de vida da população em estudo, de cerca de 25%. Outras experiências confirmaram as conclusões anteriores, constatando, adicionalmente, redução na fecundidade, prolongamento do tempo de desenvolvimento e incremento da capacidade de resistência ao stress oxidativo.¹⁶ A investigação a nível genómico, recentemente, descobriu a existência de genes específicos que conferem um aumento na longevidade média, suportando a teoria da PA. Existem mutações que representam um significativo incremento na esperança média de vida da DM e da *Caenorhabditis Elegans* (CE) com associação de redução de fertilidade ou esterilidade. A maioria dessas mutações estão potencialmente envolvidas com a regulação do crescimento e metabolismo.

No entanto, os dados da experiência foram considerados inconclusivos, devido ao facto de os elementos que foram tomados para estudo da reprodução tardia, terem sido apenas aqueles que conseguiram sobreviver até ao momento da seleção e de obtenção de resultados. Contudo, uma conclusão interessante foi retirada desta experiência, o aumento da longevidade foi acompanhado por um declínio precoce da fertilidade em idade reprodutiva, o que confirmou uma previsão estabelecida pela PA.

Linda Partridge defende que o modelo da PA, a ser verdadeiro, implica a existência de mecanismos de envelhecimento conservados ao longo da evolução, percorrendo todas as

classes taxonómicas. Posterior e mais aprofundada investigação com modelos animais poderão fornecer respostas para o mecanismo intrínseco do envelhecimento. Estas ideias são apoiadas pela constatação de vias metabólicas semelhantes conservadas na evolução, descritas nos capítulos seguintes.²³

2.1.4) Confronto AM vs PA

Conclui-se que a grande diferença entre as teorias AM e PA, tem por base a natureza passiva da primeira, em contraposição com a activa da segunda. Na primeira os genes com efeitos negativos, são mantidos de forma passiva na descendência, por não afectarem a idade reprodutiva. Na segunda, esses genes com efeitos tardios negativos, por exibirem benefícios em idades jovens, são activamente mantidos na informação genética transmitida⁸. Comparativamente, a PA tem sido alvo de maior apoio científico do que a AM. Um estudo de 2002, realizado com o objectivo de detectar qual dos fenómenos teria maior impacte na senescência, usando a DM, teve resultados mais favoráveis à AM sem, no entanto, excluir o papel da PA. Foi compreendida a relevância da AM no envelhecimento, no entanto, esta não justifica totalmente as alterações verificadas, tendo a responsabilidade destas sido atribuída à PA.⁷ Maior conhecimento sobre o impacto destes dois processos mutuamente influenciadores é necessário.

2.1.5) Teoria da Soma Descartável

Em 1977, Kirkwood e Holliday publicaram a teoria de envelhecimento Soma Descartável (SD). Esta defende que o processo de envelhecimento ocorre por acumulação de dano durante a vida, dependente do falhanço de mecanismos de defesa e de reparação. Postularam que existe uma classe de mutações genéticas com efeitos de PA, em que supostas mutações salvariam energia para a reprodução, por parcialmente interromperem mecanismos celulares defensivos, exibindo, simultaneamente, efeitos positivos e negativos. Existindo um limite de recursos do organismo, quanto maior for a manutenção das funções corporais, menor será a energia gasta para a reprodução, sendo o contrário também verdade.²⁰ Verifica-se uma clara distinção entre o tecido reprodutivo e o somático. As células da linhagem reprodutiva têm que ser preservadas, para permitir viabilidade através das gerações. Em contrapartida, as células somáticas apenas necessitam do suporte para resistir uma geração. Existe um equilíbrio entre a reparação e manutenção somática/reprodutiva. A teoria da “Soma Descartável” defende que o envelhecimento resulta de uma acumulação progressiva de dano, como consequência directa de limitações genéticas da capacidade de reparação reprodutiva/somática, confluindo teorias evolucionistas e mecanicistas numa mesma premissa.²⁴

2.2) Teorias Mecanicistas do Envelhecimento

No âmbito destas teorias está a investigação e descrição de mecanismos bioquímicos, responsáveis pelo envelhecimento. Nesta secção, será somente descrita a Teoria de Envelhecimento dos Radicais Livres, como a teoria mecanicista com maior impacte na comunidade investigadora do envelhecimento.

2.2.1) A Teoria dos Radicais Livres

Foi no ano de 1956, que Denham Harman propôs que o envelhecimento era consequência de dano celular causado por espécies reactivas de oxigénio (ROS) ²⁵. Esta teoria surgiu a partir da premissa que defende a existência de um comum processo bioquímico responsável pela senescência, encaixando-se esta teoria no grupo das não-programadas. Postula que o envelhecimento é consequência da acumulação de dano oxidativo das biomoléculas, causado pela alta reactividade inerente aos radicais livres / ROS. Estes compostos são produzidos como consequência do necessário uso de oxigénio para a manutenção celular. Noventa por cento do consumo de oxigénio dá-se nas mitocôndrias, com produção proporcional de ROS⁹. Cerca de 1% dos electrões captados pelo oxigénio resultam na formação de radicais superóxidos (O₂⁻).

⁸ Estes têm efeitos tóxicos através da inactivação de proteínas e interação com o óxido nítrico (NO), com consequente dano proteico e membranar. Foi estimado que 1-3% do oxigénio utilizado pela célula se transforma em O₂⁻ e em peróxido de hidrogénio²⁶. Estes, combinados, produzem os radicais hidroxilos (OH⁻) que causam dano nas proteínas, lípidos e DNA. ²⁷

Sendo a mitocôndria o centro deste processo, é natural que seja este organelo e o seu DNA, os mais atingidos pelo dano oxidativo. Actualmente considera-se que o início do envelhecimento se dá nas células pós-mitóticas, sem capacidade plena de regeneração.⁹ Várias opiniões distintas existem quanto ao papel preponderante do dano ao DNA nuclear na senescência celular. Há autores que consideram que a deterioração do genoma nuclear como o principal responsável

pelo envelhecimento celular²⁸, outros, pelo contrário, defendem o impacto mitocondrial como o mais relevante²⁹.

De uma forma geral, constata-se que seres com uma sobrevida mais longa apresentam um menor ritmo de formação de ROS e menor dano oxidativo, do que aqueles com esperanças médias de vida mais curtas. Estabelece-se uma relação entre essa produção e o ritmo de envelhecimento do organismo.⁹ Animais envelhecidos apresentam níveis oxidativos mais elevados do que jovens.⁶ Doenças degenerativas de aparecimento tardio também demonstram um aumento dos níveis de ROS.

A existência de mecanismos antioxidantes, com o objectivo de manter níveis oxidativos controlados, constitui um argumento favorável à ideia de que as ROS são parte importante da degenerescência celular⁹. Este sistema de proteção é falível, podendo ser ultrapassado, resultando em dano. Não obstante o efeito central na senescência celular desempenhado pelas ROS, estas, em níveis controlados, têm um papel importantíssimo para a manutenção de processos fisiológicos essenciais²⁶. É no equilíbrio, entre as forças oxidativas e os antioxidantes, que se encontra o desenvolvimento harmonioso. Com a perda desse ponto de equilíbrio, surge o stress oxidativo, base de várias patologias e possível génese do envelhecimento.

3) Presente

Nos últimos quinze anos, descobertas foram feitas sobre mutações em um só gene, com grande impacto na longevidade. Inúmeros estudos recorrendo à investigação genética, usando organismos como CE e DM, resultaram na descoberta de múltiplos genes com influência no ritmo de envelhecimento.²⁰ Ainda impossível continua a abolição da senescência⁸. Este novo conhecimento tem sido importantíssimo para uma nova forma de olhar para o conceito de envelhecimento. Investigações relacionadas estão a ser realizadas no momento em que este texto é escrito e também estarão no momento em que é lido, pelo que nenhuma conclusão descrita neste artigo de revisão é imutável.

Presentemente, as teorias mecanicistas enquadram-se nas evolucionistas, sendo que estas últimas vão tentando ser desmontadas, recorrendo a investigação rigorosa de mecanismos bioquímicos específicos, inerentes às primeiras. Com aquisição de cada vez maior quantidade de informação, conclui-se que teorias diferentes acabam por se influenciarem mutuamente. Actualmente, defende-se a utilidade das teorias evolucionistas, devido à sugestão de hipóteses que criam oportunidades para pesquisa e avanço no conhecimento, não devendo ser usadas para impor limites¹⁶.

É necessária a compreensão de que as investigações não foram feitas no ser humano e que, processos que regulam o envelhecimento não são idênticos entre as espécies. No entanto, sabe-se que existem mudanças de expressão genómica idade-dependentes de mecanismos preservados em diferentes espécies, que coordenam vias metabólicas de envelhecimento²⁰. Alguns desses mecanismos base vão ser descritos de seguida, sendo incluídos e enquadrados novamente no contexto das teorias de envelhecimento, que foram incluídas neste artigo de revisão.

3.1) Componentes de vias de sinalização do envelhecimento

Sinalização da Insulina e a Longevidade

Têm sido encontradas progressivamente mais evidências, de que os genes, com maiores efeitos na longevidade, são aqueles que regulam aspectos centrais do metabolismo do organismo. Grande ênfase tem sido dado aos da insulina e do factor 1 de crescimento insulina-like (IGF1-like), responsáveis por uma via metabólica conservada em diferentes espécies, com relação negativa com a sobrevivência^{1,8,20}. Verificou-se o reconhecimento de uma via de sinalização insulina-like na regulação da longevidade. Mutações de impacto negativo nesta via resultaram em alterações da dimensão e composição corporal, aumento da resistência ao stress oxidativo e incremento da longevidade em várias espécies.³⁰

No CE foi descoberto o gene *daf-2*, como fazendo parte do sistema endócrino regulador da longevidade, do metabolismo e do desenvolvimento, sendo este o homólogo codificador da insulina e do IGF1-like dos mamíferos. Mutações causando uma redução na expressão no *daf-2*, conduziram a um aumento da sobrevivência média adulta e da resistência ao stress, devido à redução da inibição exercida à activação do gene *daf-16* (análogo do Forkhead humano). Estudos com mutações completas deste gene com CE foram realizados, levando a uma paragem de desenvolvimento deste espécime, mantendo-o num estágio da evolução que ocorre na presença de condições adversas, atribuindo-lhes uma capacidade acrescida de resistência ao stress, produzindo indivíduos sem função reprodutiva mas com longevidade acrescida. Se os agressores ambientais cessarem de exercer inibição da sinalização, esta vai ser retomada, com a evolução para adultos com capacidade reprodutiva.^{1,8}

Uma via metabólica semelhante também modula a longevidade na DM. Mutações inibidoras no gene do InR (análogo do *daf-2*) irão gerar um desenvolvimento alternativo dos indivíduos, transformando-os em moscas anãs estéreis, que irão viver, em média, mais 85%.⁸

Também estudos em ratos foram realizados, com a mesma conclusão a ser retirada²⁰. A via metabólica coordenada pelo IRS 1 (substrato receptor da insulina) é uma via comum aos mamíferos e pode ser alvo de estudo para terapias futuras. De referir a associação constante com a esterilidade / redução de fertilidade.

A acompanhar este acréscimo na longevidade, observou-se um aumento da expressão de proteínas “heat shock” (HSP).⁸ Também se constatou um aumento da expressão de genes de quatro classes de “desintoxicantes” celulares, em CE de prolongada longevidade. Estes processos de proteção celular acarretam significativo gasto metabólico. Uma possível redução dos custos metabólico relacionada com a reprodução, conduziria a um maior gasto com os mecanismos protectivos resultando numa expansão da vida dos individuos, ideia apoiada pela SD.

Embora seja inquestionável o prolongamento da sobrevida, certezas sobre a redução do ritmo de envelhecimento não são possíveis de concluir.²³

Proteínas Heat Shock

Observou-se que mutações na espécie *C. Elegans*, que causam um aumento da sobrevida, cursam simultaneamente com um aumento da resistência celular ao dano causado por luz ultravioleta, agentes oxidantes e pelo aumento da temperatura²⁰. Dessas observações traçou-se uma relação entre a resistência a esses agentes e incremento na sobrevida. Foi demonstrado que a provocação de níveis ligeiros de stress causam um pequeno, mas significativo aumento da sobrevida das espécies DM e CE⁸. Consequentemente, os genes que transcrevem as proteínas HSP tornaram-se os candidatos a responsáveis por essa relação, devido à sua indução para combater o dano provocado por esses agressores, também na espécie humana. Foi demonstrado que o factor activador da transcrição das HSP, o HSF-1, regula essa resposta e influência o

envelhecimento das espécies DM e CE, resultando um aumento da sobrevida correlacionável ao aumento de expressão.

Como anteriormente se referiu, foi descoberto também que a presença do HSF-1, assim como do factor de transcrição daf-16, é necessária para que as mutações do recetor do daf-2 proporcionem uma extensão da sobrevida média dos seres mutados. Sugere-se que os dois factores activem conjuntamente a expressão génica de HSPs, promotoras da longevidade.⁸

O próprio envelhecimento induz a produção da HSP70 e HSP22, mesmo sem a presença dos agentes agressores indutores. A expressão das HSPs é uma resposta a dano proteico que pode aumentar ou acumular com a idade, podendo o seu efeito ser relacionado com a reparação do dano oxidativo. Mutações nas enzimas antioxidantes causam a indução da HSP70, podendo este ser um caminho para responder à oxidação.

Gene Indy

Foi recentemente descoberto que, mutações no gene Indy têm como resultado um dramático aumento da longevidade. DM heterozigotas para a mutação atingiram sobrevidas 80% superiores. Pensa-se que os seus efeitos sejam justificados pelos mecanismos que estão na base do aumento da longevidade por parte da restrição calórica, tema abordado posteriormente.^{8 1}

Proteínas sirtuínas anti envelhecimento

A família genética SIR2 tem sido alvo de pertinente estudo, com demonstração de uma inequívoca influência na regulação genética em diferentes espécies. Esta é responsável por um grupo enzimático chamado Sirtuínas, correspondendo à classe classe III das desacetilases. São consideradas proteínas anti-envelhecimento estando preservadas na evolução, tendo sido encontrados nas leveduras, análogos dos humanos. Elas necessitam como co-factor o NAD, coenzima com papel importante nas reações oxidativas. Deste modo, a actividade das sirtuínas

é controlada pelo rácio NAD/NADH intracelular, que significa que vai ser alterada de acordo com o ritmo metabólico celular. Estudos indicam que um aumento da actividade Sir2 se relaciona directamente com um aumento da sobrevida média.²⁰

Factor nuclear kappa (NF-kB)

Descobertas recentes têm realçado uma ligação entre este factor nuclear e a regulação do envelhecimento. Estes achados foram concluídos a partir de um extenso processo de análise genómica global, em fases distintas do envelhecimento, incluindo abordagem computacional²⁰. Foram encontrados, como reguladores major da expressão génica idade-dependente em ratos e humanos, 14 factores de transcrição.²⁰ O que está mais fortemente associado com o envelhecimento é o NF-kB. O NF-kB foi identificado como activador de mudanças transcricionais idade-dependentes. Induzindo bloqueio do NF-kB na epiderme de ratos idosos conseguiu-se reverter os programas de expressão génica e características tecidulares, para semelhantes a jovens.²⁰ Conseguiu-se demonstrar que mutações de um único gene são suficientes para reverter certas características do envelhecimento. Simultaneamente, bloqueios do NF-kB em idades específicas revelaram que este factor controla a saída do ciclo celular e a expressão genética do envelhecimento, por vias paralelas e não sequenciais. Foi possível identificar a existência de uma rede conservada de reguladores subjacentes ao envelhecimento de mamíferos e que o NF-kB é necessário para assegurar a continuidade de muitas mudanças senescentes, induzindo morbibilidades associadas (atrofia muscular, resistência insulínica e neurotoxicidade).²⁰

3.2) Sobre a Teoria dos Radicais Livres: Mecanismos de Defesa Antioxidante

Tendo sido definidas as propriedades antioxidantes como uma barreira à instalação do stress oxidativo, urge identificar e compreender os mecanismos fisiológicos antioxidantes. Actualmente sabe-se que existem diversas enzimas com potencial papel na redução do nível de dano oxidativo. As mais estudadas são as duas variantes de superoxide dismutase (SOD), a Cu/Zn SOD (SOD1), existente no citoplasma e espaço intermembranar mitocondrial, e a MnSOD (SOD2), mitocondrial. Ambas têm função de converter O_2^- em H_2O_2 . A Catalase (CAT) é também uma importante enzima antioxidante, que por seu turno converte o H_2O_2 em O_2 e H_2O ⁸. O modelo animal mais utilizado tem sido a DM. O seu envelhecimento tem sido correlacionado com o aumento dos níveis urinários de metabolitos resultantes do dano oxidativo (exemplo: 8-oxo-guanina).

A seleção artificial para reprodução tardia, como já foi referida, levou a uma expansão da esperança média de vida, com aumentos da resistência ao stress oxidativo³¹. Foi observada uma relação entre essa resistência e um aumento na expressão de genes responsáveis pelas enzimas antioxidantes supracitadas⁸. Linhas específicas mostraram, em relação ao aumento da longevidade, um aumento na expressão das SOD numa linha e um aumento de CAT noutra. Infere-se que a seleção natural activou a expansão da longevidade através de vias diferentes. A uma maior longevidade correspondeu também um maior índice metabólico.

Para esmiuçar o impacte das enzimas antioxidantes na teoria do stress oxidativo, foram realizados estudos transgénicos na DM. Foram utilizados sistemas de expressões usados para aumentar a transcrição dos genes responsáveis pelas enzimas supracitadas. Sobre-expressão individualizada da SOD1 e SOD2 provocou um incremento da longevidade, sem redução do metabolismo, sem acréscimo na expressão aumentada das duas enzimas simultaneamente. Ao aumento da CAT não correspondeu nenhum efeito na longevidade⁸.

À luz destes factos surgiram vozes discordantes, argumentando que a expansão da sobrevida atingida por estes estudos transgénicos foram devido às curtas esperanças médias de vida dos animais usados pelos laboratórios. Esta hipótese foi testada num estudo que colocou a construção transgénica para o SOD em diferentes populações com sobrevida longa. Cada população seria distinta em termos de genótipo. A experiência demonstrou aumento global da longevidade, reforçando o papel destas enzimas antioxidantes na defesa contra o stress oxidativo³². Uma relação directa poderia ser traçada entre o grau de expressão destes mecanismos enzimáticos antioxidantes e o seu impacte no prolongamento da esperança média de vida. No entanto, estudos recentes sugerem que insectos com sobrevidas naturalmente longas, não as apresentam devido a essas vias enzimáticas. As rainhas *Lasius niger* vivem em média 28 anos, enquanto as trabalhadoras somente 1 ou 2 anos, tendo sido constatado uma menor actividade das enzimas antioxidantes nas rainhas.⁸

No âmbito da teoria de envelhecimento dos radicais livres pesam dois mecanismos: a produção de ROS e a protecção/reparação celular relativamente eles. Se um organismo conseguir reduzir a produção de ROS, vai diminuir o stress oxidativo e retardar o envelhecimento. Para apoiar esta hipótese foram realizados estudos comparativos em vertebrados, que indicaram que a produção de ROS varia inversamente com a longevidade, sendo dedutível que espécies com maior sobrevida sofrem menor dano oxidativo. Esta correlação não é devida a uma diminuição do ritmo metabólico, nas espécies com maior longevidade (possuem maior consumo de oxigénio por unidade de massa), mas sim devido à optimização da respiração celular.⁸

Um meio de aumento de sobrevida é a reparação do dano oxidativo. Pesquisas recentes sugerem que a Redutase Sulfoxidante da Metionina (MsrA) pode desempenhar um papel importante devido à sua capacidade de reparar proteínas oxidadas⁸. Aumento da expressão desta enzima na DM levou a aumento da sobrevida em 70% dos casos³³. O estudo deste gene mostrou que

existe um decréscimo na sua expressão idade-dependente, e a sua ausência cursa com reduzidas longevidades.³³

Em 2008 foi publicado uma coleção de experiências realizadas para averiguar o papel de enzimas antioxidantes, na longevidade. Foram desenvolvidos estudos laboratoriais, usando tecnologia de DNA recombinante, por 8-15 anos, que analisaram os efeitos da expressão aumentada ou diminuída de genes responsáveis pela codificação de enzimas antioxidantes. Várias populações de ratos saudáveis foram isoladas em ambientes controlados, com condições padronizadas e atribuídas determinadas mutações de componentes do sistema antioxidante.

O modelo utilizado, numa primeira fase, foi a aplicação de mutação deletéria em genes codificadores de uma só enzima antioxidante. Para cada enzima foi observada as diferentes respostas para a heterozigotia e homozigotia da mutação correspondente. Avaliaram-se as sobrevidas médias, máximas, os níveis enzimáticos do organismo e o dano oxidativo apresentado. As enzimas estudadas foram as seguintes: SOD2, SOD1, GPX1, GPX4, MRSa e TRX2.

Não foram observadas diferenças significativas da longevidade, tendo a maior diferença registada para indivíduos heterozigóticos, sido da enzima TRX2 (7%) e para homozigóticos, a SOD1 (30% à custa da aumentada incidência de carcinoma hepatocelular). Constatou-se global aumento da susceptibilidade ao dano oxidativo e aumento dos níveis deste.

De forma a diminuir possíveis mecanismos compensatórios, foi testada a redução de mais do que uma enzima antioxidante simultaneamente. Foram mensuradas as longevidades dos ratos com níveis diminuídos dos seguintes pares: (SOD1^{-/-} ; SOD2^{+/-}); (SOD1^{-/-}; GPX1^{-/-}); (SOD1^{-/-}; GPX4^{+/-}); (SOD^{+/-}; GPX1^{-/-}); (SOD2^{+/-}; GPX4^{+/-}); (GPX1^{-/-}; GPX4^{+/-}). Apenas os mutantes nulos para SOD1 com associação das heterozigotias (SOD2^{+/-} / GPX4^{+/-}) mostraram alteração significativa da longevidade média, com um decréscimo de 20% da

longevidade média e de 30% da máxima, mostrando que a diminuição da Sod1 reduz de forma consistente a longevidade.

Muitos gerontologistas defendem que as manipulações que provocam extensão da sobrevida dão maior conhecimento acerca do mecanismo do envelhecimento. A comprovação, de que o aumento das defesas antioxidantes causa uma maior sobrevida, fornece maior evidencia que o dano oxidativo desempenha um papel no envelhecimento, do que a relação entre a redução desses mecanismos e a diminuição da longevidade. O decréscimo de sobrevida pode ser devido a efeitos colaterais noutros mecanismos. Assim, foi avaliada a correlação entre o aumento da expressão de enzimas antioxidantes e o aumento da longevidade. Não foram observados alterações, mesmo com incremento simultâneo de expressão de duas enzimas, verificando-se apenas aumento da resistência à citotoxicidade.

Estas experiências mostram que as mutações podem ter tido um impacto no ritmo de envelhecimento de determinados tecidos, mas sem mudanças significativas na sobrevida. As diferenças estabelecidas entre os resultados desta investigação e os das outras relatadas anteriormente prendem-se, possivelmente, com as diferenças do tamanho das populações testadas e com as condições ambientais criadas. Este estudo, incidindo em 18 manipulações genéticas, mostrou só uma alteração constante na longevidade, coincidente com a Teoria do Envelhecimento dos Radicais Livres, conduzindo à conclusão de que o dano oxidativo não constitui um factor major no controlo da sobrevida.

Outros estudos confirmam a frase anterior mas possuem simultaneamente outra conclusão. Alterações genéticas do sistema antioxidativo não demonstraram real impacto na longevidade. No entanto, no contexto de modelos com doenças idade-dependentes, alterações nesse sistema causaram dramáticas alterações na progressão e severidade da doença.³⁴

Uma explicação possível: o stress oxidativo não desempenha um papel real no envelhecimento, mas sim na progressão de patologias idade-dependentes, participando indirectamente no envelhecimento saudável.³⁴

Outra explicação defende que o papel do stress oxidativo no envelhecimento depende do ambiente. Num ambiente protegido, os modelos são mantidos em condições óptimas, existe pouca aplicação do dano oxidativo. Em ambiente de stress crónico, devido a condições externas ou a fenótipos patológicos, o stress oxidativo desempenha um papel maior. Nestas condições um aumento do sistema antioxidante poderá contrariar activamente o envelhecimento.³⁴

Torna-se cada vez mais evidente, que o stress oxidativo tem um impacte mais limitado na senescência, em relação ao que outrora se pensou, colocando-se em questão a interpretação clássica da teoria do envelhecimento dos Radicais Livres.

No entanto, há quem defenda que, embora as evidências supracitadas existam, estas são mal interpretadas³⁵. Liochev defende que os efeitos atribuídos às ROS vistos como benéficos, podem representar adaptações compensatórias da sua toxicidade. No seu artigo, apresenta argumentos sobre a simplificação e a má interpretação descrita por detractores da teoria de envelhecimento dos radicais livres, concluindo que permanece como uma das mais plausíveis teorias até à data.³⁵

3.3) Sobre a Restrição Calórica (RC)

Está demonstrado, em modelos animais, que a RC promove um incremento na longevidade. O mecanismo pelo qual actua não é ainda totalmente compreendido. As evidências guiam o raciocínio para a explicação de que, na base do aumento da sobrevida, está uma maior eficiência metabólica e melhoria da reparação do dano oxidativo. Estudos realizados na DM mostraram que uma redução nutricional levou a um aumento da sobrevida, associada a um menor índice de fertilidade. Foi constatado um menor risco imediato de morte e não uma diminuição da acumulação de dano. DM em idade adulta foram colocadas sobre RC e obtiveram semelhante longevidade de que aquelas que o seguiam desde o nascimento.⁸ Desta maneira o estudo colocou os mecanismos fisiopatológicos sugeridos em dúvida.

Foi postulado e descrito anteriormente que a via Insulina/IGF-1 reguladora do equilíbrio entre fecundidade e longevidade, era mediada por níveis nutricionais. Foi concluído que a RC aumentou a longevidade das populações controlo e das diferentes mutações, exceptuando aquelas mutadas para o “chico”. Esta mutação na DM produz incremento na sobrevida sem aumento da resistência oxidativa, mostrando aumentada resistência à fome e um incremento da expressão das SOD, atribuindo um papel alternativo destas enzimas na longevidade. Surgiu a hipótese de que a RC e a mutação “chico” influenciam a longevidade, por uma via metabólica semelhante.⁸ Concluiu-se também que a via de actuação do gene RPD3 (responsável pelas desacetilases das acetonas) e a da RC eram semelhantes. Quando testados isoladamente proporcionaram aumento significativo de sobrevida (52%), mas quando combinados, não foi constatado ganho aditivo. Para melhor esclarecimento foram estudadas as proteínas sirtuinas nas leveduras. Foi observado que a extensão da vida provocada pela RC dependia da expressão do Sir2. Em estudos usando a DM, tanto o RPD3 como a RC conduziram a um aumento da expressão de SIR2, parecendo partilhar a mesma via evolucionariamente conservada.⁸

3.4) Sobre as Teorias Evolucionistas

Actualmente, ainda nenhuma teoria de envelhecimento evolucionista conseguiu explicar de forma inabalável a razão da existência de um limite para a longevidade. Depois de um século de activa pesquisa sobre o envelhecimento, a natureza activa ou passiva subjacente, ainda permanece em dúvida.²¹ O conceito de envelhecimento programado / não programado permanece sem resposta definitiva. O conceito de envelhecimento programado pressupõe que existe um benefício evolucionário propositado para a limitação da longevidade. As teorias que defendem a não programação do envelhecimento referem que este é fruto apenas da acumulação de erros provocados pela sobrevivência. A partir do surgimento de teorias que uniam a componente evolucionista com a mecanicista, as teorias programadas surgiram com a componente consensual do benefício não individual da senescência para a espécie. Com a expansão do conhecimento constata-se cada vez maior apoio às teorias do envelhecimento programado.¹³

Foi proposto em 2013 um novo sistema de classificação das teorias evolucionistas de envelhecimento, catalogando-as, de acordo com a pressão de seleção específica, em: “envelhecimento maladaptativo” (1); “envelhecimento secundário” (2); “morte assistida” (3); “envelhecimento senemórfico” (4)²¹:

- (1) Existe um declínio da força de seleção natural com a idade, assegurado por: dano somático; mortalidade extrínseca; doenças infecciosas (causando esterilidade). As forças extrínsecas impõe uma má adaptação com o aumento da longevidade, sendo a senescência um processo neutro.
- (2) A senescência é encarada como uma consequência, deletéria em idades tardias, da seleção de características que são úteis para a sobrevivência e reprodução em idades jovens.

- (3) Evidências defendem que a sobrepopulação é deletéria para a descendência, forçando supressão da reprodução. A reprodução é crucial para a adaptabilidade enquanto a longevidade condiciona-a negativamente. Estas constatações sugerem a hipótese da seleção natural favorecer a morte se esta beneficiar a descendência. Levanta-se a possibilidade da existência de um programa de senescência para assegurar a morte, não programado pela carga genética, mas pela activação/inactivação de certos mecanismos, com redução da proteção e da reparação. Surge o conceito de morte assistida, de modo beneficiar a descendência, providenciar controlo demográfico e acelerar a adaptação. Em apoio está a descoberta de genes e mecanismos cujo único papel é reduzir a longevidade.
- (4) Recentemente foi destacada a existência de estratégias senemórficas dependentes do ambiente (independentes do genoma). A mais comum em diferentes espécies é a alteração do padrão de envelhecimento comparando a dieta ad libitum (AL) / RC. Comparando dois grupos dietéticos, alterações idade-dependentes ocorrem em direções opostas observando-se causas major de morte diferentes entre os grupos; alterando AL para RC adia-se e reverte-se muitas alterações acumuladas. Estas observações apoiam a ideia da existência de vias genéticas independentes, que modulam distintos potenciais de longevidade, durante condições alimentares diferentes. Constitui um mecanismo que permitiria otimizar a reprodução a curto ou longo prazo face a alterações ambientais. A constatação deste mecanismo constrói o ponto de partida para a possibilidade da existência de outras estratégias senemórficas de importância major para o envelhecimento. Esta hipótese tem ganho substancial força, com subsequente aprofundamento a ser necessário. ²¹

3.5) Teoria mitocondrial

A teoria mitocondrial do envelhecimento tem sido posta em destaque por permitir descrever um caminho de senescência celular que inclui processos como alterações na cadeia de transporte de electrões, acumulação de mutações do DNA mitocondrial, englobando simultaneamente a Teoria dos Radicais Livres²⁹. Defende-se que esta teoria tem forçosamente de passar a ser considerada como uma parte da teoria mitocondrial do envelhecimento, devido ao facto das ROS serem primariamente produzidas pela mitocôndria como consequência da fosforilação oxidativa.²⁹

O envelhecimento resultaria de uma perda de eficiência na transferência dos electrões, com consequente geração de ROS. O primeiro processo, pelo qual a teoria de envelhecimento mitocondrial se manifestaria, centrar-se-ia num hipotético ciclo vicioso de eventos: um aumento idade-dependente das ROS provoca dano e mutações no mtDNA, com alteração dos genes codificadores das subunidades da cadeia transportadora de electrões e de outros, que podem ter efeito subsequente nessa mesma cadeia, tornando-a disfuncional, causando aumento adicional da produção de ROS e de dano no mtDNA, perpetuando-se do ciclo.³⁶

Embora o DNA mitocondrial só corresponda a 1-3% do material genético celular, a sua importância é maior comparativamente à sua dimensão. O facto de o mtDNA carecer de intrões e histonas, ser constituído por um número reduzido de quilobases e estar localizado na periferia da maior fonte celular de ROS, demonstra a sua vulnerabilidade.^{4,37} Para além da ausência destes mecanismos protectivos do DNA mitocondrial, este carece de mecanismos reparativos de forma absoluta (NER) ou parcial (MMR).³⁷ Verifica-se então um ritmo mais elevado de mutagénese do mtDNA comparativamente com o DNA nuclear. A codificação correcta das subunidades é essencial para o funcionamento da cadeia transportadora de electrões, com consequência no equilíbrio energético celular.³⁷ A função celular é virtualmente imperturbável

até a heteroplasmia mitocondrial (rácio DNA mutado / DNA livre de mutações) atingir o limiar de 80% do mtDNA.²⁹

No estudo da aplicabilidade da teoria mitocondrial do envelhecimento, especial destaque é dado ao músculo-esquelético, devido à sua dependência da fosforilação oxidativa, à sua marcada degeneração idade-dependente e à sua fácil acessibilidade.³⁷ No entanto, a acumulação de mutações do mtDNA verifica-se em todos os tecidos.

Resultados diferentes são atingidos se a análise for feita a uma única fibra muscular em vez do músculo como um todo. Foi descoberto que a actividade da cadeia transportadora de electrões era deficitária em segmentos das fibras. Nesses segmentos era observável uma quase completa ausência de mtDNA normal, sugerindo uma relação dependente entre a existência de mtDNA e a actividade da cadeia transportadora de electrões. As fibras que apresentaram estas alterações mostravam atrofia. Sugere-se que as deleções do mtDNA podem-se manifestar apenas em segmentos específicos de determinadas fibras. Com o avançar da idade, o processo instalado nesse segmento pode se generalizar a todo o músculo.³⁷

O papel essencial da mitocôndria em gerar o ATP celular e na indução de apoptose sugerem que implicações no mtDNA conduzirão a alterações do equilíbrio celular. Existe forte evidência da relação entre o envelhecimento e mudanças do genoma mitocondrial, apresentando efeitos deletérios na fosforilação oxidativa, especialmente nos tecidos pós-mitóticos mais dependentes do metabolismo aeróbio (cardiomiócitos, neurónios, miócitos).^{37,38}

Análises incidindo na actividade da cadeia transportadora de electrões indicaram um decréscimo idade-dependente em vários dos seus complexos. Foram constatadas, em macacos de várias idades, diminuições dos complexos III, IV e V, tanto no tecido muscular esquelético como cardíaco.³⁷ Decréscimo da funcionalidade do complexo I com a idade também foi reportado nos roedores³⁷. O complexo II permaneceu inalterado devido à sua codificação nuclear. Os marcadores utilizados para caracterização da cadeia respiratória mitocondrial

incluem a perda da COX e o aumento concomitante da actividade SDH. As fibras que apresentam estas alterações são conhecidas por “Red Ragged Fibers” (RRF)³⁷. Foi observado que a maioria destas fibras musculares exprime níveis reduzidos da subunidade II da COX, cuja codificação é assegurada pelo mtDNA, com expressão mantida das codificadas pelo DNA nuclear. Foi demonstrado, em ratos, o aumento da percentagem de RRF idade-dependente em relação a fibras normais, com associação a mutações deletérias do mtDNA, ausentes na população controlo.³⁷

Nos humanos resultados similares foram encontrados, mostrando que as fibras com alterações da cadeia de transporte de electrões variavam de 6% aos 49 anos, para 31% aos 92 anos, com deleções do mtDNA em todas as fibras RRF. Nas zonas em que as mutações ultrapassavam 90% do genoma mitocondrial, constatou-se uma perda da actividade da COX com consequente alteração da morfologia das fibras e atrofia. Áreas sem alterações do genoma mitocondrial apresentavam-se normais.³⁷ Um estudo, baseado na realização de biópsias musculares a indivíduos idosos, verificou a existência de mutações do mtDNA, idade-dependentes, afectando até 70% das moléculas, coincidindo com os complexos III e IV.³⁹ Foi constatado que as mutações específicas do músculo acumulam-se com a idade em localizações chave do mtDNA que controlam a replicação, com realce a ser dado a duas mutações do grupo mais idoso.⁴⁰ Observou-se em idosos sem doenças musculares que fibras musculares com défice de COX se associavam a altos níveis de expansões clonais de mtDNA mutado.³⁷

Estudos foram realizados para correlacionar o declínio da função da cadeia transportadora de electrões e o stress oxidativo, com o envelhecimento. Esse decréscimo não se verificou, contrariando a premissa.^{37,41} A literatura registada até 2008 era equívoca face à evolução mitocondrial dependente da idade, com várias constatações de declínio da função. Foi então proposto um modelo com potencial reconciliador das duas vertentes.

Actualmente existem investigações que sugerem o afastamento da relação ROS-disfunção mitocondrial do envelhecimento.³⁷ A polimerase gamma (POLG) é uma enzima participante na replicação e reparação do genoma mitocondrial. Testes, usando ratos que expressam uma versão diferente da POLG, constataram uma acumulação rápida de mutações mitocondriais, com redução significativa da longevidade e instalação prematura de fenótipos associados ao envelhecimento, tendo sido observado um declínio progressivo da função respiratória dos complexos codificados pelo mtDNA. As mutações desta polimerase não se associaram a um aumento de marcadores de stress oxidativo.⁴¹⁻⁴³ Foi detectada uma elevação de marcadores pro-apoptóticos, sugerindo uma promoção apoptótica intrínseca. Associadamente, verificou-se um profundo decréscimo do consumo de O₂ mitocondrial e da produção de ATP. O laboratório de Hiona e Leeuwenburgh realizou experiências com mutações desta polimerase no músculo-esquelético, em ratos de 11 meses, evidenciando as alterações supramencionadas. Esta disfunção não foi acompanhada por aumento da produção de ROS. Verificou-se que os ratos com a mutação mostraram uma redução dos complexos codificados pelo mtDNA (I, III, IV), com concomitante elevação dos marcadores de apoptose mediada pela mitocôndria.³⁷ Baseado nestas novas descobertas surgiu um novo mecanismo para a perda de músculo-esquelético/envelhecimento, que se traduz numa diminuição do número e da funcionalidade dos complexos da cadeia transportadora de electrões, que conduz a um défice energético, disfunção e apoptose mediada pela mitocôndria.

Nos últimos anos a acumulação celular de lipofuscina tornou-se um indicador do envelhecimento muscular humano. Tem sido correlacionada a sua formação ao dano mitocondrial, ainda carecendo de investigação confirmatória.³⁷

Torna-se por demais evidente que, embora a acumulação crónica de stress oxidativo seja factor contribuidor para o dano do mtDNA e para o envelhecimento, o seu papel não é tão central como era defendido pela teoria do ciclo vicioso mitocondrial. As mutações do mtDNA podem

surgir directamente de erros esporádicos da replicação ou de dano oxidativo. Este último condicionar a promoção da apoptose, mas constitui apenas um processo secundário para a activação dessa sinalização.

3.6) Teoria de Envelhecimento Oxidação-Inflamação

Na integração de vários conceitos inerentes a teorias distintas, surgiu a teoria do envelhecimento Oxidação-Inflamação. Define-se como uma teoria integrativa que defende que o envelhecimento surge do processo de diferenciação de células somáticas, pós mitóticas. Este processo relaciona-se com o dano oxidativo, focando especialmente as suas consequências no mtDNA. A função imunitária é vista como um marcador de saúde e longevidade, com relação positiva estabelecida com a sobrevida.

O sistema imunitário é um dos reguladores principais do organismo, constituindo um sistema de defesa versátil, que evoluiu para a proteção contra agentes infecciosos e células malignas. Como é de comum conhecimento existem dois tipos distintos de imunidade, a inata e adaptativa. A primeira está presente ao nascimento e estabelece a primeira barreira contra invasores. As células da imunidade inata são: os monócitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e linfócitos NK. A imunidade adaptativa é uma forma de imunidade mais sofisticada que actua quando a defesa inata não consegue eliminar a infeção num curto período. As células responsáveis por este processo são os linfócitos, T e B. Existem três tipos de linfócitos T: 1) Citotóxicos (Tc) CD8+ eliminam directamente o alvo; 2) “Helper” (Th) CD4+ auxiliam os Linfócitos B e T, dividindo-se em Th1 (imunidade celular) e Th2 (imunidade humoral); 3) Linfócitos T reguladores (TREG) com função de suprimir a actividade linfocitária para prevenir uma reacção excessiva.

O mecanismo da resposta imune compreende três passos: 1) Reconhecimento de antígenos; 2) Activação e Regulação; 3) Resposta efectora para eliminar ou neutralizar os antígenos. Assim é criado um ambiente inflamatório. Posteriormente as células efectoras são destruídas, com produção de células de memória que são mantidas no organismo, com implicações em respostas imunitárias futuras.

As células imunitárias necessitam de produzir compostos oxidativos e inflamatórios para agir defensivamente. Existe conseqüente alteração da expressão genética modulada pelo stress oxidativo, regulando a biossíntese de anticorpos e citocinas para uma resposta imunitária sustentável. O balanço oxidativo do sistema imunitário deve ser preservado, existindo uma relação próxima entre oxidação e inflamação. Uma produção de ROS excessiva ou descontrolada induz uma resposta inflamatória, semelhante à que se verifica quando o sistema imunitário actua. Fenómenos deletérios como a hipertensão, aterosclerose e doenças neurodegenerativas, são causados pelo dano oxidativo/inflamatório. O balanço sustentado entre agentes inflamatórios e anti-inflamatórios é essencial para a manutenção do equilíbrio imunitário e para um envelhecimento saudável.⁹

Acompanhando o avançar idade verifica-se a deterioração funcional de todos os sistemas fisiológicos. Observa-se a re-estruturação do sistema imunitário, processo denominado de imunossenescência. Observa-se diminuição da imunidade humoral, elevação do número dos TREG, alteração do rácio de linfócitos memória / naive com predomínio dos primeiros e disfunção da imunidade inata, com aumento da capacidade de aderência tecidual leucocitária e da produção de citocinas pro-inflamatórias. Verifica-se desregulação da resposta imune, com a geração de ambientes oxidativos e inflamatórios nocivos. Estas alterações têm um impacto significativo em organismos envelhecidos, sendo a infecção, a principal causa de morte⁹.

Os avanços na psico-neuro-imunologia mostraram que o sistema nervoso central e o sistema imunitário estão ligados de forma íntima, não funcionando independentemente. A comunicação estabelecida entre os dois sistemas baseia-se na expressão de receptores semelhantes, tendo os seus produtos a capacidade de co-existir e agir nos componentes do sistema nervoso, imunitário e endócrino. Foi sugerido que o sistema imunitário representa um sistema de recepção de informação não cognitivo com transferência dessa informação para o sistema neuroendócrino,

sendo este último, um receptor de estímulos cognitivos, que responde perante eles, com produção de mediadores que informam o sistema imunitário.

Foi levantada a hipótese de que alterações da comunicação entre o sistema imunitário e o sistema nervoso são a causa provável de senescência.⁴⁵ A desregulação do sistema imunitário, idade-dependente, influencia outros sistemas, conduzindo a alterações da homeostasia. É, no entanto, difícil determinar se são as alterações neuronais que induzem as mudanças imunológicas, ou o contrário, ou se ambas ocorrem simultaneamente. Observou-se que a resposta de células imunitárias a neurotransmissores difere com a idade do sujeito, mostrando deterioração da comunicação entre sistemas, perda de homeostasia, com consequente aumento de morbidade e mortalidade.⁹

A partir de estudos em humanos e ratos, sobre a evolução de determinadas funções das células imunitárias com o envelhecimento, semelhantes conclusões foram retiradas: disfunção e desregulação da balança oxidativa, libertação aumentada de ROS e de citocinas pró-inflamatórias. Foi analisada a relação entre a idade e o estado redox/inflamatório das células imunitárias. Os resultados indicaram que leucócitos envelhecidos apresentam indicadores de maior oxidação e inflamação, com diminuição das defesas antioxidativas e aumento do dano celular. Foi demonstrado que a imunossenescência precoce se correlaciona com morte prematura. Ratos com longa longevidade e humanos centenários mostram um equilíbrio redox semelhante a jovens adultos saudáveis, mostrando preservação dos indicadores imunitários.

Com o envelhecimento observa-se um aumento do NF-kB, normalmente regulado negativamente pelo N-acetilcisteína (NAC). A sua concentração foi estudada em leucócitos, correlacionando-se com o grau de senescência. Quanto maior a sua activação, mais prematura seria a morte. Em leucócitos de ratos de longa longevidade, o nível de NF-kB era semelhante ao de ratos mais jovens.

A Teoria do Envelhecimento Oxidação-Inflamação nasce do cruzamento entre a imunossenescência, a inflamação e o dano oxidativo. O envelhecimento está ligado a stress oxidativo crónico que afecta todas as células orgânicas, com especial destaque para as dos sistemas reguladores (nervoso, endócrino, imunitário). Este último, pela necessidade constante de gerar componentes oxidativos/inflamatórios, pode activar factores como o NF-kB, que estimula a expressão de genes pró-inflamatórios / oxidativos, constituindo um ciclo vicioso. Se o ciclo não for controlado, os componentes nocivos vão desregular as células do organismo, com manutenção de stress oxidativo crónico. Percebe-se, assim, a importância desempenhada pelo sistema imunitário nos mecanismos controladores do ritmo de envelhecimento.

Foram desenvolvidas experiências com dois grupos de modelos, com o objectivo de comprovar as premissas supracitadas:

A) Modelos em que os membros de uma espécie com alta longevidade mantêm um estado redox preservado das células imunitárias. Em concordância com o que já foi referido, indivíduos com longas sobrevidas apresentam um estado redox semelhante a jovens adultos; as fêmeas têm sobrevida média maior, devido ao papel benéfico dos estrogénios no equilíbrio oxidativo.

B) Modelos que correlacionaram menor longevidade com elevação de indicadores de dano oxidativo, inflamatório e imunossenescencia. Testes, avaliando respostas ao stress de ratos com envelhecimento normal, apresentaram níveis aumentados de ansiedade, mostrando química neuronal envelhecida, elevação de níveis oxidativos globais e menor longevidade, comparativamente à população controlo. A menopausa precoce conduziu a um envelhecimento precoce e à deterioração global da homeostasia, acelerando a senescência. A obesidade, por se correlacionar com um aumento do número de infeções e de alguns tipos de cancro, foi associada uma elevação do estado basal inflamatório. Em ratos geneticamente obesos foi constatada imunossenescência prematura. Foram estudadas populações de ratos idosos triplamente transgénicos para a DA. Os resultados mostraram alterações da rede neuroimunoendócrina

associadas ao envelhecimento, apoiando a hipótese da imunossenescência como factor patogénico da DA.

Um sistema imunitário muito activo é construído para proteção contra infecções e contra tumores, dois riscos cronicamente presentes. Utilizando como ferramenta a oxidação-inflamação, é essencial a manutenção do equilíbrio. O sistema imunitário pode coordenar o ritmo de envelhecimento, modular a idade biológica e a longevidade média, sendo ele determinante para inúmeras doenças idade-dependentes. Foi proposto que este era o preço a pagar por um sistema imunitário activo por um longo período, que permite chegar à idade reprodutiva com maior probabilidade, conduzindo à acumulação posterior de dano. Esta teoria mecanicista enquadra-se, sob ponto de vista evolucionista, na PA. Cumpre também princípios de Strehler, sendo progressivo, intrínseco, universal e deletério. Todos os seres vivos possuem alguma forma de sistema imunitário. Em invertebrados constatou-se a existência de um sistema celular e humoral muito semelhante ao inato dos mamíferos, carecendo de imunidade adquirida. A existência da via do NF- κ B foi observada, transversalmente, em todos os animais. Também se defende a existência de um sistema imunitário nas plantas. Nos próprios seres unicelulares são encontradas formas de imunidade inata. É universal que as células imunes, para o desempenho das suas funções, formem ROS, que geram stress oxidativo. As células do sistema endócrino, do sistema nervoso e os linfócitos TREG, apresentam-se no estado pós mitótico, acumulando maior grau de dano. Estes três grupos celulares desempenham um papel central na modelação mútua. Se a desregulação é uma consequência inevitável do seu estado pós mitótico, o seu papel regulador orgânico vai constituir os mecanismos que se tornam a base da senescência.

Antioxidantes e Sistema Imunitário

Testes usando ratos com envelhecimento prematuro e homens e mulheres idosas, sob regime dietético com suplementos antioxidantes, mostraram um efeito benéfico a nível neuronal e imunitário, com melhoria da função imunitária e neutralização do stress oxidativo.

Papel destacado é o do glutatião (GSH), essencial para a manutenção de um estado redox preservado, especialmente nos sistemas nervoso e imunitário. Estudos realizados em animais e pessoas idosas mostram um decréscimo global dos níveis de GSH, com o envelhecimento, quase inversamente proporcional ao risco de morte do organismo. Seria expectável que a administração de GSH causasse um incremento da esperança média de vida.

Estudos mostram que a administração de uma dieta rica em antioxidantes aumenta os níveis não só de GSH mas também do já falado NAC. Foi testado o efeito da elevação do GSH, usando linfócitos NK de ratos adultos idoso, testando o seu efeito nos órgãos linfáticos. A sua administração causou melhoria da função imunitária, apresentando valores semelhantes aos dos indivíduos adultos. Confirmou-se que suplementos de antioxidantes, combinados com alterações ambientais e de estilo de vida, permitem quebrar o ciclo vicioso do envelhecimento, atenuando as suas consequências. No entanto, impacte na longevidade não foi observado, à semelhança das investigações sobre o papel dos antioxidantes já descritas neste artigo.

3.7) Teoria do envelhecimento do óxido nítrico

No âmbito da investigação sobre o envelhecimento foi construída a Teoria do Óxido Nítrico, a partir da constatação da relação entre o envelhecimento e a excessiva produção de radicais livres de NO no sistema nervoso central e respectivas glândulas.^{46,47} Experiências com roedores sugeriram a hipótese de o NO ter impacte no envelhecimento orgânico global, com grande maior evidência na patogénese da aterosclerose coronária.

Existem três formas de NO-sintetase no organismo: iNOS; eNOS; nNOS. Relativamente à primeira, está é sintetizada em resposta a estímulo provocado por citocinas inflamatórias ou pelo LPS (actuando pela via do NF-kB, que também estimula a produção de citocinas). A indução da iNOS provoca alta concentração de óxido nítrico conduzindo à morte dos invasores, assim como de células do hospedeiro. O NO bloqueia enzimas celulares essenciais para o metabolismo, activa sGC que promove a conversão do GTP em cGMP (mediador fisiológico do NO), que pela activação de outros mediadores, cria um ambiente com potencial tóxico.⁴⁷ A eNOS está presente no endotélio vascular. A estimulação parassimpática provoca um aumento da concentração de cálcio livre que se combina com a calmodulina, activando a enzima. Esta produz NO que, pela via da sGC relaxa o músculo liso vascular. O bloqueio da sua síntese conduz a hipertensão. A terceira isoforma da enzima é a neuronal, encontrada tanto no sistema nervoso central, como no autónomo. É activada pela elevação do cálcio intracelular devido a um input sináptico. Recentemente descobriu-se uma forma desta enzima localizada na membrana mitocondrial interna. Se activada, por infeção ou dano celular, tem potencial de causar morte celular através da produção de NO, por oxidação mitocondrial e de outros organelos. Ainda é necessária investigação adicional sobre esta sintetase mitocondrial.

Evidências foram encontradas em como o aumento da expressão da CAT em ratos transgénicos prolongou a sobrevivência em 20%, devido ao papel inactivador do NO pela enzima, com

concomitante decréscimo de deleções mitocondriais e adiamento de patologia cardíaca e da formação de cataratas.

Estudos relacionando o NO e o seu papel no sistema nervoso central revelaram importante na função a longo prazo do hipocampo e da função cerebelar, sem compreensão total das suas implicações. Verificou-se influência do NO na função hipotálmica e hipofisária, controlando parcialmente a libertação de certas hormonas e neurotransmissores (\uparrow GABA; \downarrow norepinefrina e dopamina). A interação mais evidente registou-se nos núcleos responsáveis pela produção de LHRH. No âmbito das doenças neurodegenerativas o NO também influencia a morte das células neuronais. Na doença de Parkinson, a produção basal de NO pode ser suficiente para causar toxicidade devido à sua difusão nos neurónios dopaminérgicos, combinando-se com o superóxido formando peroxinitrito e devido à sua capacidade de inactivar os grupos heme-enzimáticos, bloqueando a respiração celular. A DA é caracterizada pela acumulação de placas de amiloide envolvidas por astrócitos contendo IL-1, indutor da iNOS. Esta produz NO, que promove a morte das células neuronais vizinhas, constatando-se a existência aumentada de prostanóides, metabolito resultante da ação do NO. Este processo acompanha o envelhecimento normal, com menor intensidade. Na Doença de Huntington verificou-se um aumento dramático do mRNA codificador da nNOS nos neurónios dos gânglios da base, criando níveis de NO suficientes para produzir a perda neuronal que caracteriza a patologia. Em infeções crónicas como a SIDA, existe um aumento significativo da iNOS na glia associada a alterações da nNOS semelhantes às condições anteriores, conduzindo o cérebro a alterações Alzheimer-Like.

A injeção de quantidades moderadas de LPS mimetiza o efeito da infeção bacteriana. Induz imunorreactividade neuronal a IL-1, na região preóptica do hipotálamo, no núcleo paraventricular, núcleo anterior, eminencia mediana, plexos coroides, meninges, com maior impacto na hipófise anterior e na glândula pineal, verificando-se libertação consequente de

NO.⁴⁷ Sugere-se então, que face a infeções moderadas, de localização diversa, quantidades nocivas de NO podem ser libertadas no SNC. Após múltiplas infeções, pode ocorrer destruição de neurónios dos centros reguladores da temperatura (não só) com diminuição da resposta à febre e diminuição da resposta hipofisária à infeção. Na glândula pineal o aumento da produção de óxido nítrico irá resultar na morte celular, diminuindo a secreção da melatonina, atenuando o seu efeito antioxidante, acelerando o envelhecimento. Devido à importante ação do óxido nítrico no hipocampo também se pode assistir a perda neuronal deste, com potencial associação de disfunção cortical e/ou cerebelar. O LPS cursa com a indução de citocinas, que se combinam com os receptores das células endoteliais das artérias coronárias activando a iNOS endotelial e os macrófagos locais, resultando na libertação de 1000 vezes mais NO do que a basal controlada pela eNOS. O NO oxida o LDL causando a produção de prostaglandinas e leucotrienos aumentando o dano do vaso. Esta conjugação produz uma rápida evolução para doença coronária, relacionando-se com a inflamação crónica e infeções repetidas.

Constatou-se em cobaias, que o stress isolado provoca a indução de nNOS, de forma semelhante à indução da iNOS pela LPS, actuando de maneira semelhante no sistema vascular. Em humanos este efeito ainda não foi comprovado, sabendo-se, no entanto, o papel de risco do stress na disfunção cardiovascular. Evidências crescentes relacionam a tríade stress-infeção-inflamação, mediada em grande parte pelo óxido nítrico libertado pela iNOS, com a progressão para patologia cardiovascular crónica e aguda, mesmo na presença de perfil lipídico normal. Foi descrito que o tratamento com antioxidantes como a vitamina C e E reduzem os efeitos nocivos no NOS, minorando as alterações cardiovasculares.

É necessário ainda estudo mais aprofundado sobre este tema, no entanto relações entre o NO e o envelhecimento já se estabeleceram. Devido às evidências apresentadas atrás, a sua integração na Teoria de Envelhecimento Oxidação-Inflamação parece apropriada, podendo constituir um passo em frente pertinente na investigação gerontológica.

3.8) Teorias Hormonais

O primeiro ponto de vista que postula que a senescência de um organismo é consequência de défices hormonais, foi sugerido no final do século XIX por Brown Sequard. James Herthogue nos anos 70 propôs o nome “Multiple Deficiency Syndrome” para denominar as patologias correlacionadas com o envelhecimento difíceis de tratar por monoterapia.

A senescência é consequência de múltiplas causas que provocam dano tecidular. Os défices hormonais influenciam profundamente o impacte de agressores, condicionando reparação deficiente e aumento da vulnerabilidade tecidular. Com o envelhecimento constata-se progressão orgânica para estádios de deficiência endócrina. Pessoas idosas apresentam progressiva redução dos níveis de GH, IGF-1, melatonina, TSH, hormonas tiroideias, calcitonina, DHEA, aldosterona e esteroides sexuais. As exceções a esta diminuição geral são a PTH, a somatostatina e o cortisol. Relativamente a este último, não há consenso sobre um aumento ou apenas estabilização dos seus níveis, com constatação de menor secreção diária, menor excreção e utilização inadequada (redução periférica de receptores de glucocorticoides). O impacte metabólico, no envelhecimento, da preservação de níveis normais de cortisol deve-se à sua ação catabólica num organismo com carência de hormonas anabólicas.⁴⁸

O declínio hormonal progressivo inicia-se entre os 25 e os 35 anos. As primeiras hormonas a apresentarem diminuição nos seus valores são a DHEA, a testosterona feminina e a GH. A acompanhar o decréscimo produtivo hormonal global verificou-se reduzida utilização periférica e diminuição da sua excreção. Constatou-se também desregulação do ritmo de secreção, verificando-se ao longo da vida perda de controlo sobre o ritmo circadiano, perdendo progressivamente o seu efeito na regulação da secreção hormonal⁴⁹. Esta dessincronização causa a existência de períodos de actividade não coordenados com picos hormonais, com consequente dano à saúde fisiológica e psicológica do idoso.

Em termos práticos verificou-se que:

- a) Alterações patológicas relacionadas com o envelhecimento são semelhantes a consequências de défices hormonais;
- b) Deficiências do balanço endócrino constituem a causa e a justificação da existência de mecanismos chave de outras teorias do envelhecimento. Exemplos: 1) Impacte no balanço oxidativo: em estados hipometabólicos (hipotiroidismo) verifica-se redução: da absorção intestinal de vitaminas e diminuição da produção de enzimas antioxidantes (hormonas pépticas estimulam a produção de CAT / GSH); poder hormonal antioxidante (melatonina $4x >$ vitamina C ; neutralização oxidativa directa das hormonas lipídicas) 2) Impacte no sistema imunitário (especialmente GH e IGF1): promoção do crescimento/diferenciação do timo, da produção e actividade de linfócitos T, linfócitos B e da actividade dos leucócitos fagocíticos. No entanto não são só estes os mecanismos de envelhecimento influenciados pela falência endócrina.
- c) Possível papel dos suplementos hormonais na manutenção do equilíbrio endócrino do organismo mostrando uma redução, paragem de progressão, ou mesmo regressão dos indicadores de senescência. Os resultados ainda não se mostraram conclusivos. Estudos favoráveis são muitas vezes apoiados em cobaias com longevidade muito distinta da humana. Existem melhorias evidentes em idosos com défices endócrinos significativos à priori, sem no entanto se observar impacte real no envelhecimento natural. Em certos estudos foram constatados resultados negativos, que reforçaram a importância da escolha de suplementos, o mais semelhante possível às hormonas fisiológicas, e da manutenção do equilíbrio hormonal global.

Esta teoria, sustentada com os resultados anteriores, constitui um incentivo para uso de hormonas de composição o mais próxima possível à fisiológica, da forma de administração

mais benéfica e em doses semelhantes à produção natural, tendo em conta o equilíbrio endócrino global. Assim, existe um potencial terapêutico de alteração desse processo, sendo necessário, um correcto estudo hormonal global, de modo a uma ação integrada e completa. O planeamento de uma terapia hormonal múltipla, de modo a fornecer hormonas em falta e a compensar possíveis desvios de outras, na hora e na quantidade certa, mantendo o balanço endócrino global e corrigindo alterações ao ritmo circadiano, constituiu uma possível forma de contornar essa senescência.⁴⁸

Porque não é instituído um plano terapêutico adequado? Embora a evidência deste impacto descrito, estudos mais avançados e pormenorizados são necessários. Dados existentes relatam ineficácia não prevista (androstenediona na resistência ao exercício), riscos deletérios para a saúde do indivíduo (DHEA aumenta do risco do cancro da mama em mulheres na pós-menopausa; testosterona promove o desenvolvimento de diabetes no sexo feminino). Todavia, estas informações contraditórias não devem ser impeditivas da terapêutica hormonal em certos casos, nem da contínua procura de conhecimento sobre o envelhecimento e mecanismos de o antagonizar.

3.9) Teoria Reprodução-Ciclo Celular

No âmbito da investigação acerca da Teoria Hormonal do Envelhecimento, surgiu a Teoria Reprodução-Ciclo Celular.

Sobre o envelhecimento já foi referida a definição alterada de envelhecimento defendida por Richard Bowen e Craig Atwood. Envelhecer para estes investigadores significa mudança, compreendendo etapas de desenvolvimento e crescimento assim como as de deterioração.¹ O período de envelhecimento mais acelerado é o fetal, marcado por processos de multiplicação e de diferenciação celular, controlados por uma interação entre mitose-diferenciação-apoptose, ou seja, entre factores sinalizadores do ciclo celular. Estes investigadores sugerem que são esses mesmos factores que regulam o ritmo de envelhecimento ao longo da vida. O envelhecimento é primariamente regulado pelo balanço hormonal que controla a reprodução, justificado pela regulação da atividade mitótica e de diferenciação destas hormonas e pela inversa correlação entre longevidade e fertilidade. Nos mamíferos a esse centro regulador corresponde o eixo Hipotálamo-Hipófise-Gónadas (HHG). De forma sumária, a teoria postula a ação do eixo, por vias de sinalização inerentes ao ciclo celular que, numa primeira fase promovem o desenvolvimento e o crescimento de modo a adquirir a capacidade reprodutiva, sendo que, mais tarde na vida, o eixo hormonal, numa tentativa de manter essa função, desregula-se, conduzindo à instalação do processo da senescência.

Evolucionariamente, a reprodução é a função orgânica mais importante para a preservação da espécie. A longevidade está dependente da aquisição de atributos, que permitem a sobrevivência num ambiente, para permitir reprodução eficaz. Está também dependente da interação com a descendência, não devendo competir por recursos com as gerações seguintes.

Os estudos documentados neste artigo, que condicionam um aumento da longevidade, envolvem a RC e mutações de genes específicos, diminuem concomitante a fertilidade, suprimindo o eixo HHG. Esta afirmação justifica-se pela relação já estabelecida, entre a

componente hormonal compreendida pelo eixo e a sua interação na sinalização dos mecanismos metabólicos abrangidos pela via GH/IGF-1/PI3K/Akt/Forkhead.

A componente hormonal do eixo HHG divide-se em central e periférica conforme o local de produção. A primeira apresenta as hormonas GnRH (hipotalâmica) e a LH e FSH (hipofisárias). Periféricamente, existem os esteroides sexuais e as inibinas (origem gonadal) e as activinas e folistatina (produzidas em todos os tecidos). A regulação dos níveis hormonais é controlada por um complexo mecanismo de feedback. Em jeito de resumo, dois mecanismos, um mediado pela inibina outro pela folistatina, regulam a sinalização da activina, que estimula a secreção de GnRH, com conseqüente libertação de LH e FSH, que se ligam a receptores nas gónadas promovendo a produção dos gâmetas, assim como dos esteroides sexuais e a inibina, sendo que estes últimos vão, por sua vez, afectar de forma negativa a secreção central.

A inibina inativa os receptores da activina. A produção das inibinas está dependente da gametogénese e regulam-na, contrariando a ação dos esteroides sexuais. Estão também envolvidas directamente com a regulação do HHG e constituem um indicador de fertilidade. A folistatina liga-se de forma irreversível à activina, impedindo a sua ação. Provoca a supressão da função reprodutiva face a uma lesão, exibindo essa ação até se completar a reparação.

Durante o período fetal os níveis hormonais do eixo HHG encontram-se globalmente aumentados. Com o nascimento existe uma redução dos níveis, por um período aproximado de duas semanas, conseqüente à ausência produtiva da placenta, coincidindo com perda de peso e paragem de crescimento. Posteriormente, os níveis hormonais elevam-se progressivamente, com um pico localizado nos três meses de vida e com um declínio progressivo até aos nove meses, momento em que as concentrações séricas serão mantidas na idade infantil. As oscilações dos níveis hormonais coincidem com maior ou menor ritmo de crescimento e desenvolvimento. Na puberdade verifica-se nova elevação do balanço hormonal. Com o fim da

puberdade, observa-se uma fase de equilíbrio de função do eixo, correspondendo ao período de mínimo envelhecimento. Posteriormente, observa-se declínio da função reprodutiva coincidindo com a desregulação do eixo HHG, representado por uma diminuição das inibinas, com aumento da sinalização das activinas, com consequente elevação da GnRH, LH e FSH. A perda de capacidade produtiva de esteroides sexuais, vai causar um estímulo adicional à produção hipotalâmica-hipofisária. Os níveis de gonadotropinas serão sempre superiores aos registados na fase reprodutiva.

O hipotálamo tem um papel essencial na sensibilidade e controlo do compartimento extracelular do organismo. Desta maneira prevê-se que a secreção de GnRH e o controlo da fertilidade seja dependente da informação do compartimento extracelular, detectando a presença ou não, de um ambiente favorável à reprodução. Deduz-se que, se as condições ambientais detectadas não são favoráveis, a fertilidade é reduzida e o envelhecimento retardado, com incremento na longevidade, esperando pelo momento certo para ganho de fertilidade e geração de descendência. Essas condições associam-se a mecanismos de stress, como escassez de recursos alimentares ou temperaturas inadequadas, situações já testadas experimentalmente, em mamíferos, invertebrados e plantas, com semelhantes conclusões retiradas⁵⁰. Experiências com ratos, em ambientes de temperaturas baixas, observaram um aumento da ingesta alimentar, sem afecção da esperança média de vida, associados à supressão do eixo HHG, de modo a reduzir os gastos metabólicos com a reprodução, compensando o aumento do stress oxidativo provocado pelo frio. Experiências centradas em defeitos genéticos do gene Pit-1 ou o Prop-1 (causando deficiência hipofisária selectiva) mostraram prolongamento da sobrevivência, diminuição de fertilidade / esterilidade e atrasos do desenvolvimento do sistema imunitário. Já foi referida a importância da via da insulina/IGF-1 no envelhecimento. Ratos com redução do receptor de GH e déficit de IGF-1 mostraram um aumento da longevidade, com concomitante

diminuição de receptores da LH e diminuição da secreção da testosterona em resposta à LH. Tendo em conta que um dos derradeiros intermediários da via do IGF-1 é o Forkhead, qualquer sinal que afecta a sua translocação para o núcleo também regula a longevidade. Estudos realizados com a CE constataram que reguladores desta via são homólogos das activinas (daf-1/daf-4) e da P450 hidroxilase (daf-9), sendo os primeiros reguladores dos segundos, tal como se verifica nos humanos. O homólogo do IGF-1(daf-2), em conjugação com o daf9/12, coordenam o homólogo do Forkhead (daf-16), que tem um papel preponderante no crescimento e na passagem do estado larval ao adulto da CE.

Esta relação entre a via condicionada pelo daf-2/daf 16 e o eixo condicionante da sexualidade foi conseguida e revela-se de extrema importância na justificação da dualidade longevidade/capacidade reprodutiva. Defende-se que a senescência seja resultado da tentativa de manter a função reprodutiva indefinidamente, com consequentes alterações hormonais e desregulação do ciclo celular.¹ A tentativa de manter a proliferação das células germinativas afecta negativamente as células somáticas, verificando-se a existência de mitose desregulada (dióse). A forma como uma célula responde à sinalização diótica é consequência do seu estado de diferenciação, da expressão do seu receptor para as hormonas, assim como da concentração destas. Dióse numa população de células estaminais resulta em divisão descontrolada, se a sinalização mitótica for alta e a de diferenciação baixa. Estes dois tipos de sinalização são controlados por factores mitogénicos e de diferenciação, hormonas dependentes do eixo HHG.¹ Os factores mitogénicos descritos são as hormonas LH a FSH e a GnRH, com múltiplas evidências da sua ação de estimulação proliferativa e de crescimento. Foi constatada a sua intervenção na via transcripcional da Forkhead, de forma a iniciar a mitose. Os receptores da LH e GnRH estão globalmente expressos pelo organismo. As hormonas sexuais também tem um papel na promoção da mitogénese.¹ O perfil de mudança das concentrações séricas de

factores mitogénicos também é concordante com os períodos de maior mudança. Assim compreende-se papel do eixo HHG na regulação dos factores mitogénicos.

A activina é considerado o principal factor de diferenciação. Todas as células desenvolvem algum tipo de diferenciação e os receptores desta hormona estão localizados em todos os tecidos, sendo possível que a activina seja um factor de diferenciação universal. As alterações da sua concentração sérica também correspondem ao perfil desse tipo de factor. A forma como as activinas afectam a função celular é extremamente complexa. Essencial ter o conhecimento de que existem diferentes tipos de activinas com ação distinta consoante o tecido e existência concomitante de diversos receptores da activina. A estimulação destes vai coordenar fosforilação de diferentes proteínas, participantes directos da regulação da expressão génica, exercendo interferência na via transcripcional do FKHR, semelhante ao papel dos seus análogos na CE. É por esta complexa regulação da expressão genética que actua a activina na diferenciação celular, constituindo um mecanismo conservado na evolução.

A activina, pode ser constituída por um tipo de subunidade alfa, e/ou por 5 tipo de subunidades beta, o que conduz à existência de diferentes tipos desta proteína. A proliferação tecidular específica ocorre devido à produção celular geneticamente programada de uma certa quantidade de subunidades beta, que regula a dimensão de órgãos e tecidos. Um tipo específico de activina é produzido por um tecido com posterior libertação para a corrente sanguínea, que ao atingir concentrações limites promove a sua diferenciação/proliferação. Um exemplo é dado pelo tecido hepático que possui a activina A como bloqueador primário da síntese de DNA. Após hepatectomia existe diminuição da sua concentração conduzindo a um crescimento do fígado remanescente. A actuação deste mecanismo estabelece uma ligação entre o índice mitogénico e a taxa de diferenciação dos tecidos que irá determinar o ritmo de crescimento/diferenciação espécie-específico.

Constata-se que ambos os mecanismos (mitogénese / diferenciação) actuam mediados pela via do FKHR. Prevê-se que em todas as espécies o rácio de mitogénese / diferenciação, estabelecido por estes factores, determina o estado de fosforilação do FKHR e a sua translocação nuclear. Os mitogénicos são responsáveis pela sua fosforilação e prevenção da translocação nuclear, sendo o contrário observado para os de diferenciação. É na compreensão deste equilíbrio que está o controlo da tríade crescimento-desenvolvimento-senescência. Propôs-se que o ritmo de proliferação celular é determinado por factores mitogénicos produzidos centralmente, combinados com a taxa de diferenciação regulada periféricamente. Esta associação controla a velocidade de maturação reprodutiva e a dimensão atingida, dois indicadores correlacionados com a longevidade. Um organismo atinge um determinado tamanho dependente no número de células periféricas, da quantidade de factores de diferenciação secretados e da sua sensibilidade perante eles.

Tornou-se necessária investigação dirigida para a observação da mesma relação em diferentes espécies, no seu ambiente natural. Foi estabelecida uma relação proporcionalmente directa entre o tamanho animal e a sua longevidade, com muitas excepções a ser consideradas. A Teoria Reprodutiva-Ciclo Celular tem a explicação para a relação entre tamanho-sobrevida e para as suas excepções.¹ Um alto índice mitótico associado a uma elevada taxa de diferenciação culmina num animal de pequeno porte, de rápida senescência, enquanto um reduzido índice mitótico associado à manutenção da taxa de diferenciação cria um pequeno animal de maturação lenta.¹ Explica-se assim o porquê das diferenças encontradas entre seres de porte semelhante com longevidade díspares. Em relação às idades reprodutivas, estas vão corresponder às diferenças entre as suas longevidades, sendo a maturação reprodutiva dependente da sinalização mitogénica produzida pelo eixo HHG. Posteriormente, o ritmo de senescência é determinado pelos factores de sinalização que regulam a função reprodutiva. Comparando espécies verifica-se, que animais com maiores sobrevidas comparativamente com

outras espécies do seu tamanho, apresentam elevações menos frequentes e intensas de gonadotropinas, conduzindo a um menor índice reprodutivo e mitótico. Reforça-se a veracidade da teoria Reprodução-Ciclo Celular.

Importante referir a RC para a compreensão das longevidades algo paradoxais do mundo animal. Foi atribuído que a evicção de predação nalguns animais justificavam as sobrevidas díspares. No entanto, existem alguns desses atributos são vistos em espécies que não apresentam aumento da sobrevida. Isto deve-se ao facto de os atributos de evicção de predação, associados aos animais com maior longevidade, acarretarem maior custo metabólico, adicional ao despendido na procura de energia. O gasto metabólico irá ser mais elevado tendo em conta os recursos alimentares, conduzindo-os a um estado de RC. Animais voadores ou com carapaça têm um maior gasto metabólico comparativamente aos animais venenosos, apresentando uma maior longevidade, devido à necessidade de energia suplementar. Sumariamente prevê-se que um aumento energético na procura de comida justifica melhor a expansão da longevidade dos animais com atributos de evicção da predação, do que a simples redução da mortalidade extrínseca.^{1,51}

Com o declínio da função reprodutiva observa-se um decréscimo na produção de inibinas, mesmo com níveis aumentados de GnRH/gonadotropinas. Esta perda de inibinas vai resultar num aumento da concentração de activinas, desregulando os níveis de gonadotropinas, com consequente dióse. Todas as formas de vida que se reproduzem de forma sexuada, com a perda de função reprodutiva, exibem este padrão de senescência centrado nas alterações de factores mitogénicos / diferenciação. As mudanças únicas da sinalização do ciclo celular, determinam a duração e o ritmo de senescência, os tecidos que irão ser mais afectados e, consequentemente, as doenças a que irão estar mais susceptíveis. Pode-se evidenciar a relação entre alterações hormonais e marcadores fisiopatológicos de senescência: 1) Aumento proporcional de LH e

indicadores de senescência (perda de massa muscular) em homens; 2) Relação entre a entrada aberrante dos neurónios no ciclo celular observado na DA e maior nível de LH intraneuronal; 3) Papel da activina na promoção da actividade osteoclástica e o aumento da prevalência da osteoporose idade-dependente; 4) Promoção da angiogénese pela LH e a estimulação da proliferação de células de músculo liso vascular e, conseqüentemente, da aterosclerose; 5) Aumento da incidência de cancro idade-dependente, correspondente ao aumento da sinalização dióptica; 6) Relação entre o declínio da função imunitária e alterações dos níveis hormonais (exemplo: gravidez).

A teoria da Reprodução-Ciclo celular vem definir que são as alterações do equilíbrio de proliferação e diferenciação que constituem a base para a mudança inerente ao envelhecimento, com o eixo HHG a determinar o ritmo dessa mudança. Tem base em mecanismos capazes de ser aplicados a todas as formas de vida de reprodução sexuada, desde unicelulares até mamíferos, partilhando, com as plantas, vias metabólicas relacionadas com o eixo HHG com as plantas. Os factores reprodutivos de sinalização do ciclo celular determinam o ritmo de crescimento, de desenvolvimento e a taxa de reprodução, que irá determinar a progressão da senescência e, conseqüentemente, a longevidade.

O que pode ser feito para abrandar o ritmo de envelhecimento?

O período de vida que corresponde àquele com menor ritmo de mudança, de envelhecimento é o reprodutivo. Bowen e Atwood referem que, mimetizar os níveis reprodutivos de factores sinalizadores do ciclo celular, constituiria uma intervenção que resultaria em expansão da longevidade. Uma possível terapêutica fisiológica de diminuir o envelhecimento seria a administração exógena da subunidade alfa da inibina. A eficácia desta possível terapêutica ainda continua um mistério. A teoria também defende que se houvesse uma forma de diminuir

a depleção de células germinativas, ou aumentar o seu número, deveria ser possível adiar a senescência sem retardar o crescimento, adiar a puberdade ou diminuir a fertilidade. Experiências que usaram a DM heterozigota para mutações no gene Indy, obtiveram um fenótipo com dimensões semelhantes selvagem, sem atraso no desenvolvimento, com aumento de 50 % da sobrevivência e capaz de produzir mais descendência, sucedendo em todos os requisitos atrás expostos. Este efeito ocorreu possivelmente por aumento das células germinativas ou diminuição do ritmo da sua deterioração.¹ Outros genes encontram-se em investigação. Estudos que incidiram sobre transplantação de ovários de ratos jovens para indivíduos envelhecidos produziram expansão da longevidade.⁵²

3.11) Teoria da Electricidade Diminuída

Um estudo de 2009 chegou à conclusão que, em termos animais não existe o conceito de marcador universal de envelhecimento, mas antes uma dúzia de possíveis mecanismos como a via da insulina/IGF-1, constituindo uma lista que não está ainda fechada.^{53,54} Além da ausência de um marcador universal de envelhecimento, há evidências de que o ritmo de envelhecimento é diferente não só inter e intra-espécie mas também a nível tecidual, com envelhecimento diferenciado de distintos tecidos, sugerindo mecanismos de senescência independentes entre si conservados no decurso da evolução. O resultado permanece semelhante, senescência global. Em 2012 surgiu a teoria do envelhecimento da “Electricidade Diminuída”.⁵⁴ Partindo do princípio que não existe gene ou via metabólica universal, o mecanismo fundamental do processo de senescência provavelmente não é de natureza bioquímica, mas antes física. A capacidade das células de produzirem a sua própria electricidade através do fluxo de iões constitui a pedra basilar do seu próprio funcionamento. Torna-se pertinente analisar quais são os mecanismos responsáveis por danos irreversíveis no sistema eléctrico que conduzem à morte celular e que condicionam a incapacidade da reparação total.⁵⁴

O núcleo pode encontrar-se ionicamente compartimentalizado, isolando-se de alterações iónicas citoplasmáticas. A teoria defende que os iões inorgânicos e a electricidade celular têm um papel importante no controlo da expressão génica, na polaridade e no desenvolvimento, por mudanças das concentrações dos iões intranucleares, que afectam a estrutura da cromatina, alterando a transcrição. Um fenómeno, provavelmente, evolucionariamente preservado nos seres eucariotas.

O mecanismo de envelhecimento enfraquece o sistema eléctrico das células até ao ponto de colapso e morte. Alterações na permeabilidade da membrana plasmática são os meios primários para a comunicação celular, traduzida por um sistema de sinalização inerente à célula,

permitindo alterações da expressão génica. O DNA constitui o substrato do primeiro sistema de memória celular, possuindo relativa vulnerabilidade a mutações. As células apresentam um segundo sistema de memória, o da memória cognitiva, que sofre uma deterioração com o envelhecimento. Este processo ainda não foi totalmente compreendido, com pesquisa a ser focada nas alterações da expressão génica. Foi constatado que o complexo proteico citoesqueleto-membrana plasmática é um candidato para o substrato armazenativo da informação cognitiva. A membrana plasmática é o local central de produção de electricidade celular, estando em contacto com proteínas específicas do citoesqueleto, que permitem uma ligação com a actina citoplasmática. Existe a hipótese de que a actina e moléculas actina-like têm um papel essencial na transdução e armazenamento da informação cognitiva. Importantíssima, para este potencial papel da actina, foi a descoberta da sua capacidade de condução eléctrica. A actina nuclear é o componente major do esqueleto dos cromossomas eucariotas, estando também presente no citoplasma de procariotas. Propôs-se que, o complexo composto pelo DNA e as pontes de actina cromossómica, são os elementos fundamentais dos dois tipos de memória, com a ligação directa necessária ao sistema eléctrico da célula. Estudos com fungos unicelulares atribuíram à actina um papel determinante no envelhecimento e apoptose, enfatizando as suas interações com a mitocôndria.

As proteínas responsáveis pelos canais, bombas, trocadores e transportadores iónicos, possuem localização específica e a sua ação concertada permite a constituição da dimensão eléctrica. Esta deteriora-se devido a mutações e alterações na reparação que vão conduzir à colocação errática desses mecanismos de transporte iónico e ao ancoramento de proteínas anómalas ao citoesqueleto, acarretando alterações da polaridade. Os iões H^+ e Ca^{2+} possuem papéis chave como segundos mensageiros devido ao seu transporte membranar requerer energia. Em bactérias, a bomba transportadora mais importante é a H^+ -ATPase. Nos seres mais complexos, a principal é a bomba Na^+/K^+ , ainda existindo as H^+ -Atpases, com função secundária. Foi

proposto o funcionamento alterado deste transporte, como mecanismo primordial de envelhecimento. Estes transportadores necessitam de energia sob a forma de ATP, produzido pela mitocôndria, fonte de ROS. Deterioração mitocondrial causa enfraquecimento do sistema eléctrico, em linha com a teoria dos radicais livres. Foi sugerido que a oxidação dos canais de K⁺ pelas ROS causam perda de função neuronal e, envelhecimento⁵⁵. Dados contrários foram concluídos de certas experiências, que constata que a produção de ROS mitocondrial não tem correspondência na longevidade.⁵⁶ Estas defendem o papel central da insulina/IGF-1 como promotor do envelhecimento, exercendo a sua ação por activação de mensageiros secundários, com posterior inactivação de factores de transcrição, afectando o sistema de transporte de iões. Se não ocorrer reparação, o gradiente voltaico enfraquece-se progressivamente. Alterações na composição e integridade membranar, nas concentrações iónicas e hormonais séricas têm impacte adicional no funcionamento do sistema eléctrico celular.

A universalidade do processo eléctrico é absoluta, devido ao facto de, todas as formas de vida usarem potenciais eléctricos, na comunicação com o exterior e em processos internos. A razão da existência de poucos estudos incidentes nesta hipótese justifica-se pela ausência instrumentos tecnológicos adequados, a uma investigação deste tipo. Com o desenvolvimento técnico assiste-se à descoberta de meios que poderão permitir aprofundar a investigação. É necessária uma colaboração próxima entre fisiologistas e biólogos evolucionistas para permitir a compreensão plena do envelhecimento celular, que necessita de uma visão integrada. Essa visão seria facilitada se as células fossem encaradas como camaras de electroforese em miniatura, com a sua polaridade e actividade eléctrica.⁵⁴ A perda dos mecanismos de manutenção da polaridade, não foi devidamente estudada, nunca lhe tendo sido atribuído potencial explicativo do envelhecimento. Novos métodos de avaliação, desenvolvidos no âmbito da otopogenética, poderão constituir uma abordagem que responda às questões inerentes a esta teoria.

4) Discussão / Conclusão

No campo da biologia moderna, o mecanismo consensual subjacente ao envelhecimento continua ainda sem ser encontrado. Investigações acerca do mesmo têm sido desenvolvidas, desde o século XIX, até aos nossos dias. Teorias explicativas do envelhecimento não conseguiram ainda demonstrar, de forma paradigmática, a razão da sua existência e a forma como é posta em prática. Por vezes, estas duas formas de encarar a génese do envelhecimento, o porquê vs o mecanismo pelo qual actua, podem conduzir o pensamento por duas vias separadas, a evolucionista, sobre a primeira e a mecanicista, incidente na segunda. No entanto, a investigação científica não deve ser limitada, especialmente sobre este tema, visto que, actualmente, a sobreposição dos dois conceitos é quase total. O conhecimento acerca do envelhecimento deve ser construído de forma integrada e holística. Conclusões definitivas não devem ser retiradas levianamente, devendo sempre ser encaradas no seu contexto (laboratorial, etc) e integradas no conhecimento global.

Sobre a temática inerente à justificação do envelhecimento, os investigadores, através das alterações sofridas pelas teorias evolucionistas ao longo de tempo, mantêm um olhar dirigido para identificar um objectivo concreto da senescência, correlacionável com observações práticas, baseadas em análises comparativas e estudos de laboratório. A ausência de resposta definitiva não implica que o trabalho efectuado até à data tenha sido inconsequente. A evolução do pensamento permitiu espaço para novas abordagens e avanço no conhecimento.

O ponto de vista actual, acerca da justificação evolucionista do envelhecimento, centra-se mais na possível natureza “senemórfica” da senescência. Investigações adicionais relacionadas com esta temática devem prosseguir, de modo a permitir a descoberta de novas vias metabólicas dependentes do ambiente, para além das controladas pela alimentação, na tentativa de demonstrar claramente o seu papel universal no envelhecimento.

O maior ênfase tem sido dado à investigação dos processos bioquímicos, metabólicos e físicos, com potencial condicionamento do envelhecimento. Na seção “Presente” deste trabalho de revisão, explorei temas de relevância actual, acerca de mecanismos que controlam ou que participam nas alterações verificadas na senescência. Uma conclusão imediata a ser retirada, é que determinados conceitos que foram encarados como centrais na senescência orgânica, como por exemplo o stress oxidativo, foram sofrendo evolução. A forma de encarar o dano oxidativo resultante das ROS foi alterado, não lhe sendo atribuído o papel principal de outrora. De pertinência extrema, consiste o enquadramento de mecanismos específicos em teorias integrativas, como se verifica com o stress oxidativo, no contexto das teorias mitocondriais, ou estes dois conceitos na teoria oxidação-inflamação. Esta última oferece uma explicação integrada e potencialmente universal sobre o processo senescente, constituindo uma teoria a explorar no futuro. Adicionalmente, verifiquei um elevado grau de sobreposição de conceitos entre a teoria oxidação-inflamação e a teoria centrada no papel do óxido nítrico. Uma possível união entre os estudiosos destas duas vertentes da senescência, enquadrando simultaneamente o novo conhecimento acerca do balanço hormonal e as suas implicações no envelhecimento, constituiria uma nova forma de encarar este problema debatido há séculos, através de uma perspectiva menos fechada, mais integrada. A última teoria apresentada neste trabalho, de desenvolvimento mais recente, termina o artigo com uma revolucionária forma de encarar o processo de envelhecimento. Ao longo dos séculos de investigação acerca do tema, as propriedades eléctricas celulares nunca foram encaradas com potencial justificativo do processo senescente em curso. Como referido pelos investigadores, provavelmente essa ausência deveu-se às limitações tecnológicas de avaliar a electricidade celular. Com o progressivo avanço da ciência e da técnica essa avaliação é cada vez mais uma realidade, podendo esta hipótese constituir uma base para investigações aprofundadas.

O envelhecimento, a sua razão de existir e a forma como age, constituiu um conceito de meras suposições ao longo da História. A pergunta “Porque se envelhece?” enunciada na introdução deste artigo ainda permanece sem resposta. No entanto, não se assistiu em algum momento, maior aproximação racional à sua definição. A resposta plena, provavelmente não estará ao alcance das próximas gerações e existe sempre o risco de outros dados refutarem as hipóteses aqui expostas. Essas refutações por outro lado, encarando o ponto de vista otimista da investigação do envelhecimento, abrirão portas para maior conhecimento, sendo natural que, passo a passo, este segredo inerente da vida, fique mais compreensível, para o ser humano.

Bibliografia

1. Bowen RL, Atwood CS. Living and dying for sex: A theory of aging based on the modulation of cell cycle signaling by reproductive hormones. *Gerontology*. 2004;50(5):265-290. doi:10.1159/000079125.
2. PDFlib PLOP : PDF Linearization , Optimization , Protection Page inserted by evaluation version Aging : Phenomena and Theories.
3. Grossman S, Lange J. Theories of aging as basis for assessment. *Medsurg Nurs*. 2006;15(2):77-83.
4. Weinert BT, Timiras PS, Brian T, Timiras PS. Physiology of Aging Invited Review : Theories of aging. 2003:1706-1716.
5. Carlson JC, Riley JCM. A consideration of some notable aging theories. *Exp Gerontol*. 1998;33(1-2):127-134.
6. Viña J, Borrás C, Miquel J. Theories of ageing. *IUBMB Life*. 2007;59(4-5):249-254. doi:10.1080/15216540601178067.
7. Hughes K a, Alipaz J a, Drnevich JM, Reynolds RM. A test of evolutionary theories of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(22):14286-14291.
8. Hughes K a, Reynolds RM. Evolutionary and mechanistic theories of aging. *Annu Rev Entomol*. 2005;50:421-445. doi:10.1146/annurev.ento.50.071803.130409.
9. De la Fuente M, Miquel J. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr Pharm Des*. 2009;15(26):3003-3026.
10. Rattan SIS. Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free Radic Res*. 2006;40(12):1230-1238. doi:10.1080/10715760600911303.
11. Medvedev ZA, Iaa LNW. AN A T T E M P T A T A RATIONAL CLASSIFICATION OF THEORIES OF AGEING. 1990.

12. Goldsmith TC. Aging theories and the zero-sum game. *Rejuvenation Res.* 2014;17(1):1-2. doi:10.1089/rej.2014.1548.
13. Goldsmith TC. Arguments against non-programmed aging theories. *Biochem Biokhimiia.* 2013;78(9):971-978. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24228918>.
14. Rose MR. Modern biological theories of aging. *Am J Hum Genet.* 1988;43(2):220-221.
15. Ivanova DG, Yankova TM. The free radical theory of aging in search of a strategy for increasing life span. *Folia Med (Plovdiv).* 2013;55(1):33-41. doi:10.2478/folmed-2013-0003.
16. Gavrilov L a, Gavrilova NS. Evolutionary theories of aging and longevity. *ScientificWorldJournal.* 2002;2:339-356. doi:10.1100/tsw.2002.96.
17. Hamilton WD. The moulding of senescence by natural selection. *J Theor Biol.* 1966;12(1):12-45. doi:10.1016/0022-5193(66)90184-6.
18. Le Bourg E. Evolutionary theories of aging: handle with care. *Gerontology.* 1998;44(6):345-348.
19. Stearns SC, Ackermann M, Doebeli M, Kaiser M. Experimental evolution of aging, growth, and reproduction in fruitflies. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97(7):3309-3313. doi:10.1073/pnas.97.7.3309.
20. Ljubuncic P, Reznick AZ. The evolutionary theories of aging revisited--a mini-review. *Gerontology.* 2009;55(2):205-216. doi:10.1159/000200772.
21. Trindade LS, Aigaki T, Peixoto A a., Balduino A, da Cruz IBM, Heddle JG. A novel classification system for evolutionary aging theories. *Front Genet.* 2013;4(MAR):25. doi:10.3389/fgene.2013.00025.
22. Charlesworth B, Hughest KA. Age-specific inbreeding depression and components of genetic variance in relation to the evolution of senescence. 1996;93(June):6140-6145.

23. Partridge L, Gems D. Beyond the evolutionary theory of ageing, from functional genomics to evo-gero. *Trends Ecol Evol.* 2006;21(6):334-340.
doi:10.1016/j.tree.2006.02.008.
24. Kirkwood TB. Evolution of ageing. *Mech Ageing Dev.* 2002;123(7):737-745.
doi:10.1016/S0047-6374(01)00419-5.
25. Harman D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *J Gerontol.* 1956;11(3):298-300. doi:10.1093/geronj/11.3.298.
26. Linnane AW, Eastwood H. Cellular Redox Regulation and Prooxidant Signaling Systems: A New Perspective on the Free Radical Theory of Aging. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1067(1):47-55. doi:10.1196/annals.1354.008.
27. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci.* 2000;25(10):502-508. doi:10.1016/S0968-0004(00)01674-1.
28. Freitas A a., De Magalhães JP. A review and appraisal of the DNA damage theory of ageing. *Mutat Res - Rev Mutat Res.* 2011;728(1-2):12-22.
doi:10.1016/j.mrrev.2011.05.001.
29. Johnston APW, De Lisio M, Parise G. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008;33(1):191-199.
doi:10.1139/H07-141.
30. Cefalu C a. Theories and Mechanisms of Aging. *Clin Geriatr Med.* 2011;27(4):491-506. doi:10.1016/j.cger.2011.07.001.
31. Evolution Volume 46 issue 1 1992 [doi 10.2307%2F2409806] Linda Partridge and Kevin Fowler -- Direct and Correlated Responses to Selection on Age at Reproduction in *Drosophila melanogaster*.pdf.crdownload.

32. Spencer CC, Howell CE, Wright AR, Promislow DEL. Testing an “ aging gene ” in long-lived *Drosophila* strains : increased longevity depends on sex and genetic background. 2003;(January):123-130.
33. Moskovitz J, Bar-Noy S, Williams WM, Requena J, Berlett BS, Stadtman ER. Methionine sulfoxide reductase (MsrA) is a regulator of antioxidant defense and lifespan in mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(23):12920-12925. doi:10.1073/pnas.231472998.
34. Salmon AB, Richardson A, Pérez VI. NIH Public Access. 2011;48(5):1-32. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.015.Update.
35. Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med*. 2013;60:1-4. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011.
36. Bandy B, Davison AJ. Hypothesis Paper. 1990;8:523-539.
37. Hiona A, Leeuwenburgh C. The role of mitochondrial DNA mutations in aging and sarcopenia: implications for the mitochondrial vicious cycle theory of aging. *Exp Gerontol*. 2008;43(1):24-33. doi:10.1016/j.exger.2007.10.001.
38. Ojaimi J, Masters CL, Opeskin K, McKelvie P, Byrne E. Mitochondrial respiratory chain activity in the human brain as a function of age. *Mech Ageing Dev*. 1999;111(1):39-47. doi:10.1016/S0047-6374(99)00071-8.
39. Chabi B, Mousson de Camaret B, Chevrollier A, Boisgard S, Stepien G. Random mtDNA deletions and functional consequence in aged human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;332(2):542-549. doi:10.1016/j.bbrc.2005.04.153.
40. Wang Y, Michikawa Y, Mallidis C, et al. Muscle-specific mutations accumulate with aging in critical human mtDNA control sites for replication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(7):4022-4027. doi:10.1073/pnas.061013598.

41. Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. 2004;429(May):417-423.
doi:10.1038/nature02544.1.
42. Trifunovic A, Hansson A, Wredenberg A, et al. Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(50):17993-17998. doi:10.1073/pnas.0508886102.
43. Kujoth GC, Hiona a, Pugh TD, et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*. 2005;309(5733):481-484.
doi:10.1126/science.1112125.
44. Oh-ishi S, Kizaki T, Nagasawa J, et al. EFFECTS OF ENDURANCE TRAINING ON SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY, CONTENT AND mRNA EXPRESSION IN RAT MUSCLE. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997;24(5):326-332.
doi:10.1111/j.1440-1681.1997.tb01196.x.
45. Fabris N, Ctr I, Birarelli V. A NEUROENDOCRINE-IMMUNE THEORY OF. 1990;51:373-375.
46. No Title. 1997;32:431-440.
47. McCann SM, Mastronardi C, De Laurentiis a., Rettori V. The nitric oxide theory of aging revisited. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1057:64-84. doi:10.1196/annals.1356.004.
48. Hertoghe T. The “multiple hormone deficiency” theory of aging: Is human senescence caused mainly by multiple hormone deficiencies? *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1057:448-465. doi:10.1196/annals.1322.035.
49. Reiter RJ. THE PINEAL G L A N D AND M E L A T O N I N IN RELATION TO AGING : A S U M M A R Y OF THE THEORIES AND OF THE DATA. 1995;30:199-212.

50. Weindruch R, Walford RL. Book Review The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction. 1990;(July 1989):78284.
51. Le Bourg E, Words K, Beugnon G. Evolutionary Theories of Aging 2. *Gerontology*. 1999;45(6):339-342. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10559653>.
52. Cargill SL, Carey JR, Müller H, Anderson G. Age of ovary determines remaining life expectancy in old ovariectomized mice. 2003;(April):185-190.
53. Lescai F, Blanché H, Nebel A, et al. Human longevity and 11p15.5: a study in 1321 centenarians. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(11):1515-1519. doi:10.1038/ejhg.2009.54.
54. De Loof A, De Haes W, Boerjan B, Schoofs L. The Fading Electricity Theory of Ageing: The missing biophysical principle? *Ageing Res Rev*. 2013;12(1):58-66. doi:10.1016/j.arr.2012.08.001.
55. Sesti F, Liu S, Cai S-Q. Oxidation of potassium channels by ROS: a general mechanism of aging and neurodegeneration? *Trends Cell Biol*. 2010;20(1):45-51. doi:10.1016/j.tcb.2009.09.008.
56. Montgomery MK, Hulbert a J, Buttemer W a. Does the oxidative stress theory of aging explain longevity differences in birds? I. Mitochondrial ROS production. *Exp Gerontol*. 2012;47(3):203-210. doi:10.1016/j.exger.2011.11.006.