

ANDREA RODRIGUES VASCONCELOS

**INFLUÊNCIA DOS RECEPTORES TLR4 E TLR2
NOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS
INDUZIDOS PELA DIETA INTERMITENTE
EM CAMUNDONGOS NOCAUTE**

Dissertação apresentada ao departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Cristoforo Scavone

Co-Orientador: Profa. Dra. Elisa Mitiko Kawamoto

Versão Original

São Paulo
2016

RESUMO

Vasconcelos AR. Influência dos receptores TLR4 e TLR2 nos efeitos comportamentais e bioquímicos induzidos pela dieta intermitente em camundongos nocaute [Tese (Doutorado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2016.

Hormese é uma resposta adaptativa das células e do organismo a um estresse moderado, normalmente intermitente, que pode gerar muitos efeitos benéficos e protetores em diversas espécies. Exemplos incluem a exposição a baixas doses de certos fitoquímicos, como curcumina, isotocianatos e resveratrol, o exercício físico e a restrição de energia da dieta (RED). Esta última, quando não causa desnutrição, expõe os organismos a um estresse nutricional moderado que não apenas estimula as proteínas de estresse, mas também os mecanismos de defesa do organismo, tornando-o mais resistente a estímulos tóxicos ou potencialmente deletérios. Em linhas gerais, a RED parece atuar em vias associadas à resposta inflamatória, autofagia e sobrevivência celular, além de aumentar a resistência contra o estresse oxidativo, envolvendo com isso a modulação de fatores de transcrição como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), o fator 2 relacionado ao NF-E2 (NRF2) e o Forkhead box O (FOXO). No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares envolvidos, assim como o papel dos receptores tipo Toll- (TLR) 4 e TLR2 na modulação dos efeitos benéficos da RED. Este projeto teve como objetivo avaliar a influência do TLR4 e TLR2 nos efeitos induzidos pela dieta intermitente sobre a memória e nos mecanismos de sinalização associados aos fatores de transcrição NF- κ B, NRF2 e FOXO em camundongos nocaute para TLR2 ou TLR4. Os nossos resultados sugerem que os receptores TLR4 e TLR2 participam da modulação pela dieta intermitente dos níveis de estresse oxidativo, biomarcadores periféricos e dos fatores de transcrição NF- κ B, CREB, AP1, NRF2, além das proteínas moduladas por esses fatores de transcrição como o BDNF, HO1, enzimas antioxidantes, chaperonas e diversas citocinas inflamatórias. Os resultados desse estudo permitem um maior entendimento dos processos fisiológicos que visam o desenvolvimento de novas estratégias para intervenções farmacológicas objetivando a promoção da longevidade e o envelhecimento saudável, bem como para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos.

Palavras-chave: Dieta intermitente. TLR2. TLR4. Memória. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Vasconcelos AR. Influence of TLR4 and TLR2 in behavioral and biochemical effects induced by intermittent fasting in knockout mice [Ph.D Thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2016.

Hormesis is an adaptive response of cells and organisms to a moderate stress, usually intermittent, which may have many beneficial effects to the biological system. Examples include exposure to low doses of certain phytochemicals such as curcumin, resveratrol and isothiocyanates, exercise and intermittent fasting dietary restriction. The latter, when it does not cause malnutrition, induces a moderate nutritional stress to the organism, which not only stimulates the stress proteins, but also the body's defense mechanisms, making the cell or the organism more resistant to toxic stimuli. In general, intermittent fasting seems to act by mechanisms associated with cell survival, autophagy, inflammatory response and enhancing oxidative stress resistance, thereby involving the modulation of transcription factors such as nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B), NF-E2-related factor 2 (NRF2) and Forkhead box O (FOXO). However, little is known about the molecular mechanisms underlying these processes, as well as the involvement of Toll-like receptors (TLR) 4 and TLR2 on the beneficial effects induced by the intermittent fasting protocol. The present work investigated the effects of intermittent fasting on memory and on the signaling mechanisms associated with the transcription factors NF- κ B, NRF2 and FOXO in TLR2 KO or TLR4 KO mice. The results suggest that TLR4 and TLR2 participate in the modulatory effects of intermittent fasting on oxidative stress levels, peripheral biomarkers, and on the transcription factors NF- κ B, CREB, AP1 and NRF2, as well as proteins modulated by these transcription factors such as BDNF, HO1, antioxidant enzymes, chaperones and several inflammatory cytokines. These results allow a better understanding of the physiological processes that aim at developing new strategies for pharmacological interventions to promote longevity and healthy aging, as well as for the treatment of neurodegenerative disorders.

Keywords: Intermittent fasting. TLR2. TLR4. Memory. Oxidative stress.

1 INTRODUÇÃO

1.1 A restrição de energia da dieta

O termo hormese é definido como um fenômeno dose-resposta bifásico caracterizado por estimulação em baixas doses e inibição em altas doses (1, 2). A hormese é uma resposta de compensação adaptativa do organismo a um estímulo estressor ambiental moderado, que os torna mais resistentes frente a uma situação de estresse mais intenso (3). Entende-se por estímulo estressor não apenas a exposição a substâncias tóxicas, mas também qualquer outro estímulo com consequências potencialmente deletérias para o organismo, como, por exemplo, o aumento ou diminuição de temperatura, o exercício físico e a restrição de energia da dieta (RED) (1).

A RED sem desnutrição atrasa o surgimento de várias alterações fisiológicas que ocorrem durante o envelhecimento e promove um aumento da expectativa de vida em animais de várias espécies (4, 5) como roedores (6), peixes (7), drosófilas (8), vermes (9), leveduras (10) e primatas (11), podendo provavelmente ocorrer também em humanos, embora ainda não confirmado.

Além dos efeitos na longevidade, muitos estudos têm demonstrado diversos efeitos benéficos da RED sobre a saúde. Por exemplo, a RED pode atenuar ou prevenir a incidência de câncer de ocorrência espontânea (12), induzido quimicamente (13) ou por radiação (14). A RED também protege as células do cérebro (15) e do coração (16) em modelos de derrame cerebral e infarto do miocárdio. Além disso, a RED inibe o desenvolvimento de doenças autoimunes em várias linhagens de roedores (17) e atrasa o surgimento e progressão de dermatite alérgica espontânea (18) ou quimicamente induzida (19). Ainda, a RED aumentou a resistência a neurotoxinas em modelos experimentais de doença de Huntington, doença de Alzheimer (DA) e doença de Parkinson (DP) (20-22). Corroborando com estas evidências, dados epidemiológicos sugerem que as incidências de DA e DP são menores em países com menor consumo de comida por pessoa (por exemplo, Japão e China) em comparação com países onde esse consumo é maior (por exemplo, Estados Unidos e Canadá) (23) e que indivíduos com baixa ingestão calórica diária parecem ter um risco menor de desenvolver DA e DP (24, 25).

A RED em camundongos atenuou os déficits no aprendizado e memória relacionados à idade (26) e diminuiu os níveis de estresse oxidativo em vários órgãos incluindo o cérebro (27). Em humanos, a RED reduziu a inflamação e o estresse oxidativo em asmáticos (28).

Esses e outros efeitos benéficos e protetores da RED são provavelmente mediados por mecanismos horméticos (29).

Dois mecanismos gerais têm sido propostos para a RED e seus efeitos benéficos; um deles é a diminuição do estresse oxidativo e da produção de radicais livres (30) e a outra é a indução de uma resposta de estresse celular moderada que aumenta a capacidade das células de lidar com situações de estresse mais graves (31).

Além da associação entre a RED e o estresse oxidativo, estudos têm demonstrado outro possível mecanismo da RED, onde se observa uma inibição da resposta inflamatória e da inflamação relacionada à idade (32, 33). A RED modula a atividade e a expressão de várias citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1 β e IL-6 (32, 34-36). Estudos têm mostrado que o envelhecimento está associado a um aumento da inflamação cerebral (37, 38). Além disso, a inflamação sistêmica pode estar associada a doenças coronarianas, diabetes, esclerose múltipla, DA e DP (39). De fato, estudos recentes demonstram uma forte associação entre neurodegeneração e inflamação (revisão em (40)); por exemplo, tem sido observada a presença de processos inflamatórios (ativação de microglia e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias) no sistema nervoso central (SNC) de pacientes com DA (41). Dados tanto epidemiológicos quanto clínicos têm descrito a importância da terapia anti-inflamatória para retardar a progressão da doença, amenizando os sintomas graves da DA (42, 43). Em muitos indivíduos, uma dieta mal adaptada é a maior causa desta inflamação crônica (39, 44).

Várias alterações bioquímicas e moleculares têm sido observadas em animais mantidos em RED que são consistentes com mecanismos de hormese nos efeitos benéficos da restrição. Proteínas de choque térmico protetoras têm sido encontradas em concentrações elevadas em vários tecidos de animais submetidos a RED como, por exemplo, a proteína de choque térmico (HSP)-70 em células do fígado de ratos (45). Em outro estudo, a dieta intermitente aumentou as concentrações desta e de outra proteína de choque térmico, a proteína-78 regulada pela glicose, em sinapses de cérebros de ratos (46). Uma classe de moléculas citoprotetoras estimulada pela RED são as enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) (47). Além disso, cérebros de ratos mantidos em uma dieta de calorias reduzidas exibiram quantidades maiores de vitamina E e coenzima Q10 quando comparados com cérebros de animais com alimentação *ad libitum* (48). Quando roedores ou macacos foram mantidos em RED, concentrações de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) estavam aumentadas em várias regiões do encéfalo (49, 50).

Contudo, apesar de uma extensa literatura que demonstra efeitos benéficos da RED na saúde, a RED pode não induzir uma resposta benéfica adaptativa em todas as células. Por exemplo, a concentração de HSP-70 não aumentou em motoneurônios da medula espinhal em modelos de camundongos com esclerose lateral amiotrófica mantidos em RED (51). As células envolvidas na cicatrização de feridas não respondem adaptativamente à RED e, de fato, tem sido demonstrado que a RED pode prejudicar a cicatrização de feridas em roedores (52). Dependendo da magnitude da restrição de energia, a RED pode não ser benéfica ou pode até mesmo causar efeitos adversos em órgãos reprodutores, como infertilidade, irregularidades menstruais, perda de libido, hipertensão, depressão, irritabilidade, particularmente nas fêmeas de mamíferos em geral (53, 54). Assim, apesar dos efeitos benéficos da RED listados na literatura, um melhor entendimento dos seus efeitos e dos mecanismos moleculares é importante para que se possam desenvolver protocolos de RED adequados para a saúde humana.

Há poucos estudos sobre os efeitos da RED em humanos, mas informações disponíveis até o momento sugerem que a RED reduz o risco de desenvolver diabetes tipo 2 e aterosclerose, além de induzir muitas das respostas adaptativas que ocorrem em animais de laboratório em restrição (55, 56). Desta forma, um melhor entendimento dos mecanismos horméticos da RED poderá também trazer novos avanços no tratamento ou até mesmo na prevenção de patologias como as doenças neurodegenerativas.

1.2 A dieta intermitente

Os efeitos benéficos da RED foram relatados em vários protocolos experimentais diferentes. Em um dos protocolos de RED, a restrição calórica, é feita a restrição de 20% a 40% das calorias totais consumidas diariamente (12, 57). Uma forma comum de restrição calórica é limitar o consumo diário de alimento, ocorrendo então uma restrição total de nutrientes em longo prazo (58). Assim, a quantidade de comida fornecida ao animal é ajustada diariamente a 60-80% do consumo diário do grupo alimentado *ad libitum* (18).

Outro protocolo muito utilizado de RED é a dieta intermitente, na qual os animais alternam entre dias em que são alimentados *ad libitum* e dias de jejum, quando não têm acesso ao alimento (59). Nesse protocolo ocorre uma restrição na frequência de consumo alimentar, e não na quantidade total de alimento ingerido. A dieta intermitente promove efeitos benéficos semelhantes ao da restrição calórica; ambos os protocolos diminuem os riscos de doenças cardiovasculares, aumentam a expectativa de vida e diminuem a produção de radicais livres

geradores de estresse oxidativo, além de melhorarem a atividade dos mecanismos protetores (60, 61).

Sabe-se ainda que a dieta intermitente resulta em cetogênese, promove mudanças potentes em vias metabólicas e processos celulares relacionados à resistência ao estresse, lipólise e autofagia, e pode ser uma estratégia efetiva para a redução de peso, prevenir doenças relacionadas ao envelhecimento e otimizar a saúde (62, 63).

De maneira geral, pode-se dizer que a dieta intermitente promove diversos efeitos benéficos ao organismo, mesmo se o período de jejum for seguido por um período de acesso livre ao alimento de forma que o consumo calórico total não seja alterado. De qualquer modo, tanto o protocolo de restrição da quantidade (restrição calórica) quanto da frequência de alimentação (dieta intermitente) protegem contra várias doenças, provavelmente por mecanismos horméticos que aumentam a resistência celular contra estímulos estressores (29).

1.3 Os receptores do tipo Toll (TLR)

Os TLRs compreendem uma família de receptores de proteínas de superfície celular que são importantes mediadores da imunidade inata, respondendo a diversos produtos microbiais e ligantes endógenos induzidos por dano tecidual (64). Esses receptores são bastante homólogos à proteína Toll da drosófila (65, 66), onde inicialmente foram descobertos dando origem a seu nome, e à família do receptor de IL-1 em humanos (67).

Os TLRs estão presentes em diversas células do sistema imune de mamíferos, e ainda no SNC, onde, até recentemente, se acreditava que sua expressão se limitava somente a microglia (68), astrócitos (69) e oligodendrócitos (70). Entretanto, hoje já se sabe que neurônios, assim como células tronco neuronais, também expressam TLRs (71).

Atualmente são conhecidos 11 tipos de TLRs em humanos e 13 tipos em camundongos, todos eles apresentando pequenas diferenças nas cadeias de aminoácidos que compõe as proteínas que os formam (72). Devido a essas diferenças, cada TLR é capaz de reconhecer classes diferentes de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs) presentes em diversos microorganismos patogênicos; por exemplo, o TLR4 reconhece predominantemente o lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas enquanto que o TLR2 não é necessário para a resposta ao LPS, mas se dimeriza com TLR1 ou TLR6 para reconhecer lipopeptídeos de bactérias gram-negativas (73). Quando ativados, os TLRs iniciam cascatas de sinalização que envolvem a ativação de fatores de transcrição como o fator nuclear

(NF)- κ B ou AP1, por exemplo; ambos ativam genes de citocinas inflamatórias, além de genes associados a processos de proliferação celular e apoptose (74).

Além dos PAMPs que ativam diferentes TLRs, já foram também identificados ligantes endógenos de padrão molecular associado a dano celular (DAMP), e outros produtos da inflamação tecidual. Vários ligantes endógenos já foram escritos, como o ácido hialurônico de baixo peso molecular, fibrinogênio, β -defensinas e proteínas de choque térmico (75, 76). É importante ressaltar que as sinalizações resultantes da ativação de TLRs por PAMPs e DAMPs parecem ser diferentes, o que pode ser devido à necessidade de diferenciar entre a ativação de TLR induzida por patógenos que requer uma intervenção imune e a ativação de TLRs por dano tecidual que requer um balanço entre a intervenção imune e o reparo do dano tecidual (77-79).

Os TLRs são classicamente estudados em relação à imunidade; porém, o campo mais promissor na linha de pesquisa que envolve os TLRs atualmente é sua ativação endógena, já que se notou que os TLRs não só evocam respostas imunes relacionadas ao patógeno, mas também levam a papéis fisiológicos e patológicos não relacionados à inflamação. Por exemplo, evidências recentes têm relacionado os TLRs com a plasticidade no SNC, como explorado adiante (80, 81).

Muitos TLRs estão envolvidos na modulação da neurogênese de mamíferos adultos. Camundongos deficientes em TLR2 apresentaram neurogênese hipocampal significativamente reduzida (80). Ao contrário, camundongos deficientes em TLR4 exibiram neurogênese aumentada, apesar de as células formadas morrerem e não conseguirem formar neurônios maduros. Por outro lado, esses camundongos exibiram um nível basal maior de neurônios e menor de glia no hipocampo, o que pode indicar que durante a neurogênese as células tronco neurais diferenciam-se mais em neurônios (80).

Os efeitos modulatórios dos TLRs sobre a neurogênese sugerem uma possível modulação dos TLRs sobre processos cognitivos (81). De fato, recentemente foi mostrado que o TLR3 exerce uma modulação na performance cognitiva de camundongos dependente e independente do hipocampo (81). A extinção da memória espacial em camundongos deficientes em TLR3 ocorre mais lentamente do que nos camundongos selvagens e a deficiência de TLR3 também exerceu uma melhora no desempenho dos animais envolvendo a memória de medo contextual. Além disso, a deficiência em TLR3 melhorou, enquanto que a ativação de TLR3 pela infusão intracerebroventricular de PolyI:C, um ligante do TLR3, piorou o desempenho dos camundongos envolvendo a memória de trabalho. Além disso, recentemente foi mostrado que o TLR4 contribui para o impacto negativo da diabetes sobre a

função cognitiva (82). Atualmente pouco se sabe sobre papéis modulatórios dos receptores TLR4 e TLR2 sobre a cognição, mas é provável que ocorra já que há evidências anteriormente relatadas de suas influências sobre a proliferação e diferenciação de células tronco neurais.

Além do envolvimento com a neuroplasticidade, estudos recentes sugerem que o TLR4 exerce uma função importante no desenvolvimento de distúrbios metabólicos como a obesidade e resistência à insulina (83-86). Foi demonstrado que ácidos graxos saturados podem estimular diretamente a sinalização inflamatória dependente do TLR4, atuando como ligantes desse receptor (83, 87-90). Corroborando com essas evidências, camundongos deficientes em TLR4 não desenvolvem resistência à insulina associada à obesidade (83-85) e pessoas obesas com diabetes tipo 2 apresentam níveis de expressão gênica e proteica de TLR4 significativamente elevados no músculo, o que se correlaciona com a severidade da resistência à insulina nesses indivíduos (91). Outro estudo demonstrou que a alimentação rica em gordura aumenta a proporção de bactérias gram-negativas que contém LPS na microbiota intestinal, além de aumentar os níveis plasmáticos de LPS em camundongos. Esse estado é definido como endotoxemia metabólica e resulta em um aumento do tônus inflamatório mediado pela ativação do TLR4, em ganho de peso e em diabetes (92-94).

Do mesmo modo que ocorre com diversos outros tecidos, o SNC, especialmente o hipotálamo, também é susceptível a excesso de nutrientes da dieta. Foi mostrado que uma dieta rica em gordura é capaz de gerar um estado pró-inflamatório local no hipotálamo de ratos (95), e vários estudos indicam o TLR4 como um regulador chave da resistência à insulina e no SNC (96-98).

A despeito dos vários estudos correlacionando o TLR4 com os efeitos negativos do excesso de ingestão de alimentos, pouco se sabe sobre a influência desse receptor sobre os efeitos da RED. O que se sabe é que a RED, ao contrário do alto consumo calórico, diminui a resistência à insulina e seus níveis plasmáticos em roedores, macacos e humanos (99-101). Como a resistência à insulina envolve a participação do TLR4, sua diminuição determinada pela RED também deve envolver a participação desse receptor. Além disso, recentemente um estudo mostrou que pacientes obesos com diabetes tipo 2 tiveram uma redução da expressão de RNA mensageiro de TLR2 e TLR4 em monócitos periféricos após 2 semanas de restrição calórica (102).

Os TLRs também vêm sendo correlacionados com o estresse oxidativo; por exemplo, vários estudos *in vivo* demonstraram a importância da sinalização do TLR4 na mediação de danos por estresse oxidativo em situações de isquemia/reperfusão e choque hemorrágico

(revisão em (103)). Durante situações de estresse oxidativo, ocorre a liberação de DAMPs, que podem acionar cascatas inflamatórias tanto pela ativação de TLRs quanto por serem liberados como consequência da sinalização dos TLRs amplificando ainda mais a inflamação, já que a ativação de TLRs nessas situações induz à produção de mais espécies reativas de oxigênio (EROs) (103).

PAMPs originados de patógenos e DAMPs de origem endógena são igualmente efetivos na ativação do sistema imune via TLRs, e estresse de origem tanto oxidativa quanto infecciosa compartilham a mesma sinalização via TLRs (104-106). Desta forma, a mobilização de DAMPs para ativar a sinalização do TLR4 deve representar uma ligação entre estresse oxidativo e inflamação. O entendimento das vias que envolvem a sinalização inflamatória no estresse oxidativo é essencial para o desenvolvimento de estratégias que limitem as suas consequências deletérias. Por fim, dados obtidos durante o meu mestrado mostraram que a dieta intermitente reduz significativamente os níveis de RNA mensageiro de TLR4 em hipocampo de ratos (36).

1.4 O fator nuclear- κ B (NF- κ B)

Os maiores mecanismos de sinalização ativados pelo TLR2 e TLR4 incluem as cascatas que levam à ativação do NF- κ B, um fator de transcrição que é um heterodímero constituído de combinações de diferentes subunidades. O NF- κ B é encontrado em uma variedade de tipos celulares, incluindo neurônios e microglia (107), e pode ser ativado por diversos estímulos, como o LPS, EROs e citocinas tais como TNF e IL-1 β (108, 109).

Nas células não estimuladas, os dímeros de NF- κ B são mantidos em um estado inativo no citoplasma pela associação a proteínas da família dos inibidores de NF- κ B (I κ B) (110). A ativação do NF- κ B é controlada pelo complexo da I κ B quinase (IKK) que consiste em duas subunidades catalíticas (IKK α e IKK β) (111-114) e a subunidade regulatória NEMO (modulador essencial do NF- κ B, também conhecida como IKK γ) (115, 116). Após a estimulação celular, o complexo IKK fosforila duas serinas N-terminal específicas das proteínas I κ B resultando em sua poliubiquitinação e degradação pelo proteossoma 26S, permitindo que o NF- κ B migre para o núcleo e module a transcrição de genes alvos (117).

Experimentos envolvendo plasticidade e potenciação de longa duração sugerem a participação do NF- κ B na atividade sináptica e na plasticidade neuronal (109, 118, 119). Além disso, tem sido demonstrado em culturas de neurônios do hipocampo e do cerebelo de camundongos que níveis basais da atividade sináptica ativam o NF- κ B (120, 121). Foi

relatado também que o aumento da atividade do NF- κ B aumenta a resistência ao estresse oxidativo em células neuronais, evidenciando uma ação neuroprotetora para este fator de transcrição por suprimir o sinal de morte celular (122).

O NF- κ B também regula a expressão da neurotrofina BDNF; as neurotrofinas controlam sobrevivência, diferenciação e sinaptogênese, além de exercer importantes funções na plasticidade sináptica no SNC. As respostas fisiológicas das neurotrofinas são mediadas pela ativação de duas classes distintas de receptores transmembrana, os receptores da família da quinase relacionada a tropomiosina (Trk) e a p75^{NTR} (revisão em (123, 124)). Os efeitos do BDNF dependem de sua ligação ao receptor TrkB e subsequente ativação de tirosinas quinases presentes no citoplasma. Dessa forma, essa neurotrofina exerce uma importante função na proteção neuronal, podendo proteger os neurônios de danos oxidativos resultantes de vários tipos de injúrias (125).

Por outro lado, há estudos que relacionam a ativação do NF- κ B com processos neurodegenerativos, como lesões obtidas por estimulações dopaminérgicas, DP (126) e DA (127). Além disso, dados da literatura demonstram que a ativação da resposta imune periférica pela administração de LPS em roedores com consequente ativação do NF- κ B e aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias pode ocasionar dano cognitivo, ocasionando prejuízo no aprendizado e na memória (128-130), uma vez que os receptores de citocinas pró-inflamatórias estão bem concentrados em áreas associadas à aprendizagem e memória como o hipocampo (131, 132).

Ainda, há estudos que indicam uma função dual do NF- κ B no SNC. Foi mostrado que a ativação do NF- κ B em neurônios promove sua sobrevivência, enquanto a ativação em células gliais e imunes podem mediar processos patológicos inflamatórios (133).

O NF- κ B modula a transcrição de genes implicados em vários processos celulares, tais como óxido nítrico sintase induzida (*Nosi*), *Il-1 β* , *Tnf- α* , *I κ B α* , além de genes relacionados à neuroproteção, como o *Bdnf*. Uma vez que a regulação da expressão destes genes tem consequências notáveis para o funcionamento cerebral, o NF- κ B é também reconhecido como um importante modulador dos processos de desenvolvimento, de plasticidade, neurodegenerativos e inflamatórios (109, 122, 134, 135). Em linhas gerais, a RED parece atuar, dentre outras, em vias associadas à modulação de fatores de transcrição como o NF- κ B. No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares da RED envolvendo a via de sinalização TLR4 ou TLR2/NF- κ B.

1.5 O elemento de resposta ao AMPc (CREB)

O CREB é um fator de transcrição nuclear constitutivamente expresso que regula a transcrição de genes envolvidos no funcionamento e na sobrevivência neuronais (136-138). Este fator de transcrição, quando ativado, é fosforilado no sítio de serina 133 em resposta a múltiplas vias de sinalização (139, 140). Estudos em várias espécies mostraram que, para a formação da memória de longa duração, é essencial que ocorra a ativação do CREB e a indução da transcrição de genes dependentes de CREB, como *c-fos* e *Bdnf* (revisão em (141, 142)). São observadas deficiências na memória espacial de ratos após infusão intra-hipocampal de oligonucleotídeos *antisense* de CREB (143). Além disso, estudos mostraram alterações na fosforilação de CREB na região CA1 do hipocampo correlacionadas com o dano da memória espacial que ocorre durante o envelhecimento (144).

Apesar da importância da fosforilação do CREB ser bem documentada para a formação de memória de longa duração e da existência de estudos que correlacionam a RED com melhora cognitiva, pouco se sabe sobre os efeitos da dieta intermitente sobre a modulação do CREB além da participação dos receptores TLR2 e TLR4.

1.6 O fator 2 relacionado ao NF-E2 (NRF2)

O NRF2 é outro fator de transcrição investigado neste projeto. Ele exerce uma importante função na regulação das respostas de detoxificação celular, atuando tanto em situações de estresse oxidativo agudo quanto na regulação da atividade oxidativa basal. A exposição a estresse oxidativo leva a um aumento da atividade do NRF2 com consequente ativação de muitos genes protetores (145-148).

Alguns dos produtos gênicos regulados pelo NRF2 são enzimas de detoxificação de fase II, assim como uma grande quantidade de reguladores redox que inclui, entre outros, a hemeoxigenase 1 (HO1) (revisão em (149)). Esta enzima catalisa a conversão do grupo heme pró-inflamatório em ferro (Fe^{3+}) e nos componentes anti-inflamatórios monóxido de carbono (CO) e biliverdina (150-152), que é subsequentemente convertida em bilirrubina com propriedades antioxidantes (153, 154).

Pelo menos alguns dos efeitos benéficos da RED são devidos a um aumento da resistência contra estresse oxidativo e muito provavelmente devem envolver sinalizações como a do NRF2, que é conhecido por suas funções antioxidantes e preventivas do câncer, além de, assim como a RED, ser relacionado com aumento de expectativa de vida. Por

exemplo, o envelhecimento está associado com um declínio nos níveis de proteínas antioxidantes no organismo; a ativação farmacológica do NRF2 mostrou ser capaz de reverter esse declínio (155, 156). Apesar de em geral estudos indicarem que o NRF2 é um provável efetor de alguns dos efeitos benéficos da RED, mais estudos ainda são necessários para a elucidação dos possíveis mecanismos de ação e as vias de sinalização que envolvem a participação desse fator de transcrição.

Além do envolvimento com a RED, estudos recentes demonstraram um efeito modulatório do NRF2 sobre a resposta imune inata mediada pelo TLR4. Por exemplo, camundongos *Nrf2*^{-/-} são mais sensíveis à inflamação mediada por bactéria e LPS (157-159), um agonista do TLR4. Em um modelo de peritonite aguda e choque induzido por LPS, camundongos *Nrf2*^{-/-} apresentaram uma maior mortalidade quando comparados com camundongos *Nrf2*^{+/+}. Da mesma forma, o desafio com LPS induz uma hiperinflamação no pulmão de camundongos *Nrf2*^{-/-}. Análise de expressão gênica global por *microarray* revelou um aumento da expressão de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão e outros efetores da resposta imune inata no pulmão de camundongos *Nrf2*^{-/-} após desafio com LPS (157). Além disso, a estimulação com LPS resulta em um aumento da atividade da IKK e subsequente fosforilação de IκB e translocação nuclear do NF-κB em macrófagos *Nrf2*^{-/-}, além do aumento da produção de EROs induzido por LPS, quando comparados com macrófagos *Nrf2*^{+/+} (157, 160). Entretanto, os eventos de sinalização responsáveis pela amplificação da resposta imune inata desencadeada pelo TLR4 ou TLR2 em animais *Nrf2*^{-/-} são desconhecidos.

1.7 O forkhead box O (FOXO)

Os fatores de transcrição da família FOXO, que incluem FOXO1, FOXO3, FOXO4 e FOXO6, são reguladores transcricionais caracterizados pelo domínio de ligação ao DNA “forkhead Box” conservado (161). Essas proteínas modulam uma grande variedade de genes, todos ligados ao controle sobre o metabolismo energético em resposta a alterações ambientais como, por exemplo, a restrição ou disponibilidade de alimento. Além disso, assim como o NRF2, o FOXO também é ativado e regulado por estresse oxidativo, e um aumento dos EROs intracelulares induz a sua translocação para o núcleo, onde encontra-se transcricionalmente ativo (revisão em (162)).

A estimulação dos receptores de insulina após o consumo de alimentos leva à ativação da via PI3K/AKT, que atua inativando os fatores de transcrição FOXO por fosforilação. Dessa forma, durante a RED ocorre uma complexa interação entre a ativação e desativação

dos fatores FOXO, que pode resultar em efeitos potencialmente benéficos dependendo das condições celulares predominantes. Em situações de estresse, a família de FOXO de mamíferos promovem a sobrevivência celular através da regulação da apoptose, o controle dos pontos de checagem do ciclo celular e a resistência a estresse oxidativo (163, 164). A ativação de FOXO3 ou FOXO4 leva a um aumento do intervalo da fase G1 do ciclo celular e aumenta a apoptose, provavelmente como uma forma de eliminar as células afetadas por estresse oxidativo (165). Dessa forma, a modulação na via PI3K/AKT pode exercer uma grande influência sobre a sobrevivência celular e essa modulação pode ser crítica para a ocorrência dos efeitos benéficos da RED no organismo.

A RED desacopla a sinalização da insulina e FOXO através da redução dos níveis plasmáticos de insulina em ratos (166). Essa redução resulta em diminuição da fosforilação de AKT no fígado (167) e diminuição da expressão de PI3K no músculo (168). Além disso, ocorre um aumento compensatório da expressão de FOXO pela RED (167, 169-171). Portanto, quando a sinalização da insulina é reduzida, por exemplo durante a RED, ocorre o aumento tanto da translocação de FOXO para núcleo quanto da expressão de FOXO (167, 169-171).

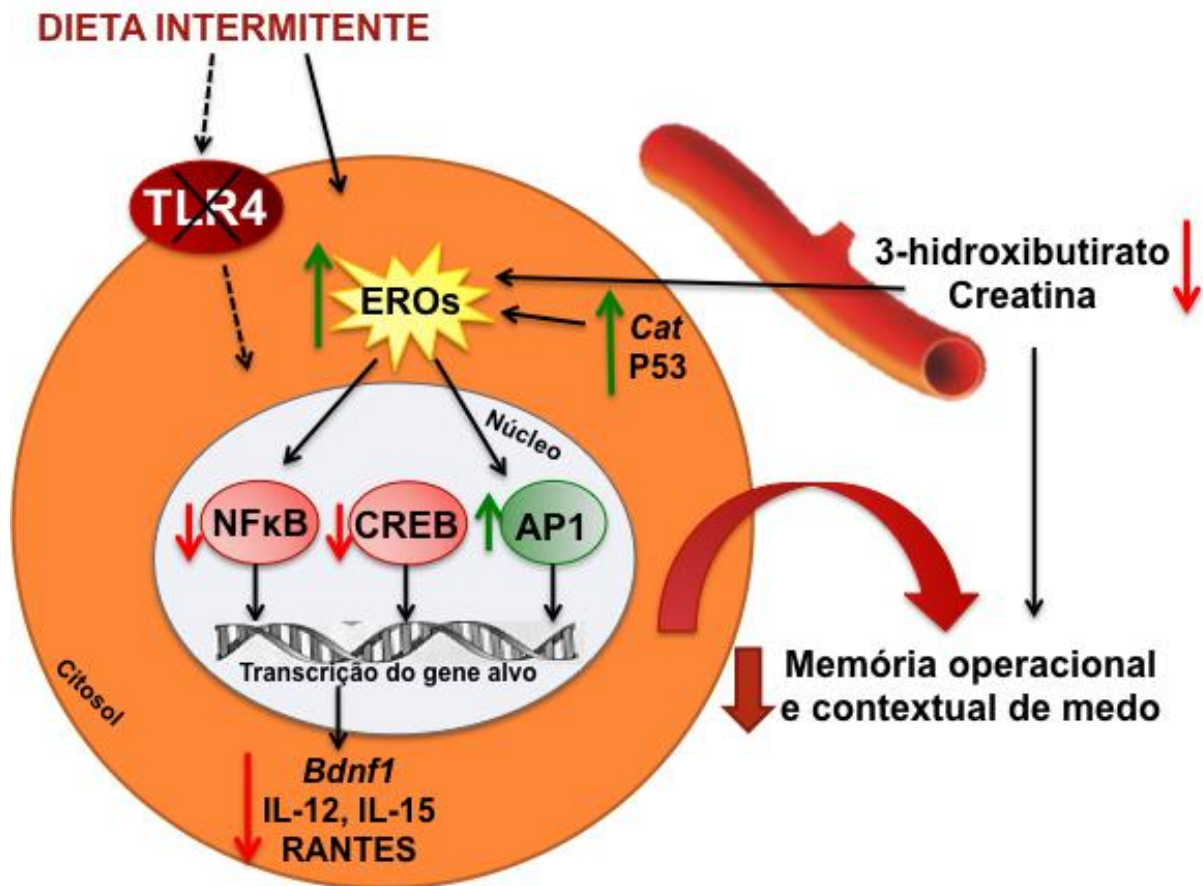
Em ratos, foi mostrado que a RED atenua a redução da atividade transcricional do FOXO1 no fígado que ocorre em resposta à sinalização da insulina ativada pela glicose circulante (172). Outro estudo mostrou que células tumorais humanas implantadas em camundongos que não respondiam ao efeito antineoplásico da RED possuíam mutações que causavam a ativação constitutiva da via PI3K/AKT e com isso uma menor ativação de FOXO1. A hiperexpressão de FOXO1 aumentou a resposta dessas células à RED e análises imunohistoquímicas também mostraram uma maior localização nuclear de FOXO1 após a RED. Esse estudo mostrou claramente a necessidade da via PI3K/AKT/FOXO1 funcionando corretamente para que ocorra os efeitos antineoplásicos da RED (173). Ainda, recentemente foi mostrado que a RED aumenta a expressão de genes relacionados com a proteção contra estímulos estressores, apoptose e reparo de DNA em resposta ao estresse oxidativo no fígado e hipocampo e que esses efeitos benéficos da RED foram diminuídos nesses tecidos em camundongos com expressão de FOXO1 reduzida (174)

Atualmente ainda há poucas evidências do papel do FOXO1 nos efeitos da RED no SNC e, apesar de um estudo recente que mostra um importante papel do FOXO na homeostase da imunidade inata (175), pouco se sabe sobre sua relação com os receptores TLR4. O que se sabe é que o FOXO traduz os estímulos ambientais, incluindo o estímulo

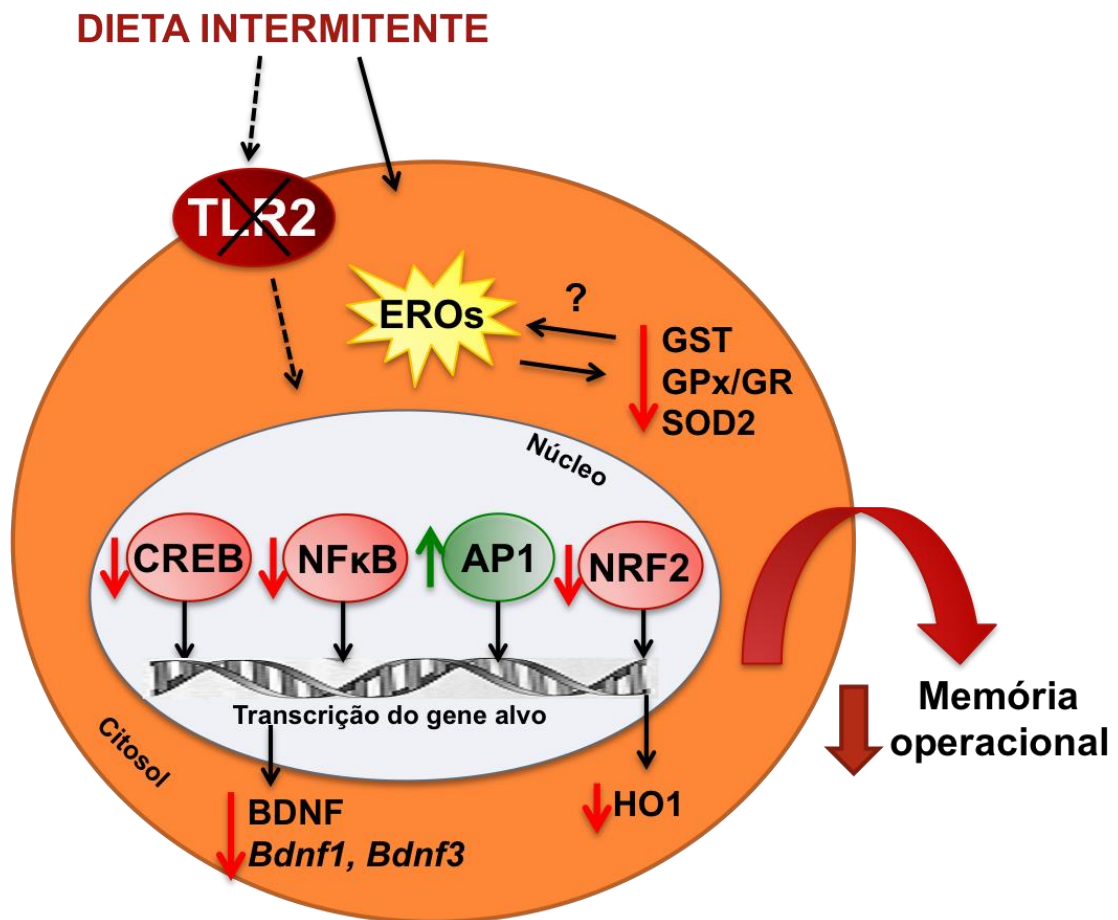
estressor induzido pela RED, em mudanças nos programas de expressão gênica que podem resultar em longevidade e envelhecimento saudável do organismo.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, os nossos resultados sugerem que os receptores TLR4 e TLR2 participam da modulação pela dieta intermitente dos fatores de transcrição NF- κ B, CREB, AP1, NRF2 e das proteínas moduladas por esses fatores de transcrição como o BDNF, HO1, enzimas antioxidantes, chaperonas e diversas citocinas inflamatórias. Estas alterações, principalmente o aumento dos níveis de estresse oxidativo, a redução de BDNF e a redução da atividade dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1 no hipocampo, estão possivelmente correlacionadas com o déficit de memória de referência, contextual e operacional apresentado nos animais *Tlr2*^{-/-} e/ou *Tlr4*^{-/-}. Os resultados estão resumidos nos Esquemas 3 e 4 e nos Anexos E e F. Devido à abrangência de sinalizações envolvidas nos resultados inéditos deste trabalho, mais estudos nessa área poderiam contribuir para a completa elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos.

***Tlr4*^{-/-} D vs. D**

Esquema 3. Representação dos resultados do grupo *Tlr4*^{-/-} submetido ao protocolo de dieta intermitente em relação ao grupo controle submetido à dieta intermitente, demonstrando o resultado da ausência de TLR4 na dieta. Os resultados sugerem que, na ausência do receptor TLR4, a dieta intermitente leva a um aumento dos níveis de estresse oxidativo (EROs), que pode contribuir para a redução observada na atividade dos fatores de transcrição NF-κB e CREB, e aumento da atividade de AP1 no SNC. Consequentemente, há uma redução da expressão dos genes alvo modulados por NF-κB e CREB, como *Bdnf1*, IL-12, IL-15 e RANTES. Há ainda um aumento dos níveis de *Cat* e P53, provavelmente em resposta aos elevados níveis de EROs. Periféricamente, foi observado uma redução dos níveis de 3-hidroxiacetil-CoA e creatina circulantes, que podem, juntamente com o aumento de EROs e a redução de *Bdnf1* e da atividade de NF-κB e CREB, contribuir para a redução da função cognitiva observada nos camundongos *Tlr4*^{-/-} submetido à dieta intermitente.

Tlr2^{-/-} D vs. D

Esquema 4. Representação dos resultados do grupo *Tlr2*^{-/-} submetido ao protocolo de dieta intermitente em relação ao grupo controle submetido à dieta intermitente, demonstrando o resultado da ausência de TLR2 na dieta. Os resultados sugerem que, na ausência do receptor TLR2, a dieta intermitente leva a uma redução na atividade dos fatores de transcrição NF-κB, CREB e NRF2 e aumento da atividade de AP1 no SNC. Consequentemente, há uma redução da expressão dos genes alvos modulados por NF-κB e CREB e NRF2, como BDNF e HO1. Há ainda uma redução dos níveis de GST e SOD2, e da razão GPx/GR. Contudo, na ausência de dados relativos aos níveis de estresse oxidativo impede uma melhor interpretação desses dados. A redução dos níveis de BDNF e da atividade de NF-κB e CREB podem contribuir para a redução da função cognitiva observada nos camundongos *Tlr2*^{-/-} submetido à dieta intermitente.

REFERÊNCIAS*

1. Calabrese EJ. Converging concepts: adaptive response, preconditioning, and the Yerkes-Dodson Law are manifestations of hormesis. *Ageing Res Rev.* 2008;7(1):8-20.
2. Calabrese EJ. Hormesis and medicine. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;66(5):594-617.
3. Calabrese EJ. Overcompensation stimulation: a mechanism for hormetic effects. *Crit Rev Toxicol.* 2001;31(4-5):425-70.
4. Weindruch R, Sohal RS. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Caloric intake and aging. *N Engl J Med.* 1997;337(14):986-94.
5. Frame LT, Hart RW, Leakey JE. Caloric restriction as a mechanism mediating resistance to environmental disease. *Environ Health Perspect.* 1998;106 (Suppl 1):313-24.
6. McCay CM, Crowell MF, Maynard LA. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition.* 1989;5(3):155-71; discussion 72.
7. Comfort A. Effect of Delayed and Resumed Growth on the Longevity of a Fish (*Lebistes Reticulatus*, Peters) in Captivity. *Gerontologia.* 1963;49:150-5.
8. Partridge L, Green A, Fowler K. Effects of egg-production and of exposure to males on female survival in *Drosophila melanogaster*. *J Insect Physiol.* 1987;33(10):745-9.
9. Klass MR. Aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*: major biological and environmental factors influencing life span. *Mech Ageing Dev.* 1977;6(6):413-29.
10. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science.* 2000;289(5487):2126-8.
11. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science.* 2009;325(5937):201-4.
12. Chen RF, Good RA, Engelman RW, Hamada N, Tanaka A, Nonoyama M, et al. Suppression of mouse mammary tumor proviral DNA and protooncogene expression: association with nutritional regulation of mammary tumor development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(7):2385-9.
13. Birt DF, Yaktine A, Duysen E. Glucocorticoid mediation of dietary energy restriction inhibition of mouse skin carcinogenesis. *J Nutr.* 1999;129(2S Suppl):571S-4S.
14. Yoshida K, Inoue T, Nojima K, Hirabayashi Y, Sado T. Calorie restriction reduces the incidence of myeloid leukemia induced by a single whole-body radiation in C3H/He mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(6):2615-9.
15. Yu ZF, Mattson MP. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration reduce focal ischemic brain damage and improve behavioral outcome: evidence for a preconditioning mechanism. *J Neurosci Res.* 1999;57(6):830-9.
16. Ahmet I, Wan R, Mattson MP, Lakatta EG, Talan M. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. *Circulation.* 2005;112(20):3115-21.

* De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted of Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

17. Kubo C, Gajar A, Johnson BC, Good RA. The effects of dietary restriction on immune function and development of autoimmune disease in BXSB mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(7):3145-9.
18. Fan W, Kouda K, Nakamura H, Takeuchi H. Effects of dietary restriction on spontaneous dermatitis in NC/Nga mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2001;226(11):1045-50.
19. Nakamura H, Kouda K, Tokunaga R, Takeuchi H. Suppressive effects on delayed type hypersensitivity by fasting and dietary restriction in ICR mice. *Toxicol Lett*. 2004;146(3):259-67.
20. Bruce-Keller AJ, Umberger G, McFall R, Mattson MP. Food restriction reduces brain damage and improves behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults. *Ann Neurol*. 1999;45(1):8-15.
21. Duan W, Mattson MP. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurosci Res*. 1999;57(2):195-206.
22. Halagappa VK, Guo Z, Pearson M, Matsuoka Y, Cutler RG, Laferla FM, et al. Intermittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2007;26(1):212-20.
23. Johnson JB, Summer W, Cutler RG, Martin B, Hyun DH, Dixit VD, et al. Alternate day calorie restriction improves clinical findings and reduces markers of oxidative stress and inflammation in overweight adults with moderate asthma. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(5):665-74.
24. Wachsman JT. The beneficial effects of dietary restriction: reduced oxidative damage and enhanced apoptosis. *Mutat Res*. 1996;350(1):25-34.
25. Yu BP, Chung HY. Stress resistance by caloric restriction for longevity. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;928:39-47.
26. Grant WB. Dietary links to Alzheimer's disease: 1999 update. *J Alzheimers Dis*. 1999;1(4-5):197-201.
27. Logroscino G, Marder K, Cote L, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Dietary lipids and antioxidants in Parkinson's disease: a population-based, case-control study. *Ann Neurol*. 1996;39(1):89-94.
28. Dubey A, Forster MJ, Lal H, Sohal RS. Effect of age and caloric intake on protein oxidation in different brain regions and on behavioral functions of the mouse. *Arch Biochem Biophys*. 1996;333(1):189-97.
29. Mattson MP. Dietary factors, hormesis and health. *Ageing Res Rev*. 2008;7(1):43-8.
30. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*. 1996;273(5271):59-63.
31. Lane MA, Baer DJ, Rumpler WV, Weindruch R, Ingram DK, Tilmont EM, et al. Calorie restriction lowers body temperature in rhesus monkeys, consistent with a postulated anti-aging mechanism in rodents. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(9):4159-64.
32. Chung HY, Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8(3-4):572-81.

33. Jolly CA, Muthukumar A, Avula CP, Troyer D, Fernandes G. Life span is prolonged in food-restricted autoimmune-prone (NZB x NZW)F(1) mice fed a diet enriched with (n-3) fatty acids. *J Nutr.* 2001;131(10):2753-60.
34. Chung HY, Kim HJ, Kim JW, Yu BP. The inflammation hypothesis of aging: molecular modulation by calorie restriction. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;928:327-35.
35. Kim HJ, Yu BP, Chung HY. Molecular exploration of age-related NF-kappaB/IKK downregulation by calorie restriction in rat kidney. *Free Radic Biol Med.* 2002;32(10):991-1005.
36. Vasconcelos AR, Yshii LM, Viel TA, Buck HS, Mattson MP, Scavone C, et al. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment. *J Neuroinflammation.* 2014;11:85.
37. Ye SM, Johnson RW. Increased interleukin-6 expression by microglia from brain of aged mice. *J Neuroimmunol.* 1999;93(1-2):139-48.
38. Richwine AF, Godbout JP, Berg BM, Chen J, Escobar J, Millard DK, et al. Improved psychomotor performance in aged mice fed diet high in antioxidants is associated with reduced ex vivo brain interleukin-6 production. *Brain Behav Immun.* 2005;19(6):512-20.
39. Fito M, Guxens M, Corella D, Saez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med.* 2007;167(11):1195-203.
40. DeLegge MH, Smoke A. Neurodegeneration and inflammation. *Nutr Clin Pract.* 2008;23(1):35-41.
41. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2000;21(3):383-421.
42. Rogers J, Cooper NR, Webster S, Schultz J, McGeer PL, Styren SD, et al. Complement activation by beta-amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(21):10016-20.
43. Aisen PS. Inflammation and Alzheimer's disease: mechanisms and therapeutic strategies. *Gerontology.* 1997;43(1-2):143-9.
44. Mitrou PN, Kipnis V, Thiebaut AC, Reedy J, Subar AF, Wirfalt E, et al. Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med.* 2007;167(22):2461-8.
45. Heydari AR, Wu B, Takahashi R, Strong R, Richardson A. Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol Cell Biol.* 1993;13(5):2909-18.
46. Guo Z, Ersoz A, Butterfield DA, Mattson MP. Beneficial effects of dietary restriction on cerebral cortical synaptic terminals: preservation of glucose and glutamate transport and mitochondrial function after exposure to amyloid beta-peptide, iron, and 3-nitropropionic acid. *J Neurochem.* 2000;75(1):314-20.
47. Mathers J, Fraser JA, McMahan M, Saunders RD, Hayes JD, McLellan LI. Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem Soc Symp.* 2004(71):157-76.
48. Hyun DH, Emerson SS, Jo DG, Mattson MP, de Cabo R. Calorie restriction up-regulates the plasma membrane redox system in brain cells and suppresses oxidative stress during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(52):19908-12.

49. Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem.* 2002;82(6):1367-75.
50. Maswood N, Young J, Tilmont E, Zhang Z, Gash DM, Gerhardt GA, et al. Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(52):18171-6.
51. Mattson MP, Cutler RG, Camandola S. Energy intake and amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromolecular Med.* 2007;9(1):17-20.
52. Reiser K, McGee C, Rucker R, McDonald R. Effects of aging and caloric restriction on extracellular matrix biosynthesis in a model of injury repair in rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995;50A(1):B40-7.
53. Martin B, Pearson M, Kebejian L, Golden E, Keselman A, Bender M, et al. Sex-dependent metabolic, neuroendocrine, and cognitive responses to dietary energy restriction and excess. *Endocrinology.* 2007;148(9):4318-33.
54. Dirks AJ, Leeuwenburgh C. Caloric restriction in humans: potential pitfalls and health concerns. *Mech Ageing Dev.* 2006;127(1):1-7.
55. Holloszy JO, Fontana L. Caloric restriction in humans. *Exp Gerontol.* 2007;42(8):709-12.
56. Redman LM, Martin CK, Williamson DA, Ravussin E. Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Physiol Behav.* 2008;94(5):643-8.
57. Johnson BC, Gajjar A, Kubo C, Good RA. Calories versus protein in onset of renal disease in NZB x NZW mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(15):5659-62.
58. Lueker CE, Meyer JH, Smith JD. Influence of food and energy restriction and subsequent recovery on body composition and food utilization of rats. *J Nutr.* 1956;60(1):121-8.
59. Goodrick CL, Ingram DK, Reynolds MA, Freeman JR, Cider N. Effects of intermittent feeding upon body weight and lifespan in inbred mice: interaction of genotype and age. *Mech Ageing Dev.* 1990;55(1):69-87.
60. Mattson MP, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *J Nutr Biochem.* 2005;16(3):129-37.
61. Masoro EJ. Dietary restriction-induced life extension: a broadly based biological phenomenon. *Biogerontology.* 2006;7(3):153-5.
62. Masoro EJ. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2005;126(9):913-22.
63. Longo VD, Mattson MP. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab.* 2014;19(2):181-92.
64. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA, Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature.* 1997;388(6640):394-7.
65. Anderson KV, Bokla L, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the Toll gene product. *Cell.* 1985;42(3):791-8.
66. Anderson KV, Jurgens G, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell.* 1985;42(3):779-89.

67. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*. 1988;52(2):269-79.
68. Olson JK, Miller SD. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *J Immunol*. 2004;173(6):3916-24.
69. Bowman CC, Rasley A, Tranguch SL, Marriott I. Cultured astrocytes express toll-like receptors for bacterial products. *Glia*. 2003;43(3):281-91.
70. Aravalli RN, Peterson PK, Lokensgard JR. Toll-like receptors in defense and damage of the central nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2007;2(4):297-312.
71. Tang SC, Arumugam TV, Xu X, Cheng A, Mughal MR, Jo DG, et al. Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(34):13798-803.
72. Gangloff M, Weber AN, Gibbard RJ, Gay NJ. Evolutionary relationships, but functional differences, between the *Drosophila* and human Toll-like receptor families. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(Pt 3):659-63.
73. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol*. 2007;19(1):24-32.
74. Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol Med*. 2007;13(11):460-9.
75. Pandey S, Agrawal DK. Immunobiology of Toll-like receptors: emerging trends. *Immunol Cell Biol*. 2006;84(4):333-41.
76. Lehnardt S, Schott E, Trimbuch T, Laubisch D, Krueger C, Wulczyn G, et al. A vicious cycle involving release of heat shock protein 60 from injured cells and activation of toll-like receptor 4 mediates neurodegeneration in the CNS. *J Neurosci*. 2008;28(10):2320-31.
77. Miyake K. Innate immune sensing of pathogens and danger signals by cell surface Toll-like receptors. *Semin Immunol*. 2007;19(1):3-10.
78. Liu Y, Chen GY, Zheng P. CD24-Siglec G/10 discriminates danger- from pathogen-associated molecular patterns. *Trends Immunol*. 2009;30(12):557-61.
79. Shimada M, Yanai Y, Okazaki T, Noma N, Kawashima I, Mori T, et al. Hyaluronan fragments generated by sperm-secreted hyaluronidase stimulate cytokine/chemokine production via the TLR2 and TLR4 pathway in cumulus cells of ovulated COCs, which may enhance fertilization. *Development*. 2008;135(11):2001-11.
80. Rolls A, Shechter R, London A, Ziv Y, Ronen A, Levy R, et al. Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nat Cell Biol*. 2007;9(9):1081-8.
81. Okun E, Griffioen K, Barak B, Roberts NJ, Castro K, Pita MA, et al. Toll-like receptor 3 inhibits memory retention and constrains adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(35):15625-30.
82. Kawamoto EM, Cutler RG, Rothman SM, Mattson MP, Camandola S. TLR4-dependent metabolic changes are associated with cognitive impairment in an animal model of type 1 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;443(2):731-7.
83. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(11):3015-25.

84. Poggi M, Bastelica D, Gual P, Iglesias MA, Gremeaux T, Knauf C, et al. C3H/HeJ mice carrying a toll-like receptor 4 mutation are protected against the development of insulin resistance in white adipose tissue in response to a high-fat diet. *Diabetologia*. 2007;50(6):1267-76.
85. Tsukumo DM, Carvalho-Filho MA, Carvalheira JB, Prada PO, Hirabara SM, Schenka AA, et al. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(8):1986-98.
86. Kim F, Pham M, Luttrell I, Bannerman DD, Tupper J, Thaler J, et al. Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity. *Circ Res*. 2007;100(11):1589-96.
87. Staiger H, Staiger K, Stefan N, Wahl HG, Machicao F, Kellerer M, et al. Palmitate-induced interleukin-6 expression in human coronary artery endothelial cells. *Diabetes*. 2004;53(12):3209-16.
88. Senn JJ. Toll-like receptor-2 is essential for the development of palmitate-induced insulin resistance in myotubes. *J Biol Chem*. 2006;281(37):26865-75.
89. Nguyen MT, Favelyukis S, Nguyen AK, Reichart D, Scott PA, Jenn A, et al. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem*. 2007;282(48):35279-92.
90. Schaeffler A, Gross P, Buettner R, Bollheimer C, Buechler C, Neumeier M, et al. Fatty acid-induced induction of Toll-like receptor-4/nuclear factor-kappaB pathway in adipocytes links nutritional signalling with innate immunity. *Immunology*. 2009;126(2):233-45.
91. Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, Meka CS, Eagan P, Jenkinson CP, et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. *Diabetes*. 2008;57(10):2595-602.
92. Cani PD, Delzenne NM. Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9(6):737-43.
93. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027-31.
94. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(7):1761-72.
95. De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*. 2005;146(10):4192-9.
96. Kleinridders A, Schenten D, Konner AC, Belgardt BF, Mauer J, Okamura T, et al. MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity. *Cell Metab*. 2009;10(4):249-59.
97. Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, et al. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296(5):E1003-12.
98. Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci*. 2009;29(2):359-70.

99. Grassi G, Seravalle G, Colombo M, Bolla G, Cattaneo BM, Cavagnini F, et al. Body weight reduction, sympathetic nerve traffic, and arterial baroreflex in obese normotensive humans. *Circulation*. 1998;97(20):2037-42.
100. Lane MA, Ball SS, Ingram DK, Cutler RG, Engel J, Read V, et al. Diet restriction in rhesus monkeys lowers fasting and glucose-stimulated glucoregulatory end points. *Am J Physiol*. 1995;268(5 Pt 1):E941-8.
101. Anson RM, Guo Z, de Cabo R, Iyun T, Rios M, Hagepanos A, et al. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(10):6216-20.
102. Mraz M, Lacinova Z, Drapalova J, Haluzikova D, Horinek A, Matoulek M, et al. The effect of very-low-calorie diet on mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(4):E606-13.
103. Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radic Biol Med*. 2010;48(9):1121-32.
104. Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, Ghose S, Kirschning CJ, Issels RD, Wagner H. HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem*. 2002;277(17):15107-12.
105. Lee KM, Yeo M, Choue JS, Jin JH, Park SJ, Cheong JY, et al. Protective mechanism of epigallocatechin-3-gallate against *Helicobacter pylori*-induced gastric epithelial cytotoxicity via the blockage of TLR-4 signaling. *Helicobacter*. 2004;9(6):632-42.
106. Deva R, Shankaranarayanan P, Ciccoli R, Nigam S. *Candida albicans* induces selectively transcriptional activation of cyclooxygenase-2 in HeLa cells: pivotal roles of Toll-like receptors, p38 mitogen-activated protein kinase, and NF-kappa B. *J Immunol*. 2003;171(6):3047-55.
107. Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Neumann H, Wekerle H, Baeuerle PA. Constitutive NF-kappa B activity in neurons. *Mol Cell Biol*. 1994;14(6):3981-92.
108. Hoffmann A, Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. *Immunol Rev*. 2006;210:171-86.
109. Mattson MP, Meffert MK. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease. *Cell Death Differ*. 2006;13(5):852-60.
110. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:225-60.
111. Woronicz JD, Gao X, Cao Z, Rothe M, Goeddel DV. IkappaB kinase-beta: NF-kappaB activation and complex formation with IkappaB kinase-alpha and NIK. *Science*. 1997;278(5339):866-9.
112. Mercurio F, Zhu H, Murray BW, Shevchenko A, Bennett BL, Li J, et al. IKK-1 and IKK-2: cytokine-activated IkappaB kinases essential for NF-kappaB activation. *Science*. 1997;278(5339):860-6.
113. Zandi E, Rothwarf DM, Delhase M, Hayakawa M, Karin M. The IkappaB kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKKalpha and IKKbeta, necessary for IkappaB phosphorylation and NF-kappaB activation. *Cell*. 1997;91(2):243-52.

114. DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M. A cytokine-responsive IkappaB kinase that activates the transcription factor NF-kappaB. *Nature*. 1997;388(6642):548-54.
115. Yamaoka S, Courtois G, Bessia C, Whiteside ST, Weil R, Agou F, et al. Complementation cloning of NEMO, a component of the IkappaB kinase complex essential for NF-kappaB activation. *Cell*. 1998;93(7):1231-40.
116. Rothwarf DM, Zandi E, Natoli G, Karin M. IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex. *Nature*. 1998;395(6699):297-300.
117. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell*. 2002;109 (Suppl):S81-96.
118. Meberg PJ, Kinney WR, Valcourt EG, Routtenberg A. Gene expression of the transcription factor NF-kappa B in hippocampus: Regulation by synaptic activity. *Mol Brain Res*. 1996;38(2):179-90.
119. Mattson MP. NF-kappaB in the survival and plasticity of neurons. *Neurochem Res*. 2005;30(6-7):883-93.
120. Guerrini L, Blasi F, Denis-Donini S. Synaptic activation of NF-kappa B by glutamate in cerebellar granule neurons in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(20):9077-81.
121. Meffert MK, Chang JM, Wiltgen BJ, Fanselow MS, Baltimore D. NF-kappa B functions in synaptic signaling and behavior. *Nat Neurosci*. 2003;6(10):1072-8.
122. Mattson MP, Camandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J Clin Invest*. 2001;107(3):247-54.
123. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361(1473):1545-64.
124. Manadas BJ, Melo CV, Gomes JR, Duarte CB. Neurotrophin signaling and cell survival. In: Malva JO, Rego AC, Cunha RA, Oliveira CR, editors. *Interaction between neurons and glia in aging and disease*: Springer US; 2007. p. 137-72.
125. Zhang DD, Lo SC, Cross JV, Templeton DJ, Hannink M. Keap1 is a redox-regulated substrate adaptor protein for a Cul3-dependent ubiquitin ligase complex. *Mol Cell Biol*. 2004;24(24):10941-53.
126. Hunot S, Brugg B, Ricard D, Michel PP, Muriel MP, Ruberg M, et al. Nuclear translocation of NF-kappaB is increased in dopaminergic neurons of patients with parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(14):7531-6.
127. Kaltschmidt B, Uherek M, Volk B, Baeuerle PA, Kaltschmidt C. Transcription factor NF-kappaB is activated in primary neurons by amyloid beta peptides and in neurons surrounding early plaques from patients with Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(6):2642-7.
128. Chen J, Buchanan JB, Sparkman NL, Godbout JP, Freund GG, Johnson RW. Neuroinflammation and disruption in working memory in aged mice after acute stimulation of the peripheral innate immune system. *Brain Behav Immun*. 2008;22(3):301-11.
129. Shaw KN, Commins S, O'Mara SM. Lipopolysaccharide causes deficits in spatial learning in the watermaze but not in BDNF expression in the rat dentate gyrus. *Behav Brain Res*. 2001;124(1):47-54.

130. Sparkman NL, Buchanan JB, Heyen JR, Chen J, Beverly JL, Johnson RW. Interleukin-6 facilitates lipopolysaccharide-induced disruption in working memory and expression of other proinflammatory cytokines in hippocampal neuronal cell layers. *J Neurosci*. 2006;26(42):10709-16.
131. Takao T, Culp SG, Newton RC, De Souza EB. Type I interleukin-1 receptors in the mouse brain-endocrine-immune axis labelled with [125I]recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *J Neuroimmunol*. 1992;41(1):51-60.
132. Parnet P, Kelley KW, Bluthé RM, Dantzer R. Expression and regulation of interleukin-1 receptors in the brain. Role in cytokines-induced sickness behavior. *J Neuroimmunol*. 2002;125(1-2):5-14.
133. Camandola S, Mattson MP. NF-kappa B as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2007;11(2):123-32.
134. O'Neill LA, Kaltschmidt C. NF-kappa B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends Neurosci*. 1997;20(6):252-8.
135. Tang SC, Lathia JD, Selvaraj PK, Jo DG, Mughal MR, Cheng A, et al. Toll-like receptor-4 mediates neuronal apoptosis induced by amyloid beta-peptide and the membrane lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. *Exp Neurol*. 2008;213(1):114-21.
136. Benito E, Barco A. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends Neurosci*. 2010;33(5):230-40.
137. Sakamoto K, Karelina K, Obrietan K. CREB: a multifaceted regulator of neuronal plasticity and protection. *J Neurochem*. 2011;116(1):1-9.
138. Lonze BE, Ginty DD. Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system. *Neuron*. 2002;35(4):605-23.
139. Shaywitz AJ, Greenberg ME. CREB: a stimulus-induced transcription factor activated by a diverse array of extracellular signals. *Annu Rev Biochem*. 1999;68:821-61.
140. Pugazhenti S, Boras T, O'Connor D, Meintzer MK, Heidenreich KA, Reusch JE. Insulin-like growth factor I-mediated activation of the transcription factor cAMP response element-binding protein in PC12 cells. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase-mediated pathway. *J Biol Chem*. 1999;274(5):2829-37.
141. Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S. CREB and memory. *Annu Rev Neurosci*. 1998;21:127-48.
142. Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, Laroche S. MAPK, CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2003;358(1432):805-14.
143. Guzowski JF, McGaugh JL. Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(6):2693-8.
144. Porte Y, Buhot MC, Mons N. Alteration of CREB phosphorylation and spatial memory deficits in aged 129T2/Sv mice. *Neurobiol Aging*. 2008;29(10):1533-46.
145. Calkins MJ, Johnson DA, Townsend JA, Vargas MR, Dowell JA, Williamson TP, et al. The Nrf2/ARE pathway as a potential therapeutic target in neurodegenerative disease. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11(3):497-508.

146. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007;47:89-116.
147. Kobayashi M, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. *Adv Enzyme Regul.* 2006;46:113-40.
148. Sykiotis GP, Bohmann D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease. *Sci Signal.* 2010;3(112):re3.
149. Lee JM, Li J, Johnson DA, Stein TD, Kraft AD, Calkins MJ, et al. Nrf2, a multi-organ protector? *FASEB J.* 2005;19(9):1061-6.
150. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1968;61(2):748-55.
151. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev.* 2006;86(2):583-650.
152. Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1997;37:517-54.
153. Stocker R. Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal.* 2004;6(5):841-9.
154. Kapitulnik J, Maines MD. Pleiotropic functions of biliverdin reductase: cellular signaling and generation of cytoprotective and cytotoxic bilirubin. *Trends Pharmacol Sci.* 2009;30(3):129-37.
155. Shih PH, Yen GC. Differential expressions of antioxidant status in aging rats: the role of transcriptional factor Nrf2 and MAPK signaling pathway. *Biogerontology.* 2007;8(2):71-80.
156. Suh JH, Shenvi SV, Dixon BM, Liu H, Jaiswal AK, Liu RM, et al. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(10):3381-6.
157. Thimmulappa RK, Lee H, Rangasamy T, Reddy SP, Yamamoto M, Kensler TW, et al. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis. *J Clin Invest.* 2006;116(4):984-95.
158. Nagai N, Thimmulappa RK, Cano M, Fujihara M, Izumi-Nagai K, Kong X, et al. Nrf2 is a critical modulator of the innate immune response in a model of uveitis. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(3):300-6.
159. Innamorato NG, Rojo AI, Garcia-Yague AJ, Yamamoto M, de Ceballos ML, Cuadrado A. The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation. *J Immunol.* 2008;181(1):680-9.
160. Thimmulappa RK, Scollick C, Traore K, Yates M, Trush MA, Liby KT, et al. Nrf2-dependent protection from LPS induced inflammatory response and mortality by CDDO-Imidazolide. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;351(4):883-9.
161. Kaestner KH, Knochel W, Martinez DE. Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors. *Genes Dev.* 2000;14(2):142-6.
162. Storz P. Forkhead homeobox type O transcription factors in the responses to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14(4):593-605.

163. Coffey P. OutFOXing the grim reaper: novel mechanisms regulating longevity by forkhead transcription factors. *Sci STKE*. 2003;2003(201):PE39.
164. Furukawa-Hibi Y, Yoshida-Araki K, Ohta T, Ikeda K, Motoyama N. FOXO forkhead transcription factors induce G(2)-M checkpoint in response to oxidative stress. *J Biol Chem*. 2002;277(30):26729-32.
165. van der Horst A, Tertoolen LG, de Vries-Smits LM, Frye RA, Medema RH, Burgering BM. FOXO4 is acetylated upon peroxide stress and deacetylated by the longevity protein hSir2(SIRT1). *J Biol Chem*. 2004;279(28):28873-9.
166. Sonntag WE, Lynch CD, Cefalu WT, Ingram RL, Bennett SA, Thornton PL, et al. Pleiotropic effects of growth hormone and insulin-like growth factor (IGF)-1 on biological aging: inferences from moderate caloric-restricted animals. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999;54(12):B521-38.
167. Al-Regaiey KA, Masternak MM, Bonkowski M, Sun L, Bartke A. Long-lived growth hormone receptor knockout mice: interaction of reduced insulin-like growth factor i/insulin signaling and caloric restriction. *Endocrinology*. 2005;146(2):851-60.
168. Argentino DP, Dominici FP, Munoz MC, Al-Regaiey K, Bartke A, Turyn D. Effects of long-term caloric restriction on glucose homeostasis and on the first steps of the insulin signaling system in skeletal muscle of normal and Ames dwarf (Prop1df/Prop1df) mice. *Exp Gerontol*. 2005;40(1-2):27-35.
169. Imae M, Fu Z, Yoshida A, Noguchi T, Kato H. Nutritional and hormonal factors control the gene expression of FoxOs, the mammalian homologues of DAF-16. *J Mol Endocrinol*. 2003;30(2):253-62.
170. Furuyama T, Kitayama K, Yamashita H, Mori N. Forkhead transcription factor FOXO1 (FKHR)-dependent induction of PDK4 gene expression in skeletal muscle during energy deprivation. *Biochem J*. 2003;375(Pt 2):365-71.
171. Tsuchiya T, Dhahbi JM, Cui X, Mote PL, Bartke A, Spindler SR. Additive regulation of hepatic gene expression by dwarfism and caloric restriction. *Physiol Genomics*. 2004;17(3):307-15.
172. Hayashi H, Yamaza H, Komatsu T, Park S, Chiba T, Higami Y, et al. Calorie restriction minimizes activation of insulin signaling in response to glucose: potential involvement of the growth hormone-insulin-like growth factor 1 axis. *Exp Gerontol*. 2008;43(9):827-32.
173. Kalaany NY, Sabatini DM. Tumours with PI3K activation are resistant to dietary restriction. *Nature*. 2009;458(7239):725-31.
174. Yamaza H, Komatsu T, Wakita S, Kijogi C, Park S, Hayashi H, et al. FoxO1 is involved in the antineoplastic effect of calorie restriction. *Aging Cell*. 2010;9(3):372-82.
175. Becker T, Loch G, Beyer M, Zinke I, Aschenbrenner AC, Carrera P, et al. FOXO-dependent regulation of innate immune homeostasis. *Nature*. 2010;463(7279):369-73.
176. Rong Y, Baudry M. Seizure activity results in a rapid induction of nuclear factor-kappa B in adult but not juvenile rat limbic structures. *J Neurochem*. 1996;67(2):662-8.
177. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-5.
178. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.

179. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(9):e36.
180. Andrikopoulos S, Blair AR, Deluca N, Fam BC, Proietto J. Evaluating the glucose tolerance test in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;295(6):E1323-32.
181. Kawamoto E, Scavone C, Mattson M, Camandola S. Curcumin requires tumor necrosis factor α signaling to alleviate cognitive impairment elicited by lipopolysaccharide. *Neurosignals.* 2013;21(1-2):75-88.
182. Texel SJ, Camandola S, Ladenheim B, Rothman SM, Mughal MR, Unger EL, et al. Ceruloplasmin deficiency results in an anxiety phenotype involving deficits in hippocampal iron, serotonin, and BDNF. *J Neurochem.* 2012;120(1):125-34.
183. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 1985;85(3):367-70.
184. Pillon NJ, Croze ML, Vella RE, Soulere L, Lagarde M, Soulage CO. The lipid peroxidation by-product 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) induces insulin resistance in skeletal muscle through both carbonyl and oxidative stress. *Endocrinology.* 2012;153(5):2099-111.
185. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev.* 2001;36(1):60-90.
186. Burwell RD, Saddoris MP, Bucci DJ, Wiig KA. Corticohippocampal contributions to spatial and contextual learning. *J Neurosci.* 2004;24(15):3826-36.
187. Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(3):179-90.
188. Helenius M, Hanninen M, Lehtinen SK, Salminen A. Aging-induced up-regulation of nuclear binding activities of oxidative stress responsive NF- κ B transcription factor in mouse cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol.* 1996;28(3):487-98.
189. Helenius M, Hanninen M, Lehtinen SK, Salminen A. Changes associated with aging and replicative senescence in the regulation of transcription factor nuclear factor- κ B. *Biochem J.* 1996;318 (Pt 2):603-8.
190. Murphy TL, Cleveland MG, Kulesza P, Magram J, Murphy KM. Regulation of interleukin 12 p40 expression through an NF- κ B half-site. *Mol Cell Biol.* 1995;15(10):5258-67.
191. Washizu J, Nishimura H, Nakamura N, Nimura Y, Yoshikai Y. The NF- κ B binding site is essential for transcriptional activation of the IL-15 gene. *Immunogenetics.* 1998;48(1):1-7.
192. Nelson PJ, Ortiz BD, Pattison JM, Krensky AM. Identification of a novel regulatory region critical for expression of the RANTES chemokine in activated T lymphocytes. *J Immunol.* 1996;157(3):1139-48.
193. Hunter CA, Chizzonite R, Remington JS. IL-1 beta is required for IL-12 to induce production of IFN-gamma by NK cells. A role for IL-1 beta in the T cell-independent mechanism of resistance against intracellular pathogens. *J Immunol.* 1995;155(9):4347-54.
194. Suschek C, Rothe H, Fehsel K, Enczmann J, Kolb-Bachofen V. Induction of a macrophage-like nitric oxide synthase in cultured rat aortic endothelial cells. IL-1 beta-mediated induction regulated by tumor necrosis factor-alpha and IFN-gamma. *J Immunol.* 1993;151(6):3283-91.

195. Herrmann F, Cannistra SA, Lindemann A, Blohm D, Rambaldi A, Mertelsmann RH, et al. Functional consequences of monocyte IL-2 receptor expression. Induction of IL-1 beta secretion by IFN gamma and IL-2. *J Immunol.* 1989;142(1):139-43.
196. Ernfors P, Wetmore C, Olson L, Persson H. Identification of cells in rat brain and peripheral tissues expressing mRNA for members of the nerve growth factor family. *Neuron.* 1990;5(4):511-26.
197. Hofer M, Pagliusi SR, Hohn A, Leibrock J, Barde YA. Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *EMBO J.* 1990;9(8):2459-64.
198. Phillips HS, Hains JM, Laramie GR, Rosenthal A, Winslow JW. Widespread expression of BDNF but not NT3 by target areas of basal forebrain cholinergic neurons. *Science.* 1990;250(4978):290-4.
199. Pruunsild P, Sepp M, Orav E, Koppel I, Timmusk T. Identification of cis-elements and transcription factors regulating neuronal activity-dependent transcription of human BDNF gene. *J Neurosci.* 2011;31(9):3295-308.
200. Karpova NN, Lindholm JS, Kuleshkaya N, Onishchenko N, Vahter M, Popova D, et al. TrkB overexpression in mice buffers against memory deficits and depression-like behavior but not all anxiety- and stress-related symptoms induced by developmental exposure to methylmercury. *Front Behav Neurosci.* 2014;8:315.
201. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(11):1631-52.
202. Lipsky RH, Xu K, Zhu D, Kelly C, Terhakopian A, Novelli A, et al. Nuclear factor kappaB is a critical determinant in N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neuroprotection. *J Neurochem.* 2001;78(2):254-64.
203. Kawamoto EM, Lepsch LB, Boaventura MF, Munhoz CD, Lima LS, Yshii LM, et al. Amyloid beta-peptide activates nuclear factor-kappaB through an N-methyl-D-aspartate signaling pathway in cultured cerebellar cells. *J Neurosci Res.* 2008;86(4):845-60.
204. Jiang X, Tian F, Mearow K, Okagaki P, Lipsky RH, Marini AM. The excitoprotective effect of N-methyl-D-aspartate receptors is mediated by a brain-derived neurotrophic factor autocrine loop in cultured hippocampal neurons. *J Neurochem.* 2005;94(3):713-22.
205. Lepsch LB, Munhoz CD, Kawamoto EM, Yshii LM, Lima LS, Curi-Boaventura MF, et al. Cocaine induces cell death and activates the transcription nuclear factor kappa-B in PC12 cells. *Mol Brain.* 2009;2:3.
206. Kaltschmidt B, Ndiaye D, Korte M, Pothion S, Arbibe L, Prullage M, et al. NF-kappaB regulates spatial memory formation and synaptic plasticity through protein kinase A/CREB signaling. *Mol Cell Biol.* 2006;26(8):2936-46.
207. Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron.* 1998;20(4):709-26.
208. O'Keefe J. Do hippocampal pyramidal cells signal non-spatial as well as spatial information? *Hippocampus.* 1999;9(4):352-64.
209. Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron.* 2002;35(4):625-41.

210. Chen R, Lim JH, Jono H, Gu XX, Kim YS, Basbaum CB, et al. Nontypeable *Haemophilus influenzae* lipoprotein P6 induces MUC5AC mucin transcription via TLR2-TAK1-dependent p38 MAPK-AP1 and IKK β -I κ B-NF- κ B signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;324(3):1087-94.
211. Doyle SL, O'Neill LA. Toll-like receptors: from the discovery of NF κ B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem Pharmacol.* 2006;72(9):1102-13.
212. Hoebe K, Jiang Z, Georgel P, Tabeta K, Janssen E, Du X, et al. TLR signaling pathways: opportunities for activation and blockade in pursuit of therapy. *Curr Pharm Des.* 2006;12(32):4123-34.
213. Krishnan J, Selvarajoo K, Tsuchiya M, Lee G, Choi S. Toll-like receptor signal transduction. *Exp Mol Med.* 2007;39(4):421-38.
214. Hess J, Angel P, Schorpp-Kistner M. AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 25):5965-73.
215. Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nat Cell Biol.* 2002;4(5):E131-6.
216. Wagner EF, Eferl R. Fos/AP-1 proteins in bone and the immune system. *Immunol Rev.* 2005;208:126-40.
217. Martin M, Schifferle RE, Cuesta N, Vogel SN, Katz J, Michalek SM. Role of the phosphatidylinositol 3 kinase-Akt pathway in the regulation of IL-10 and IL-12 by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *J Immunol.* 2003;171(2):717-25.
218. Mattson MP. Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. *Cell Metab.* 2012;16(6):706-22.
219. Zhang DD. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metab Rev.* 2006;38(4):769-89.
220. Li W, Kong AN. Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response. *Mol Carcinog.* 2009;48(2):91-104.
221. Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK. Nrf2:INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(9):1304-9.
222. Kobayashi A, Kang MI, Okawa H, Ohtsuji M, Zenke Y, Chiba T, et al. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. *Mol Cell Biol.* 2004;24(16):7130-9.
223. Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol Med.* 2004;10(11):549-57.
224. Pearson KJ, Lewis KN, Price NL, Chang JW, Perez E, Cascajo MV, et al. Nrf2 mediates cancer protection but not longevity induced by caloric restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(7):2325-30.
225. Gross L, Dreyfuss Y. Reduction in the incidence of radiation-induced tumors in rats after restriction of food intake. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81(23):7596-8.
226. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr.* 1986;116(4):641-54.

227. Poss KD, Tonegawa S. Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(20):10925-30.
228. Yachie A, Niida Y, Wada T, Igarashi N, Kaneda H, Toma T, et al. Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency. *J Clin Invest*. 1999;103(1):129-35.
229. Park C, Cho IH, Kim D, Jo EK, Choi SY, Oh SB, et al. Toll-like receptor 2 contributes to glial cell activation and heme oxygenase-1 expression in traumatic brain injury. *Neurosci Lett*. 2008;431(2):123-8.
230. Tran H, Brunet A, Grenier JM, Datta SR, Fornace AJ, Jr., DiStefano PS, et al. DNA repair pathway stimulated by the forkhead transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein. *Science*. 2002;296(5567):530-4.
231. Nakae J, Kitamura T, Silver DL, Accili D. The forkhead transcription factor Foxo1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression. *J Clin Invest*. 2001;108(9):1359-67.
232. Yeagley D, Guo S, Unterman T, Quinn PG. Gene- and activation-specific mechanisms for insulin inhibition of basal and glucocorticoid-induced insulin-like growth factor binding protein-1 and phosphoenolpyruvate carboxykinase transcription. Roles of forkhead and insulin response sequences. *J Biol Chem*. 2001;276(36):33705-10.
233. Kops GJ, Dansen TB, Polderman PE, Saarloos I, Wirtz KW, Coffey PJ, et al. Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. *Nature*. 2002;419(6904):316-21.
234. Furukawa-Hibi Y, Kobayashi Y, Chen C, Motoyama N. FOXO transcription factors in cell-cycle regulation and the response to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(5-6):752-60.
235. van der Horst A, Burgering BM. Stressing the role of FoxO proteins in lifespan and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(6):440-50.
236. Daitoku H, Yamagata K, Matsuzaki H, Hatta M, Fukamizu A. Regulation of PGC-1 promoter activity by protein kinase B and the forkhead transcription factor FKHR. *Diabetes*. 2003;52(3):642-9.
237. Barthel A, Schmoll D, Unterman TG. FoxO proteins in insulin action and metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16(4):183-9.
238. Levine B, Abrams J. p53: The Janus of autophagy? *Nat Cell Biol*. 2008;10(6):637-9.
239. Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011;146(5):682-95.
240. Inoki K, Kim J, Guan KL. AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2012;52:381-400.
241. Wilkinson JE, Burmeister L, Brooks SV, Chan CC, Friedline S, Harrison DE, et al. Rapamycin slows aging in mice. *Aging Cell*. 2012;11(4):675-82.
242. Boland B, Kumar A, Lee S, Platt FM, Wegiel J, Yu WH, et al. Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2008;28(27):6926-37.
243. Carloni S, Girelli S, Scopa C, Buonocore G, Longini M, Balduini W. Activation of autophagy and Akt/CREB signaling play an equivalent role in the neuroprotective effect of rapamycin in neonatal hypoxia-ischemia. *Autophagy*. 2010;6(3):366-77.

244. Spilman P, Podlutskaya N, Hart MJ, Debnath J, Gorostiza O, Bredesen D, et al. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2010;5(4):e9979.
245. Halloran J, Hussong SA, Burbank R, Podlutskaya N, Fischer KE, Sloane LB, et al. Chronic inhibition of mammalian target of rapamycin by rapamycin modulates cognitive and non-cognitive components of behavior throughout lifespan in mice. *Neuroscience*. 2012;223:102-13.
246. Chotechuan N, Azzout-Marniche D, Bos C, Chaumontet C, Gaudichon C, Tome D. Down-regulation of the ubiquitin-proteasome proteolysis system by amino acids and insulin involves the adenosine monophosphate-activated protein kinase and mammalian target of rapamycin pathways in rat hepatocytes. *Amino Acids*. 2011;41(2):457-68.
247. Mark RJ, Hensley K, Butterfield DA, Mattson MP. Amyloid beta-peptide impairs ion-motive ATPase activities: evidence for a role in loss of neuronal Ca²⁺ homeostasis and cell death. *J Neurosci*. 1995;15(9):6239-49.
248. Kruman I, Bruce-Keller AJ, Bredesen D, Waeg G, Mattson MP. Evidence that 4-hydroxynonenal mediates oxidative stress-induced neuronal apoptosis. *J Neurosci*. 1997;17(13):5089-100.
249. Peng ZF, Koh CH, Li QT, Manikandan J, Melendez AJ, Tang SY, et al. Deciphering the mechanism of HNE-induced apoptosis in cultured murine cortical neurons: transcriptional responses and cellular pathways. *Neuropharmacology*. 2007;53(5):687-98.
250. Jacobs WB, Kaplan DR, Miller FD. The p53 family in nervous system development and disease. *J Neurochem*. 2006;97(6):1571-84.
251. Mattson MP. Metal-catalyzed disruption of membrane protein and lipid signaling in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1012:37-50.
252. Arguelles S, Camandola S, Hutchison ER, Cutler RG, Ayala A, Mattson MP. Molecular control of the amount, subcellular location, and activity state of translation elongation factor 2 in neurons experiencing stress. *Free Radic Biol Med*. 2013;61:61-71.
253. Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell Mol Neurobiol*. 1998;18(6):667-82.
254. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radical in Biology and Medicine*. fourth ed. New York: Oxford University Press; 2007.
255. Stavridis JC. *Oxidation: The Cornerstone of Carcinogenesis: Oxidation and Tobacco Smoke Carcinogenesis. A Relationship Between Cause and Effect*: Springer; 2007.
256. Ito Y, Arakawa M, Ishige K, Fukuda H. Comparative study of survival signal withdrawal- and 4-hydroxynonenal-induced cell death in cerebellar granule cells. *Neurosci Res*. 1999;35(4):321-7.
257. Zhang L, Jope RS. Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. *Neurobiol Aging*. 1999;20(3):271-8.
258. Pugazhenth S, Nesterova A, Jambal P, Audesirk G, Kern M, Cabell L, et al. Oxidative stress-mediated down-regulation of bcl-2 promoter in hippocampal neurons. *J Neurochem*. 2003;84(5):982-96.
259. See V, Loeffler JP. Oxidative stress induces neuronal death by recruiting a protease and phosphatase-gated mechanism. *J Biol Chem*. 2001;276(37):35049-59.

260. Hamilton KL, Mbai FN, Gupta S, Knowlton AA. Estrogen, heat shock proteins, and NFkappaB in human vascular endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(9):1628-33.
261. Hamilton KL, Gupta S, Knowlton AA. Estrogen and regulation of heat shock protein expression in female cardiomyocytes: cross-talk with NF kappa B signaling. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36(4):577-84.
262. Ammirante M, Rosati A, Gentilella A, Festa M, Petrella A, Marzullo L, et al. The activity of hsp90 alpha promoter is regulated by NF-kappa B transcription factors. *Oncogene.* 2008;27(8):1175-8.
263. Morimoto RI, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol.* 1998;16(9):833-8.
264. Pratt WB, Morishima Y, Peng HM, Osawa Y. Proposal for a role of the Hsp90/Hsp70-based chaperone machinery in making triage decisions when proteins undergo oxidative and toxic damage. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010;235(3):278-89.
265. Bienemann AS, Lee YB, Howarth J, Uney JB. Hsp70 suppresses apoptosis in sympathetic neurones by preventing the activation of c-Jun. *J Neurochem.* 2008;104(1):271-8.
266. Chaudhury S, Welch TR, Blagg BS. Hsp90 as a target for drug development. *ChemMedChem.* 2006;1(12):1331-40.
267. Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(1):36-45.
268. Varady KA, Hellerstein MK. Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(1):7-13.
269. Cerqueira FM, da Cunha FM, Caldeira da Silva CC, Chausse B, Romano RL, Garcia CC, et al. Long-term intermittent feeding, but not caloric restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(7):1454-60.
270. Pedersen CR, Hagemann I, Bock T, Buschard K. Intermittent feeding and fasting reduces diabetes incidence in BB rats. *Autoimmunity.* 1999;30(4):243-50.
271. Mager DE, Wan R, Brown M, Cheng A, Wareski P, Abernethy DR, et al. Caloric restriction and intermittent fasting alter spectral measures of heart rate and blood pressure variability in rats. *FASEB J.* 2006;20(6):631-7.
272. van Ommen B, Keijer J, Heil SG, Kaput J. Challenging homeostasis to define biomarkers for nutrition related health. *Mol Nutr Food Res.* 2009;53(7):795-804.
273. Pellis L, van Erk MJ, van Ommen B, Bakker GC, Hendriks HF, Cnubben NH, et al. Plasma metabolomics and proteomics profiling after a postprandial challenge reveal subtle diet effects on human metabolic status. *Metabolomics.* 2012;8(2):347-59.
274. Velloso LA, Folli F, Saad MJ. TLR4 at the Crossroads of Nutrients, Gut Microbiota, and Metabolic Inflammation. *Endocr Rev.* 2015;36(3):245-71.
275. Krizova E, Simek V. Influence of intermittent fasting and high-fat diet on morphological changes of the digestive system and on changes of lipid metabolism in the laboratory mouse. *Physiol Res.* 1996;45(2):145-51.
276. Krizova E, Simek V. Effect of intermittent feeding with high-fat diet on changes of glycogen, protein and fat content in liver and skeletal muscle in the laboratory mouse. *Physiol Res.* 1996;45(5):379-83.

277. Heilbronn L, Smith SR, Ravussin E. Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28 Suppl 4:S12-21.
278. Liu TF, Vachharajani VT, Yoza BK, McCall CE. NAD⁺-dependent sirtuin 1 and 6 proteins coordinate a switch from glucose to fatty acid oxidation during the acute inflammatory response. *J Biol Chem*. 2012;287(31):25758-69.
279. O'Gorman E, Beutner G, Dolder M, Koretsky AP, Brdiczka D, Wallimann T. The role of creatine kinase in inhibition of mitochondrial permeability transition. *FEBS Lett*. 1997;414(2):253-7.
280. Xu CJ, Klunk WE, Kanfer JN, Xiong Q, Miller G, Pettegrew JW. Phosphocreatine-dependent glutamate uptake by synaptic vesicles. A comparison with atp-dependent glutamate uptake. *J Biol Chem*. 1996;271(23):13435-40.
281. Lawler JM, Barnes WS, Wu G, Song W, Demaree S. Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290(1):47-52.
282. Bender A, Beckers J, Schneider I, Holter SM, Haack T, Ruthsatz T, et al. Creatine improves health and survival of mice. *Neurobiol Aging*. 2008;29(9):1404-11.
283. Matthews RT, Ferrante RJ, Klivenyi P, Yang L, Klein AM, Mueller G, et al. Creatine and cyclocreatine attenuate MPTP neurotoxicity. *Exp Neurol*. 1999;157(1):142-9.
284. Andreassen OA, Dedeoglu A, Ferrante RJ, Jenkins BG, Ferrante KL, Thomas M, et al. Creatine increase survival and delays motor symptoms in a transgenic animal model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 2001;8(3):479-91.
285. Maalouf M, Rho JM, Mattson MP. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain Res Rev*. 2009;59(2):293-315.
286. Salles A, Romano A, Freudenthal R. Synaptic NF-kappa B pathway in neuronal plasticity and memory. *J Physiol Paris*. 2014;108(4-6):256-62.
287. Freudenthal R, Romano A, Routtenberg A. Transcription factor NF-kappaB activation after in vivo perforant path LTP in mouse hippocampus. *Hippocampus*. 2004;14(6):677-83.
288. Marosi K, Mattson MP. BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(2):89-98.
289. Urano S, Asai Y, Makabe S, Matsuo M, Izumiyama N, Ohtsubo K, et al. Oxidative injury of synapse and alteration of antioxidative defense systems in rats, and its prevention by vitamin E. *Eur J Biochem*. 1997;245(1):64-70.
290. Urano S, Sato Y, Otonari T, Makabe S, Suzuki S, Ogata M, et al. Aging and oxidative stress in neurodegeneration. *Biofactors*. 1998;7(1-2):103-12.
291. Gold PE. The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. *Behav Neural Biol*. 1986;46(1):87-98.
292. Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem*. 1997;68(3):285-316.
293. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. 2ª ed: Artmed; 2002.

294. Quevedo J, Martins MR, Izquierdo I. Alterações Cerebrais e Memória. In: Demência e Transtornos Cognitivos em Idosos, cap. 1. RJ: Guanabara Koogan; 2006.