

ANA CLÁUDIA MUNHOZ BONASSA

Efeitos de doze semanas de jejum intermitente em ratas Wistar recém-desmamadas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Angelo Rafael Carpinelli

Versão parcial

São Paulo
2018

RESUMO

BONASSA, A. C. M. **Efeitos de doze semanas de jejum intermitente em ratas Wistar recém-desmamadas**. 2018. 119 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A crescente incidência de disfunções metabólicas, como resistência à insulina e diabetes *mellitus* tipo 2 (T2DM), está correlacionada com a elevação da ocorrência de obesidade e sobrepeso. Em busca da melhora da saúde e de um corpo ideal segundo os padrões estéticos propagados atualmente, um número cada vez maior de indivíduos adere às dietas da moda que prometem rápida redução do peso corporal, ao invés de adotar uma alimentação balanceada e a prática regular de exercícios físicos. Uma dieta bastante divulgada e até recomendada por profissionais da saúde é o jejum intermitente (JI), que consiste em alternar períodos de jejum de até 24 horas com períodos de ingestão alimentar. Diversos estudos experimentais têm relatado alterações metabólicas em consequência do JI, como modificações da glicemia e da tolerância à glicose, porém, os resultados encontrados na literatura são conflitantes e, além disso, o impacto do jejum intermitente, em longo prazo, sobre as ilhotas pancreáticas ainda não foi devidamente elucidado. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os impactos de doze semanas de JI em ratas Wistar. Para tal, ratas Wistar com 30 dias de idade foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: controle, com livre acesso à ração balanceada; e jejum intermitente, submetido a 24 horas de jejum intercalado com 24 horas de livre acesso à ração balanceada. Foi observado que os animais submetidos ao JI, apresentaram menor ganho de peso corporal, redução do comprimento da tíbia e da distância naso-anal, e alteração da composição corporal, incluindo diminuição da massa muscular e aumento do tecido adiposo. Em média, o consumo de ração do grupo JI foi menor, porém, no dia que era disponibilizado alimento, os animais apresentaram hiperfagia o que resultou em grande aumento das dimensões do estômago. O jejum intermitente reduziu os valores plasmáticos do colesterol total, triglicérides, LDL, HDL e glicemia, e aumentou a concentração basal da insulina plasmática, bem como a secreção da insulina após o estímulo com glicose. Foi observada redução significativa da massa de ilhotas pancreáticas e aumento da porcentagem de células dispersas de ilhotas em apoptose. Ainda nas células dispersas de ilhotas pancreáticas, houve aumento do conteúdo de espécies reativas de oxigênio mitocondrial e total, e do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), além de aumento da expressão do sistema antioxidante. Assim, nossos dados sugerem que esse protocolo estudado de 24 horas de jejum intercalados com 24 horas de alimentação à vontade não seja saudável em longo prazo. Mais estudos em longo prazo são necessários para investigar qual seria o melhor protocolo de jejum intermitente de forma a reduzir os efeitos colaterais e melhorar a saúde, para então o JI ser considerado uma boa alternativa para perda e manutenção do peso.

Palavras-chave: Dieta. Jejum intermitente. Secreção de insulina. Ilhotas pancreáticas.

ABSTRACT

BONASSA, A. C. M. **Effects of twelve weeks of intermittent fasting on freshly weaned female Wistar rats.** 2018. 119 f. Thesis (Ph. D. thesis in Human physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The increasing incidence of metabolic dysfunctions, such as insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (T2DM), is correlated with increased occurrence of obesity and overweight. In pursuit of improved health and an ideal body according to today's aesthetic standards, an increasing number of individuals adhere to fad diets that promise a rapid reduction of body weight, instead of adopting a balanced diet and regular practice of physical exercises. A well-publicized diet and even recommended by health professionals is intermittent fasting (IF), which consists of alternating fasting periods of up to 24 hours with periods of food intake. Several experimental studies have reported metabolic changes as a consequence of IF, such as changes in glucose and glucose tolerance, but the results found in the literature are conflicting and, in addition, the impact of intermittent fasting in the long term on pancreatic islets has not yet been properly elucidated. Thus, the present study aimed to characterize the effects of twelve-week IF on Wistar rats. For this, 30-day-old Wistar rats were randomly assigned to two groups: control, with free access to balanced chow; and intermittent fasting, subjected to 24-hour fast intercalated with 24 hours of free access to the balanced chow. It was observed that the animals submitted to IF presented lower body weight gain, reduced tibia length and naso-anal distance, and altered body composition, including decreased muscle mass and increased adipose tissue. On average, the dietary intake of the IF group was lower, but on the day that food was available, the animals presented hyperphagia which resulted in a large increase in the stomach size. Intermittent fasting reduced plasma levels of total cholesterol, triglycerides, LDL, HDL, and glycaemia, and increased basal plasmatic insulin level, as well as insulin secretion after stimulation with glucose. We observed significant reduction in pancreatic islet mass and increase in percentage of islet-dispersed cells in apoptosis. Still in islet-dispersed cells, there was an increase in mitochondrial and total reactive oxygen species content, and of hydrogen peroxide (H₂O₂), in addition to an increase in expression of antioxidant system. Thus, our data suggest that this protocol of 24-hour fasting intercalated with 24-hour feed at will is not healthy in the long run. More long-term studies are needed to investigate the best intermittent fasting protocol in order to reduce side effects and improve health, so IF be considered a good alternative for weight loss and maintenance.

Keywords: Diet. Intermittent fasting. Insulin secretion. Pancreatic islet.

1 INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* é uma doença crônica não transmissível caracterizada pela alteração da capacidade do organismo de controlar a homeostase glicêmica levando à hiperglicemia, poliúria, polidipsia, glicosúria, polifagia, entre outras alterações (1). Apesar do diabetes englobar um grupo heterogêneo de desordens, ele é tradicionalmente subdividido em dois tipos: tipo 1, resultante da destruição autoimune das células secretoras de insulina levando à produção insuficiente ou mesmo inexistente do hormônio; e tipo 2, resultante da perda progressiva da secreção da insulina somada à incapacidade da mesma de exercer suas ações nos tecidos insulino-dependentes, alteração esta conhecida como resistência à insulina (2). Ambos os tipos resultam da interação de fatores genéticos e ambientais. Embora os fatores genéticos estabeleçam a predisposição, o estilo de vida é fator preponderante para explicar o grande aumento da incidência da doença (3).

1.1 Diabetes e obesidade

O diabetes *mellitus* do tipo 2 (*type 2 diabetes mellitus* - T2DM) é o subtipo com incidência predominante e representa cerca de 90% dos casos de diabetes (4). Em todo o mundo, o número de indivíduos com T2DM praticamente quadruplicou ao longo das últimas três décadas (5-7). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 422 milhões de pessoas sejam portadoras de T2DM e que este número deva duplicar nas próximas duas décadas, podendo tornar-se a sétima principal causa de morte em todo o mundo até 2030 (7-11). Se a crescente incidência atual se mantiver, em 2050, um em cada três adultos será diagnosticado com a doença (12). O Brasil, com cerca de 12 milhões de pacientes, é o quarto país do mundo em número de portadores de diabetes (13, 14).

O T2DM é uma das principais causas de cegueira, insuficiência renal, ataques cardíacos, derrame e amputação dos membros inferiores (7), representando um dos mais importantes problemas de saúde pública do planeta em virtude do alto custo que representa aos cofres públicos, bem como pela prevalência crescente e associação com outras morbidades (15-20). Só no Brasil, a estimativa anual indireta de gastos com a doença ultrapassa 18 bilhões de dólares anuais (21). A elevação dos casos de T2DM está relacionada com o aumento das taxas de sobrepeso e obesidade, decorrentes de alimentação inadequada geralmente associada ao estilo de vida sedentário (13, 22-27), sendo que mais de 75% dos pacientes diabéticos

apresentam sobrepeso ou obesidade (14) e a maioria não controla adequadamente a doença em grande parte por não alcançar as metas de peso apropriadas (14).

A base do tratamento dietético da obesidade é a adoção de uma dieta hipocalórica aliada à prática de exercícios físicos, que favoreça o déficit energético. Porém, estudos que analisaram as estratégias mais comuns de perda de peso da população em geral, costumam relatar que a maioria das pessoas não adota esta diretriz básica. Em vez disso, buscam perder peso por meio de dietas alternativas ou tendências dietéticas populares, as chamadas “dietas da moda” (28-36).

1.2 Dietas da moda

Como discutido por Feinman, o termo “dieta da moda” não é um termo científico e sua definição é controversa (37). Smith descreve as dietas da moda como dietas que ganham atenção popular rapidamente e desaparecem com a mesma rapidez, pelo fato de serem seguidas pela próxima tendência mais recente a ganhar espaço midiático (38). Neste trabalho, nós utilizamos a definição de dietas da moda como sendo planos alimentares não convencionais, momentaneamente populares e que costumam ser bastante restritivos ou com combinações incomuns de alimentos, ou mesmo modificações no período e frequência das refeições.

A maioria dessas dietas não possui um sólido embasamento científico, o que pode acarretar efeitos colaterais e assim não ser saudável e sustentável em longo prazo. (39-43). Além disso, apesar de essas dietas frequentemente levarem a resultados preliminares positivos em curto prazo, como perda de peso, em longo prazo, prevalece uma baixa aderência pelos praticantes, que acabam abandonando-as (41). Por fim, somado a isso, muitas delas induzem a perda de peso em virtude de resultarem em baixíssima ingestão calórica, mas os praticantes tendem a recuperar o peso perdido assim que retomam a dieta anterior, ocasionando o chamado “efeito sanfona”. (41).

O “efeito sanfona” já foi descrito em diversos estudos como sendo prejudicial, correlacionando-se com aumento da gordura corporal, excesso de peso, resistência à insulina, intolerância à glicose e T2DM (44-48), maior risco para doenças cardiovasculares (49), aumento da incapacidade de mobilidade, mortalidade na velhice (50) e, até mesmo, alguns tipos de câncer (51), ressaltando a importância da perda e manutenção definitiva do peso corporal.

1.3 Jejum intermitente

O jejum intermitente (JI) é uma dessas tendências dietéticas da moda, amplamente divulgada e com crescente adesão popular (41, 52-54), no qual se recomenda alternar períodos de jejum com períodos de ingestão alimentar. Existem muitos protocolos de jejum intermitente, porém os mais comuns são compostos de jejuns diários de até 16 horas ou períodos de até 24 horas intercalados com dias de alimentação normal. Os praticantes do jejum intermitente podem escolher jejuar no começo do dia, não se alimentando no café da manhã e almoço, prolongando dessa forma o jejum noturno; ou iniciar o jejum no fim do dia, concentrando a ingestão alimentar no período matutino (55, 56). É crescente o número de profissionais da saúde, educadores físicos e nutricionistas que estão recomendando esse tipo de dieta.

Quem defende o jejum intermitente frequentemente alega que o padrão alimentar mais comum da sociedade moderna, de três refeições diárias intercaladas com pequenos lanches, é antinatural do ponto de vista evolutivo. Segundo os defensores da dieta, os seres humanos, bem como seus ancestrais, estariam adaptados aos períodos de escassez alimentar aos quais foram submetidos ao longo dos tempos, sendo que a revolução agrícola e a criação de animais, que resultaram em um aumento da disponibilidade de alimentos, teriam surgido apenas recentemente na história do ser humano (57). Além disso, afirmam a ausência de efeitos adversos e prometem resultados rápidos e de forma saudável, convencendo desta forma um grande número de pessoas a aderirem à dieta (53, 55-57).

Somado a isso, leva-se em consideração o grande número de adeptos da prática do jejum por motivos religiosos. Abster-se de alimentos por um determinado período é frequente nas principais religiões mundiais, como o islamismo (58), cristianismo (59), budismo (60) e judaísmo (61). No islamismo, durante o mês do Ramadã, os praticantes realizam JI, abstendo-se de alimentos e bebidas, do nascer até o pôr do sol, e realizam duas grandes refeições durante a madrugada.

Diversos estudos mostraram efeitos benéficos resultantes do JI, tanto em modelo animal como em voluntários, como perda de peso corporal (62-64); melhora da sensibilidade à insulina e homeostase glicêmica (65-67); melhora da performance durante exercício (68); aumento do estado de alerta (69); aumento da expectativa de vida (70-72); redução da pressão sanguínea e frequência cardíaca (73-77); redução da inflamação e proteção contra neurodegeneração (74-76, 78-87).

Por outro lado, diversos estudos mostraram muitos resultados adversos provocados pela prática do JI. Tatulli e colaboradores mostraram que o JI não exerce efeitos neuroprotetivos,

pelo contrário, exacerba a morte neuronal em consequência do aumento das concentrações de lipídios pró-inflamatórios em camundongos (88). Em outro estudo, camundongos hipercolesterolêmicos submetidos ao JI aumentaram as reservas de tecido adiposo corporal e as concentrações plasmáticas de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein* - LDL), glicose e insulina, sugerindo o desenvolvimento de intolerância à glicose e resistência à insulina (89). Além disso, restrição alimentar intermitente por seis semanas em ratas aumentou as concentrações plasmáticas de triglicérides, tecido adiposo mesentérico e total, e induziu hiperglicemia e comportamento alimentar compulsivo, indicando risco aumentado para desenvolvimento de T2DM e recuperação do peso após interrupção do tratamento (90).

Estudos em humanos tem mostrado que indivíduos diabéticos praticantes de JI exibem hipoglicemia, cetoacidose, desidratação, hipotensão e trombose (67, 91). Em adolescentes, esse regime alimentar foi relatado como possível causador de distúrbios alimentares (92). Homens de meia idade tiveram elevação significativa da pressão sanguínea e do colesterol total após o JI (93). Aumento das concentrações plasmáticas de cortisol noturno também já foi reportado em vários estudos após o jejum do Ramadã, sugerindo ritmo circadiano alterado (94-101). Em atletas, o jejum conduziu a um aumento significativo da sensação de fadiga e diminuição do desempenho anaeróbico (102).

As investigações sobre o JI tendem a mostrar que esse tipo de dieta afeta negativamente a reprodução e o ciclo estral de fêmeas, alterando as concentrações plasmáticas de estradiol e hormônio luteinizante (103). Em mulheres não obesas, JI piorou a tolerância à glicose (104) e diminuiu o gasto energético basal (105). Munsters e colaboradores acompanharam as concentrações de insulina e glicose plasmáticas por apenas três dias de JI e observaram picos maiores e quedas mais abruptas das concentrações de insulina e glicose, sugerindo que em longo prazo este seria um ambiente biológico mais propício a resistência à insulina e T2DM (106).

Esses resultados aparentemente conflitantes podem ser consequência do alto número de modelos experimentais existentes e variáveis que podem interferir nos resultados, como duração do jejum e período do dia em que é praticado. Por isso, ainda não há consenso sobre os efeitos dessa dieta no organismo ou seus efeitos especificamente no pâncreas endócrino. É evidente que devemos sempre ter parcimônia ao extrapolar para humanos os resultados obtidos em modelo animal. Porém, o modelo animal é uma relevante ferramenta para estudar efeitos de

intervenções alimentares sob ambiente padronizado e controlado e, além disso, analisar os efeitos diretamente em órgãos como o pâncreas endócrino.

Sabe-se que vários parâmetros fisiológicos são alterados no pâncreas endócrino durante o jejum agudo, como produção de insulina e secreção de insulina estimulada pela glicose (*glucose-stimulated insulin secretion* - GSIS), metabolismo da ilhota pancreática e sensibilidade das células beta pancreáticas à glicose (107-113). Nosso grupo mostrou que o jejum agudo de 48 horas aumenta o conteúdo de espécies reativas de oxigênio (EROs) em ilhotas pancreáticas isoladas e prejudica a secreção de insulina (114). Porém, não há estudos sobre os efeitos do jejum de forma intermitente especificamente em ilhotas pancreáticas. Assim, no presente estudo buscamos avaliar as consequências de 12 semanas de JI principalmente na homeostase da glicose e em ilhotas pancreáticas isoladas de ratas recém desmamadas.

2 CONCLUSÃO

Dietas que alternam períodos de jejum com períodos de alimentação à vontade são capazes de diminuir o ganho de peso, entretanto podem causar alterações metabólicas indesejáveis, como alterações na composição corporal, com ganho de massa adiposa e perda de tecido muscular; alterações na homeostase glicêmica e hiperinsulinemia; desregulação dos mecanismos hormonais de controle do apetite, levando a fome exacerbada, hiperfagia e grande distensão estomacal; modificações na histologia pancreática e diminuição da área de tecido endócrino pancreático; aumento do estado oxidativo pancreático; e também modificações cronobiológicas.

Embora seja necessário ter cautela ao extrapolar para seres humanos os efeitos encontrados em animais, o estudo em modelo animal consiste em uma importante ferramenta para avaliar impactos de uma dieta de forma padronizada e com a menor interferência possível de artefatos. Além disso, estudos em animais nos permitem avaliar os impactos de tratamentos diretamente em órgãos específicos, como o pâncreas, pois estudos nesta área em humanos são obviamente esparsos ou inexistentes.

Assim, nossos resultados sugerem que esse protocolo estudado de 24 horas de jejum intercalados com 24 horas de alimentação à vontade não é saudável em longo prazo. Mais estudos em longo prazo, principalmente em humanos, são necessários para investigar qual seria o melhor protocolo de jejum intermitente de forma a reduzir os efeitos colaterais e melhorar a saúde, para então o JI ser considerado uma boa alternativa para perda e manutenção do peso.

REFERÊNCIAS*

1. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med.* 2011;50(5):567-75.
2. Association AD. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes:. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):S13-S27.
3. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *Lancet.* 2014;383(9922):1084-94.
4. Tao Z, Shi A, Zhao J. Epidemiological Perspectives of Diabetes. *Cell Biochem Biophys.* 2015;73(1):181-5.
5. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet.* 2011;378(9785):31-40.
6. (NCD-RisC) NRFC. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet.* 2016;387(10027):1513-30.
7. WHO. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2016.
8. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27(5):1047-53.
9. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3(11):e442.
10. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(4):228-36.
11. Shi Y, Hu FB. The global implications of diabetes and cancer. *Lancet.* 2014;383(9933):1947-8.
12. Polonsky KS. The past 200 years in diabetes. *N Engl J Med.* 2012;367(14):1332-40.
13. Flor LS, Campos MR. The prevalence of diabetes mellitus and its associated factors in the Brazilian adult population: evidence from a population-based survey. *Rev Bras Epidemiol.* 2017;20(1):16-29.
14. Coutinho WF, Silva Júnior WS. Diabetes Care in Brazil. *Ann Glob Health.* 2015;81(6):735-41.
15. Hex N, Bartlett C, Wright D, Taylor M, Varley D. Estimating the current and future costs of Type 1 and Type 2 diabetes in the UK, including direct health costs and indirect societal and productivity costs. *Diabet Med.* 2012;29(7):855-62.
16. da Rocha Fernandes J, Ogurtsova K, Linnenkamp U, Guariguata L, Seuring T, Zhang P, et al. IDF Diabetes Atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;117:48-54.
17. Zhang P, Zhang X, Brown J, Vistisen D, Sicree R, Shaw J, et al. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(3):293-301.
18. Giorda CB, Manicardi V, Diago Cabezudo J. The impact of diabetes mellitus on healthcare costs in Italy. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2011;11(6):709-19.
19. Ozieh MN, Bishu KG, Dismuke CE, Egede LE. Trends in health care expenditure in U.S. adults with diabetes: 2002-2011. *Diabetes Care.* 2015;38(10):1844-51.
20. Zhuo X, Zhang P, Barker L, Albright A, Thompson TJ, Gregg E. The lifetime cost of diabetes and its implications for diabetes prevention. *Diabetes Care.* 2014;37(9):2557-64.
21. Duncan BB, França EB, Passos VMA, Cousin E, Ishitani LH, Malta DC, et al. The burden of diabetes and hyperglycemia in Brazil and its states: findings from the Global Burden of Disease Study 2015. *Rev Bras Epidemiol.* 2017;20Suppl 01(Suppl 01):90-101.
22. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med.* 2001;345(11):790-7.
23. Hu FB, van Dam RM, Liu S. Diet and risk of Type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia.* 2001;44(7):805-17.

24. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782-7.
25. Gupta D, Krueger CB, Lastra G. Over-nutrition, obesity and insulin resistance in the development of β -cell dysfunction. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8(2):76-83.
26. Bertoldi AD, Kanavos P, França GV, Carraro A, Tejada CA, Hallal PC, et al. Epidemiology, management, complications and costs associated with type 2 diabetes in Brazil: a comprehensive literature review. *Global Health*. 2013;9:62.
27. Malta DC, Iser BP, Chueiri PS, Stopa SR, Szwarcwald CL, Schmidt MI, et al. Health care among adults with self-reported diabetes mellitus in Brazil, National Health Survey, 2013. *Rev Bras Epidemiol*. 2015;18 Suppl 2:17-32.
28. Serdula MK, Mokdad AH, Williamson DF, Galuska DA, Mendlein JM, Heath GW. Prevalence of attempting weight loss and strategies for controlling weight. *JAMA*. 1999;282(14):1353-8.
29. Andreyeva T, Long MW, Henderson KE, Grode GM. Trying to lose weight: diet strategies among Americans with overweight or obesity in 1996 and 2003. *J Am Diet Assoc*. 2010;110(4):535-42.
30. Senekal M, Lasker GL, van Velden L, Laubscher R, Temple NJ. Weight-loss strategies of South African female university students and comparison of weight management-related characteristics between dieters and non-dieters. *BMC Public Health*. 2016;16:918.
31. Machado EC, Silveira MF, Silveira VM. Prevalence of weight-loss strategies and use of substances for weight-loss among adults: a population study. *Cad Saude Publica*. 2012;28(8):1439-49.
32. Malik VS, Hu FB. Popular weight-loss diets: from evidence to practice. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4(1):34-41.
33. Anton SD, Hida A, Heekin K, Sowalsky K, Karabetian C, Mutchie H, et al. Effects of Popular Diets without Specific Calorie Targets on Weight Loss Outcomes: Systematic Review of Findings from Clinical Trials. *Nutrients*. 2017;9(8).
34. Volpe SL. Popular weight reduction diets. *J Cardiovasc Nurs*. 2006;21(1):34-9.
35. Sherer EL, Sherer JA. Examining the most popular weight loss diets: how effective are they? *JAAPA*. 2008;21(11):31-4, 9.
36. Freedman MR, King J, Kennedy E. Popular diets: a scientific review. *Obes Res*. 2001;9 Suppl 1:1S-40S.
37. Feinman RD. Fad diets in the treatment of diabetes. *Curr Diab Rep*. 2011;11(2):128-35.
38. Smith SR. A look at the low-carbohydrate diet. *N Engl J Med*. 2009;361(23):2286-8.
39. Moyad MA. Fad diets and obesity--Part I: Measuring weight in a clinical setting. *Urol Nurs*. 2004;24(2):114-9.
40. Moyad MA. Fad diets and obesity--Part IV: Low-carbohydrate vs. low-fat diets. *Urol Nurs*. 2005;25(1):67-70.
41. Obert J, Pearlman M, Obert L, Chapin S. Popular Weight Loss Strategies: a Review of Four Weight Loss Techniques. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017;19(12):61.
42. Porcello LA. A practical guide to fad diets. *Clin Sports Med*. 1984;3(3):723-9.
43. Raykowski LK. Popular diets: what practitioners should know. *Nurse Pract*. 2006;31(10):55-7.
44. Dankel SN, Degerud EM, Borkowski K, Fjære E, Midtbø LK, Haugen C, et al. Weight cycling promotes fat gain and altered clock gene expression in adipose tissue in C57BL/6J mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;306(2):E210-24.
45. Anderson EK, Gutierrez DA, Kennedy A, Hasty AH. Weight cycling increases T-cell accumulation in adipose tissue and impairs systemic glucose tolerance. *Diabetes*. 2013;62(9):3180-8.
46. Neamat-Allah J, Barrdahl M, Hüsing A, Katzke VA, Bachlechner U, Steffen A, et al. Weight cycling and the risk of type 2 diabetes in the EPIC-Germany cohort. *Diabetologia*. 2015;58(12):2718-25.
47. Cereda E, Malavazos AE, Caccialanza R, Rondanelli M, Fatati G, Barichella M. Weight cycling is associated with body weight excess and abdominal fat accumulation: a cross-sectional study. *Clin Nutr*. 2011;30(6):718-23.

48. Muls E, Kempen K, Vansant G, Saris W. Is weight cycling detrimental to health? A review of the literature in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1995;19 Suppl 3:S46-50.
49. Montani JP, Schutz Y, Dulloo AG. Dieting and weight cycling as risk factors for cardiometabolic diseases: who is really at risk? *Obes Rev*. 2015;16 Suppl 1:7-18.
50. Murphy RA, Patel KV, Kritchevsky SB, Houston DK, Newman AB, Koster A, et al. Weight change, body composition, and risk of mobility disability and mortality in older adults: a population-based cohort study. *J Am Geriatr Soc*. 2014;62(8):1476-83.
51. Thompson HJ, McTiernan A. Weight cycling and cancer: weighing the evidence of intermittent caloric restriction and cancer risk. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(11):1736-42.
52. Collier R. Intermittent fasting: the next big weight loss fad. *CMAJ*. 2013;185(8):E321-2.
53. Pilon B. Intermittent fasting: five quick questions with fasting expert Brad Pilon. Interview by Roger Collier. *CMAJ*. 2013;185(9):E362.
54. Johnstone A. Fasting for weight loss: an effective strategy or latest dieting trend? *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(5):727-33.
55. Pilon B. *Eat Stop Eat* 2007.
56. Mosley M, Spencer M. *A Dieta dos 2 dias - The Fast Diet*. Sextante, editor 2013.
57. Mattson MP, Allison DB, Fontana L, Harvie M, Longo VD, Malaisse WJ, et al. Meal frequency and timing in health and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(47):16647-53.
58. Laway BA, Ashraf H. Basic rules of Ramadan: A medico-religious perspective. *J Pak Med Assoc*. 2015;65(5 Suppl 1):S14-7.
59. Brett AS, Nesbit RM. A 40-day water-only fast by a Pentecostal woman: clinical and religious observations. *Am J Med Sci*. 2013;345(5):418-20.
60. Tanaka H, Tomoto T, Sugawara J. A week of Danjiki (Buddhist fasting ritual) on cardiometabolic health: a case report. *J Physiol Sci*. 2016;66(5):431-4.
61. Katz Y, Zangen D, Leibowitz G, Szalalt A. [Diabetic patients in the Yom Kippur fast--who can fast and how to treat the fasting patients]. *Harefuah*. 2009;148(9):586-91, 659, 8.
62. Harris L, Hamilton S, Azevedo LB, Olajide J, De Brún C, Waller G, et al. Intermittent fasting interventions for treatment of overweight and obesity in adults: a systematic review and meta-analysis. *JBIM Database System Rev Implement Rep*. 2018;16(2):507-47.
63. Harvie M, Wright C, Pegington M, McMullan D, Mitchell E, Martin B, et al. The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women. *Br J Nutr*. 2013;110(8):1534-47.
64. Gabel K, Hoddy KK, Haggerty N, Song J, Kroeger CM, Trepanowski JF, et al. Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: A pilot study. *Nutr Healthy Aging*. 2018;4(4):345-53.
65. Sutton EF, Beyl R, Early KS, Cefalu WT, Ravussin E, Peterson CM. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. *Cell Metab*. 2018;27(6):1212-21.e3.
66. Harvie MN, Pegington M, Mattson MP, Frystyk J, Dillon B, Evans G, et al. The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35(5):714-27.
67. Corley BT, Carroll RW, Hall RM, Weatherall M, Parry-Strong A, Krebs JD. Intermittent fasting in Type 2 diabetes mellitus and the risk of hypoglycaemia: a randomized controlled trial. *Diabet Med*. 2018.
68. Marosi K, Moehl K, Navas-Enamorado I, Mitchell SJ, Zhang Y, Lehrmann E, et al. Metabolic and molecular framework for the enhancement of endurance by intermittent food deprivation. *FASEB J*. 2018:fj201701378RR.
69. Almeneessier AS, Alzogaibi M, BaHammam AA, Ibrahim MG, Olaish AH, Nashwan SZ, et al. The effects of diurnal intermittent fasting on the wake-promoting neurotransmitter orexin-A. *Ann Thorac Med*. 2018;13(1):48-54.

70. 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.
71. Heilbronn LK, Smith SR, Martin CK, Anton SD, Ravussin E. Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(1):69-73.
72. Johnson JB, Laub DR, John S. The effect on health of alternate day calorie restriction: eating less and more than needed on alternate days prolongs life. *Med Hypotheses.* 2006;67(2):209-11.
73. Caviezel F, Margonato A, Slaviero G, Bonetti F, Vicedomini G, Cattaneo AG, et al. Early improvement of left ventricular function during caloric restriction in obesity. *Int J Obes.* 1986;10(6):421-6.
74. 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.
75. Duan W, Guo Z, Mattson MP. Brain-derived neurotrophic factor mediates an excitoprotective effect of dietary restriction in mice. *J Neurochem.* 2001;76(2):619-26.
76. Kim J, Kang SW, Mallilankaraman K, Baik SH, Lim JC, Balaganapathy P, et al. Transcriptome Analysis Reveals Intermittent Fasting-Induced Genetic Changes in Ischemic Stroke. *Hum Mol Genet.* 2018.
77. Wan R, Camandola S, Mattson MP. Intermittent fasting and dietary supplementation with 2-deoxy-D-glucose improve functional and metabolic cardiovascular risk factors in rats. *FASEB J.* 2003;17(9):1133-4.
78. 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.
79. Bouguerra R, Jabrane J, Maâtki C, Ben Salem L, Hamzaoui J, El Kadhi A, et al. [Ramadan fasting in type 2 diabetes mellitus]. *Ann Endocrinol (Paris).* 2006;67(1):54-9.
80. Khaled BM, Bendahmane M, Belbraouet S. Ramadan fasting induces modifications of certain serum components in obese women with type 2 diabetes. *Saudi Med J.* 2006;27(1):23-6.
81. Shariatpanahi ZV, Shariatpanahi MV, Shahbazi S, Hossaini A, Abadi A. Effect of Ramadan fasting on some indices of insulin resistance and components of the metabolic syndrome in healthy male adults. *Br J Nutr.* 2008;100(1):147-51.
82. Belkacemi L, Selselet-Attou G, Bulur N, Louchami K, Sener A, Malaisse WJ. Intermittent fasting modulation of the diabetic syndrome in sand rats. III. Post-mortem investigations. *Int J Mol Med.* 2011;27(1):95-102.
83. Teng NI, Shahar S, Rajab NF, Manaf ZA, Johari MH, Ngah WZ. Improvement of metabolic parameters in healthy older adult men following a fasting calorie restriction intervention. *Aging Male.* 2013;16(4):177-83.
84. Gnanou JV, Caszo BA, Khalil KM, Abdullah SL, Knight VF, Bidin MZ. Effects of Ramadan fasting on glucose homeostasis and adiponectin levels in healthy adult males. *J Diabetes Metab Disord.* 2015;14:55.
85. Tinsley GM, La Bounty PM. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. *Nutr Rev.* 2015;73(10):661-74.
86. Castrogiovanni P, Li Volti G, Sanfilippo C, Tibullo D, Galvano F, Vecchio M, et al. Fasting and Fast Food Diet Play an Opposite Role in Mice Brain Aging. *Mol Neurobiol.* 2018.
87. Hu Y, Zhang M, Chen Y, Yang Y, Zhang JJ. Postoperative intermittent fasting prevents hippocampal oxidative stress and memory deficits in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Eur J Nutr.* 2018.
88. Tatulli G, Mitro N, Cannata SM, Audano M, Caruso D, D'Arcangelo G, et al. Intermittent Fasting Applied in Combination with Rotenone Treatment Exacerbates Dopamine Neurons Degeneration in Mice. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:4.

89. Dorighello GG, Rovani JC, Luhman CJ, Paim BA, Raposo HF, Vercesi AE, et al. Food restriction by intermittent fasting induces diabetes and obesity and aggravates spontaneous atherosclerosis development in hypercholesterolaemic mice. *Br J Nutr.* 2014;111(6):979-86.
90. Rosas Fernández MA, Concha Vilca CM, Batista LO, Ramos VW, Cinelli LP, Tibau de Albuquerque K. Intermittent food restriction in female rats induces SREBP high expression in hypothalamus and immediately postfasting hyperphagia. *Nutrition.* 2017;48:122-6.
91. Chentli F, Azzoug S, Amani MIA, Elgradechi A. Diabetes mellitus and Ramadan in Algeria. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013;17(Suppl 1):S295-8.
92. Akgül S, Derman O, Kanbur N. Fasting during Ramadan: a religious factor as a possible trigger or exacerbator for eating disorders in adolescents. *Int J Eat Disord.* 2014;47(8):905-10.
93. Stote KS, Baer DJ, Spears K, Paul DR, Harris GK, Rumpler WV, et al. A controlled trial of reduced meal frequency without caloric restriction in healthy, normal-weight, middle-aged adults. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(4):981-8.
94. al-Hadramy MS, Zawawi TH, Abdelwahab SM. Altered cortisol levels in relation to Ramadan. *Eur J Clin Nutr.* 1988;42(4):359-62.
95. Bogdan A, Bouchareb B, Touitou Y. Ramadan fasting alters endocrine and neuroendocrine circadian patterns. Meal-time as a synchronizer in humans? *Life Sci.* 2001;68(14):1607-15.
96. Ben Salem L, Bchir S, Bouguerra R, Ben Slama C. [Cortisol rhythm during the month of Ramadan]. *East Mediterr Health J.* 2003;9(5-6):1093-8.
97. Roky R, Houti I, Moussamih S, Qotbi S, Aadil N. Physiological and chronobiological changes during Ramadan intermittent fasting. *Ann Nutr Metab.* 2004;48(4):296-303.
98. Haouari M, Haouari-Oukerro F, Sfaxi A, Ben Rayana MC, Kâabachi N, Mbazâa A. How Ramadan fasting affects caloric consumption, body weight, and circadian evolution of cortisol serum levels in young, healthy male volunteers. *Horm Metab Res.* 2008;40(8):575-7.
99. Bahijri S, Borai A, Ajabnoor G, Abdul Khaliq A, AlQassas I, Al-Shehri D, et al. Relative metabolic stability, but disrupted circadian cortisol secretion during the fasting month of Ramadan. *PLoS One.* 2013;8(4):e60917.
100. Guerrero-Morilla R, Ramírez-Rodrigo J, Ruiz-Villaverde G, Sánchez-Caravaca MA, Pérez-Moreno BA, Villaverde-Gutiérrez C. [Endocrine-metabolic adjustments during Ramadan fasting in young athletes]. *Arch Latinoam Nutr.* 2013;63(1):14-20.
101. Ajabnoor GM, Bahijri S, Borai A, Abdulkhaliq AA, Al-Aama JY, Chrousos GP. Health impact of fasting in Saudi Arabia during Ramadan: association with disturbed circadian rhythm and metabolic and sleeping patterns. *PLoS One.* 2014;9(5):e96500.
102. Chaouachi A, Coutts AJ, Chamari K, Wong dP, Chaouachi M, Chtara M, et al. Effect of Ramadan intermittent fasting on aerobic and anaerobic performance and perception of fatigue in male elite judo athletes. *J Strength Cond Res.* 2009;23(9):2702-9.
103. Kumar S, Kaur G. Intermittent fasting dietary restriction regimen negatively influences reproduction in young rats: a study of hypothalamo-hypophysial-gonadal axis. *PLoS One.* 2013;8(1):e52416.
104. Heilbronn LK, Civitarese AE, Bogacka I, Smith SR, Hulver M, Ravussin E. Glucose tolerance and skeletal muscle gene expression in response to alternate day fasting. *Obes Res.* 2005;13(3):574-81.
105. Reiches MW, Moore SE, Prentice AM, Ellison PT. Endocrine responses, weight change, and energy sparing mechanisms during Ramadan among Gambian adolescent women. *Am J Hum Biol.* 2014;26(3):395-400.
106. Munsters MJ, Saris WH. Effects of meal frequency on metabolic profiles and substrate partitioning in lean healthy males. *PLoS One.* 2012;7(6):e38632.
107. Bosboom RS, Zweens J, Bouman PR. Effects of feeding and fasting on the insulin secretory response to glucose and sulfonylureas in intact rats and isolated perfused rat pancreas. *Diabetologia.* 1973;9(4):243-50.
108. Svenningsen A, Bonnevie-Nielsen V. Effects of fasting on beta-cell function, body fat, islet volume, and total pancreatic insulin content. *Metabolism.* 1984;33(7):612-6.

109. Gasa R, Sener A, Malaisse WJ, Gomis R. Apparent starvation-induced repression of pancreatic islet glucokinase. *Biochem Mol Med*. 1995;56(2):99-103.
110. Bone AJ, Howell SL. Alterations in regulation of insulin biosynthesis in pregnancy and starvation studied in isolated rat islets of langerhans. *Biochem J*. 1977;166(3):501-7.
111. Hedekov CJ, Capito K. The effect of starvation on insulin secretion and glucose metabolism in mouse pancreatic islets. *Biochem J*. 1974;140(3):423-33.
112. Tadayon M, Bonney RC, Green IC. Starvation decreases insulin secretion, prostaglandin E2 production and phospholipase A2 activity in rat pancreatic islets. *J Endocrinol*. 1990;124(3):455-61.
113. Hedekov CJ, Capito K. The pentose cycle and insulin release in isolated mouse pancreatic islets during starvation. *Biochem J*. 1975;152(3):571-6.
114. Munhoz AC, Riva P, Simões D, Curi R, Carpinelli AR. Control of Insulin Secretion by Production of Reactive Oxygen Species: Study Performed in Pancreatic Islets from Fed and 48-Hour Fasted Wistar Rats. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158166.