



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0707358-5 A2**

(22) Data de Depósito: 31/01/2007
(43) Data da Publicação: 03/05/2011
(RPI 2104)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 36/9066
A61K 36/87
A23K 1/00
A61K 45/06

(54) Título: **SISTEMA NUTRICIONAL E MÉTODOS PARA AUMENTAR A LONGEVIDADE**

(30) Prioridade Unionista: 01/02/2006 US 60/764,056

(73) Titular(es): NESTEC S.A

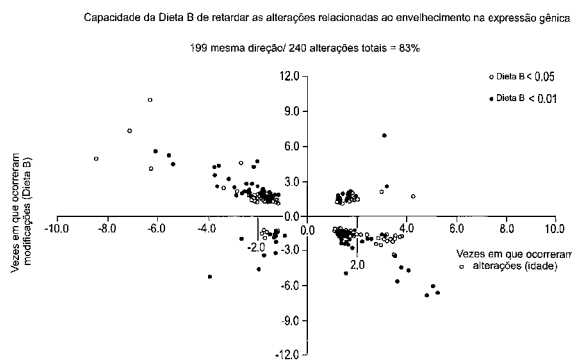
(72) Inventor(es): Rondo P. Middleton, Steven S. Hannah, Yuanlong Pan

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007000837 de 31/01/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/088046 de 09/08/2007

(57) Resumo: MÁQUINA ELÉTRICA. A fim de preparar uma máquina elétrica com diâmetro pequeno, no qual um estator com uma espessura radial relativamente pequena apresente o volume de material necessário para a condução do fluxo magnético é sugerido: uma máquina elétrica (1) com um estator (3), que compreende um pacote de chapas (8) e um número de ímãs magnéticos (6), e com um rotor (2) que atua em conjunto com o estator (3) e que pode girar em torno de um eixo de rotação (5), caracterizada pelo fato de que o estator (3) compreende um número de elementos de propagação do fluxo (31), que em conjunto com o pacote de chapas (8) serve para a condução do fluxo magnético, e cujo comprimento axial (32) é maior que o comprimento axial (4) do pacote de chapas (8).





Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**SISTEMA NUTRICIONAL E MÉTODOS PARA AUMENTAR A LONGEVIDADE**".

É reivindicado o benefício do Pedido Provisório U.S. 60/764.056, depositado em 1º de fevereiro de 2006, o conteúdo total do mesmo sendo
5 incorporado aqui como referência.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se ao campo do suporte nutricional de saúde e longevidade em animais. Especificamente, a invenção provê formulações de dieta e métodos para imitar os efeitos fisiológicos, bioquímicos e de expressão gênica de restrição de calorias sem alterar a ingestão da
10 dieta.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Várias publicações, incluindo patentes, pedidos publicados e artigos escolares são citados através do relatório descritivo. Cada uma dessas publicações é incorporada aqui como referência, em sua totalidade.
15

A restrição de ingestão de calorias bem abaixo dos níveis *ad libitum* foi mostrado como aumentando o intervalo de vida, reduzindo ou retardando o início de muitas das condições relacionadas à idade, aperfeiçoando a resistência ao estresse e desacelerando o declínio funcional em várias espécies animais, incluindo os mamíferos, tais como roedores e primatas, (*vide, por exemplo*, D.K. Ingram e outros (2004) Ann. N.Y. Acad. Sci. 1019: 412-423). Na realidade, os experimentos clínicos foram iniciados para avaliar o efeito de promoção de longevidade da restrição de calorias (CR) nos seres humanos. Porém nos seres humanos e animais assemelhados, parece improvável que CR seja uma estratégia viável para aumento da longevidade na
20 maioria dos indivíduos, devido ao grau e extensão da restrição necessária. Por essa razão, a pesquisa teve foco na identificação das substâncias, por exemplo, agentes farmacêuticos, substâncias nutricionais e similares, capazes de mimetizar o efeito da CR, sem alteração substancial na ingestão da
25 dieta.
30

Os esforços foram dirigidos para a identificação dos agentes que mimetizam um ou mais dos efeitos fisiológicos e bioquímicos da CR (*vide*,

por exemplo, Ingram e outros, 2004, *supra*), ou que podem mimetizar o perfil da expressão gênica associado a CR em determinados tecidos e órgãos (por exemplo, Spindler, Patente U.S. 6.406.853; Publicação de Patente U.S. número 2003/0124540). Em conexão com o último, os métodos propostos para
5 analisar os genes associados à CR e para classificar os miméticos da CR com base no perfil da expressão gênica foram descritos (Spindler e outros, Publicações de Patente U.S. números 2004/0180003, 2004/0191775 e 2005/0013776).

Por exemplo, foi observado que a CR possui um ou mais dos
10 seguintes efeitos em vários estudos: (1) redução no estresse oxidativo e lesão oxidativa (por exemplo, Weindruch, Scientific American Janeiro de 1996, 46-52); (2) redução na lesão por glicação (Novelli e outros (1998), J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 53: B94-101); (3) diminuição no peso corpóreo e teor de gordura do corpo (Bertrand e outros (1980), J. Gerontol. 35:827-835);
15 (4) aumento da sensibilidade à insulina e redução nos níveis de glicose e insulina no sangue (Lane e outros (1995), Am. J. Physiol. 268: E941-E948; Kemnitz e outros (1994), Am. J. Physiol. 266:E540-E547); e (5) redução na inflamação crônica (Chung e outros (2002), Microsc. Res. Tech. 59:264-272. Com relação a isso, foi reportado que a administração de ácidos graxos li-
20 vres de cadeia longa, tais como, ácido palmítico e ácido oléico e seus derivados de CoA, pode mimetizar o efeito da CR em um ou mais parâmetros bioquímicos (Chacon, Publicação de Patente U.S. número 2002/0173450). Carnosina (beta-alanil-L-histidina) é reportada como estando presente nos tecidos de vida longa e dita como retardando o envelhecimento através de
25 as função como um antioxidante, limpador de radical livre e agente antiglicação (Hipkiss (1998), Int. J. Cell Biol. 30: 863-868; Hipkiss & Brownson (2000), Cell Mol. Life Sci. 57: 747-753).

Pitha e outros, (Publicação de Patente U.S. número 2002/0035071) reportou que um resultado biológico benéfico associado a
30 CR seria obtido por administração de um agente que bloqueie o metabolismo da glicose, tal como, 2-desóxi-D-glicose, 5-tio-D-glicose, manohexulose, 3-O-metilglicose, 1-5-anidro-D-glucitol ou 2,5-anidro-D-manitol.

Malnoe e outros (WO 02/071874; Publicação de Patente U.S. número 2005/0100617) descreveu uma composição alimentícia para administração aos mamíferos que era capaz de imitar os efeitos da CR na expressão gênica. A composição continha um antioxidante e uma substância
5 que simula o metabolismo da energia, tal como uma carnitina ou um derivado de carnitina.

Young e outros (WO 01/17366) descreveu um método para aumentar a longevidade dos animais de estimação velhos por administração de uma composição nutricional contendo uma fonte de cálcio, um antioxidante
10 e, opcionalmente, um microorganismo prebiótico ou probiótico, uma fonte de zinco e glutamina.

Cupp e outros, (Publicação de Patente U.S. 2005/0123643) também descreveram um método para aperfeiçoar a longevidade dos animais de estimação velhos por administração de uma composição nutricional con-
15 tendo uma combinação de óleos, um antioxidante, uma fonte de ácido linoléico e, opcionalmente, um prebiótico, tal como, inulina ou frutooligosacarídeos.

A despeito da disponibilidade dos métodos e agentes descritos acima, permanece a necessidade de métodos e composições que possam
20 mimetizar os efeitos da CR, sem requerer que os indivíduos modifiquem substancialmente sua ingestão calórica.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Um aspecto da invenção caracteriza uma formulação de dieta compreendendo pelo menos três ingredientes, cada um dos quais se encon-
25 trando de uma categoria dentre cinco a seis diferentes de ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem pelo menos um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica, onde as categorias são: (a) antioxidantes; (b) agentes antiglicação; (c) redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea; (d) promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou
30 glicose baixas no sangue; e (e) agentes antiinflamatórios.

Em determinadas concretizações, os antioxidantes são substâncias solúveis em água, que podem incluir por exemplo, um ou mais dentre

Vitamina C, polifenóis, proantocianidinas, antocianinas, bioflavonóides, uma fonte de selênio (por exemplo, um ou mais dentre selenita de sódio, selenato de sódio ou L-selenometionina), ácido alfa-lipóico, glutathione, catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epigallocatequina, galato de epicatequina ou cisteína. Em outras concretizações, os antioxidantes são substâncias solúveis em água, que podem incluir por exemplo, um ou mais dentre Vitamina E, gama-tocoferol, alfa-caroteno, beta-caroteno, luteína, zeaxantina, retinal, astaxantina, criptoxantina, carotenóides mistos naturais, licopeno ou resveratrol. Em outra concretização, a formulação contém ambos antioxidante solúvel em gordura e solúvel em água; por exemplo, Vitamina E, Vitamina C, carotenóides naturais, uma fonte de selênio, e licopeno.

Os agentes antiglicação podem incluir um ou mais dentre carnosina ou aminoguanidina. Os redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea podem incluir um ou mais dentre ácido linoléico conjugado, L-carnitina, acetil-L-carnitina, piruvato, ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos de cadeia média, triglicerídeos de cadeia média, ou isoflavonas de soja e seus metabólitos. Os promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixas no sangue podem incluir um ou mais dentre uma fonte de cromo, cinamono, extrato de cinamono, polifenóis de cinamono e hamamelia, extrato do grão de café, ácido clorogênico, ácido caféico, uma fonte de zinco, ou extrato de semente de uva.

Os agentes antiinflamatórios podem incluir um ou mais dentre uma fonte de ácidos graxos ômega-3 ou uma fonte de curcumina. Em uma concretização detalhada, a fonte de ácido graxo de ômega 3 pode ser pelo menos um dentre ácido α -linolênico, ácido eicossapentênico, ácido docosapentênico, ácido docosahexanóico, semente de linho, óleo de linho, nozes, óleo de canola, germe de trigo, ou óleo de peixe. Em outra concretização detalhada, a fonte de curcumina é (1,7-bis-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1,7-bis-(4-hidroxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona), desmetoxicurcumina, ou bisdesmetoxicurcumina.

Em determinadas concretizações, a formulação compreende

pelo menos um inibidor de lesão por glicação, pelo menos um redutor de peso corpóreo e gordura; e pelo menos um promotor de alta sensibilidade à insulina e baixo teor de insulina e glicose no sangue. Tais formulações podem compreender adicionalmente pelo menos um antioxidante. Elas também podem compreender, adicionalmente, pelo menos um agente antiinflamatório.

Em outras concretizações, a fórmula compreende pelo menos um antioxidante e pelo menos um agente antiinflamatório.

Outro aspecto da invenção caracteriza uma composição, que é um produto para alimentar animais de estimação, um suplemento de dieta, ou um produto para alimento humano, compreendendo as formulações citadas acima. Em determinadas concretizações, o produto para alimento animal ou suplemento de dieta é formulado para consumo por um animal de estimação, especificamente um cão ou gato.

Outro aspecto da invenção caracteriza um método para aumentar a longevidade em um animal, incluindo os seres humanos, compreendendo administração ao animal de uma composição compreendendo uma formulação de dieta conforme citado acima, em uma quantidade eficaz para aumentar a longevidade do animal. Em determinadas concretizações, o animal é um animal de estimação, especificamente um cão ou gato. Em determinadas concretizações, a composição é administrada como parte de um regime de dieta, por exemplo, uma vez ou mais por dia, uma vez ou mais por semana, ou uma vez ou mais por mês. Administração pode ser por qualquer período de tempo tido como eficaz, por exemplo uma semana, um mês, três meses ou um ano ou mais, se estendendo pela duração da vida do animal.

Outro aspecto da invenção caracteriza o uso de uma formulação de dieta conforme citada acima, na fabricação de uma formulação para aumentar a longevidade de um animal. Em determinadas concretizações, o animal é um animal de estimação, especificamente um cão ou gato.

Outros aspectos e vantagens da invenção serão entendidos com referência aos desenhos, descrição detalhada e exemplos que se seguem.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A figura 1 mostra o pesos dos animais submetidos a dietas ou CR. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, camundongos mantidos nas duas dietas de teste contendo coquetel II (201 LB e 201 LD) reduziram seus pesos corpóreos a um nível comparável a aqueles dos camundongos mantidos na dieta com CR, sem redução na ingestão de alimentos.

A figura 2 mostra alterações no peso corpóreo (BW), peso da carcaça desnudada (SCW) ou peso total da almofada de gordura nos animais submetidos a dietas ou restrição calórica. Camundongos machos de meia idade (C57B/L6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, camundongos mantidos nas duas dietas de teste contendo coquetel II (201 LB e 201 LD) apresentavam peso corpóreo e pesos de carcaça desnudada comparáveis a aqueles dos camundongos com CR (painel superior), embora os peso total das almofadas de gordura dos camundongos mantidos nas duas dietas de teste contendo coquetel II (201 LB e 201 LD) fossem 50% menores que aqueles dos camundongos com CR (painel inferior).

A figura 3 mostra a concentração de dialdeído de malonila (MDA) e 4-hidroxiacênais (4-HDA) nos animais alimentados com as respectivas dietas ou submetidos à CR. Camundongos machos de meia idade (C57B/L6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, produtos de peroxidação lipídica muscular (MDA e 4-HDA) mostraram o mais alto teor nos camundongos alimentados com dieta de tes-

te contendo coquetéis I + III, seguido por camundongos velhos alimentados com dieta de controle. A dieta de teste contendo coquetel I sozinha apresentou MDA e 4-HDA reduzidos em comparação aqueles dos camundongos com CR. Duas dietas de teste (201 LB e 201 LD) reduziram adicionalmente

5 MDA e 4-HDA musculares a níveis inferiores aos dos camundongos jovem.

A figura 4 mostra efeito antienvhecimento (% em comparação ao controle) na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB =

10 coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis da expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da

15 Affymetrix 430A GeneChip®. Os efeitos antienvhecimento ponderados foram calculados para cada dieta de teste e CR. Por exemplo, com valor p inferior a 0,01, um total de 431 genes foram afetados pelo envelhecimento, e CR impediu essas alterações da expressão gênica induzidas pelo envelhecimento em uma média de 43%. Os coquetéis nutrientes I, I+II, I+III, e I+II+III

20 preveniram essas alterações da expressão gênica induzidas pelo envelhecimento em uma média de 29, 27, 24 e 30%, respectivamente. Efeitos antienvhecimento similares foram observados em ambos CR e nutrientes em $p < 0,05$ com um total de 1.530 genes afetados pelo envelhecimento.

A figura 5 mostra efeito antienvhecimento (% em comparação

25 ao controle) na expressão gênica relacionado à apoptose. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901

30 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis da expressão gênica de camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira

de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Os efeitos antienvhecimento ponderados nos genes afetados pelo envelhecimento envolvidos na apoptose foram calculados para cada dieta de teste e CR em $p < 0,01$ ou $0,05$.

5 A figura 6 mostra efeito antienvhecimento (% em comparação ao controle) na expressão gênica em resposta ao estresse. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD =
10 coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Os efeitos antienvhecimento ponderados nos genes afetados pelo envelhecimento envolvidos na
15 resposta de estresse foram calculados para cada dieta de teste e CR em $p < 0,01$ ou $0,05$.

 A figura 7 mostra o efeito antienvhecimento (% em comparação ao controle) na expressão gênica de resposta inflamatória. Os camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão
25 gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Os efeitos antienvhecimento ponderados nos genes afetados pelo envelhecimento envolvidos na resposta inflamatória foram calculados para cada dieta de teste e CR em $p < 0,01$ ou $0,05$.

 A figura 8 mostra intensidades de sinal de microfileira para expressão gênica de substrato-1 do receptor de insulina. Camundongos ma-

chos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Intensidades de sinal IRS-1 foram determinadas na microfileira para tecido muscular do camundongo em camundongos alimentados com cada uma das dietas de coquetel e em camundongos alimentados com um regime de dieta de restrição calórica, e foram comparados às Intensidades de sinal IRS-1 no tecido muscular dos camundongos jovens de controle e os camundongos velhos.

A figura 9 mostra efeito antienvhecimento (% em comparação ao controle) na expressão gênica do substrato 1 do receptor de insulina. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I, 201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Os efeitos de prevenção ponderada na redução induzida pelo envelhecimento de IRS-1 foram calculados para cada dieta de teste e CR em $p < 0,01$. CR preveniu completamente (100%) a redução induzida pelo envelhecimento da expressão gênica de IRS-1 no músculo esquelético, seguido pelo coquetel I+II (78%).

A figura 10 mostra um resumo das alterações relacionadas à idade na expressão gênica do tecido adiposo. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (201 LA = coquetel I,

201 LB = coquetéis I + II, 201 LC = coquetéis I + III, e 201 LD = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos ali-
5 mentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Alterações induzidas pela idade na expressão gênica do tecido adiposo branco do camundongo são resumi-
das.

A figura 11 mostra um resumo das influências das dietas nas
10 alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901
15 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. As porcentagens dos genes afetados pelo envelhecimento no tecido adiposo branco do camundongo que
20 foram retardadas por CR ou coquetéis de nutrientes são mostradas. Em $p < 0,01$, CR retardou 23% dos genes afetados pelo envelhecimento, seguido pelo coquetel I e coquetéis I+II (15%). Em $p < 0,05$, CR retardou 42% dos genes afetados pelo envelhecimento, seguido pelo coquetéis I + II (31 %), coquetel I (27%), coquetéis I + III (27%), e coquetéis I+II+III (22%). Todas die-
25 tas de teste retardaram geralmente 0,5 ($p < 0,01$) a 1,5% ($p < 0,05$) dos genes afetados pelo envelhecimento.

A figura 12 é um gráfico de dispersão mostrando a capacidade da restrição calórica (CR) em retardar alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 ca-
30 mundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de res-

trição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica do tecido branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. Desse conjunto de "genes de envelhecimento", 281 genes foram alterados com restrição de caloria (CR) em $p < 0,05$, e CR preveniu a alteração associada à idade em 272 dos 281 genes. No gráfico, o eixo x representa as alterações com a idade e o eixo y representa as alterações com CR. Círculos escuros representam genes onde a alteração na expressão com CR foi significativa em $P < 0,01$; círculos claros representam genes onde a alteração na expressão com CR foi significativa em $P < 0,05$.

A figura 13 é um gráfico de dispersão mostrando a capacidade da Dieta A em retardar alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, perfis de expressão gênica do tecido branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. Desse conjunto de "genes de envelhecimento", 187 genes foram alterados com Dieta A em $p < 0,05$, e a Dieta A preveniu a alteração associada à idade em 178 dos 187 genes. No gráfico, o eixo x representa as alterações com a idade e o eixo y representa as alterações com a Dieta A. Os círculos escuros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta A foi significativa em $P < 0,01$; círculos claros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta A foi significativa em $P < 0,05$.

A figura 14 é um gráfico de dispersão mostrando a capacidade da Dieta B em retardar alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica do tecido branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. Desse conjunto de "genes de envelhecimento", 240 genes foram alterados com a Dieta B em $p < 0,05$, e a Dieta B preveniu a alteração associada à idade em 199 dos 240 genes. No gráfico, o eixo x representa a alteração com a idade e o eixo y representa as alterações com a Dieta B. Círculos escuros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta B foi significativa em $P < 0,01$; círculos claros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta B foi significativa em $P < 0,05$.

A figura 15 é um gráfico da dispersão mostrando a capacidade da Dieta C em retardar alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica do tecido branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. Desse conjunto de "genes de envelhecimento", 179 genes foram alterados com a Dieta C em $p < 0,05$, e a Dieta C preveniu a al-

teração associada à idade em 171 dos 179 genes. No gráfico, o eixo x representa as alterações com a idade e o eixo y representa as alterações com a Dieta C. Círculos escuros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta C foi significativa em $P < 0,01$; círculos claros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta C foi significativa em $P < 0,05$.

A figura 16 é um gráfico de dispersão mostrando a capacidade da Dieta D em retardar alterações relacionadas à idade na expressão gênica. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, os perfis de expressão gênica do tecido branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. Desse conjunto de "genes de envelhecimento", 205 genes foram alterados com a Dieta D em $p < 0,05$, e a Dieta D preveniu a alteração associada à idade em 140 dos 205 genes. No gráfico, o eixo x representa as alterações com a idade e o eixo y representa as alterações com a Dieta D. Círculos escuros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta D foi significativa em $P < 0,01$; círculos claros representam genes onde a alteração na expressão com a Dieta D foi significativa em $P < 0,05$.

A figura 17 mostra um resumo das influências das dietas nas alterações relacionadas à idade na expressão gênica CD59. Camundongos machos de meia idade (C57B1/6, 15 camundongos por grupo) foram alimentados com dietas de controle de 24 g/semana (201 LE) ou de teste (Dieta A = coquetel I, Dieta B = coquetéis I + II, Dieta C = coquetéis I + III, e Dieta D = coquetel I+II+III) ou dieta de restrição calórica (CR) de 18 g/semana (901 LF). Após 11 meses de alimentação, perfis de expressão gênica do tecido

branco adiposo dos camundongos jovens, camundongos velhos, camundongos com CR e camundongos alimentados com quatro dietas de teste foram analisados com fileira de camundongo da Affymetrix 430A GeneChip®. Um total de 643 genes foram significativamente alterados com idade em $P < 0,01$. O aumento induzido pela idade na expressão gênica CD59a foi retardado por CR e todas dietas de teste.

DESCRIÇÃO DETALHADA DAS CONCRETIZAÇÕES ILUSTRATIVAS

Nesse relatório descritivo, as concretizações foram descritas de modo a permitir que um relatório descritivo claro e conciso fosse descrito, porém pretende-se e será apreciado que as concretizações podem ser combinadas de várias formas ou separadas, sem com isso fugir do escopo da invenção.

Os termos "ingrediente funcional, "agente funcional" ou "componente funcional" são usados aqui intercambiavelmente, para se referirem às substâncias conhecidas como possuindo um aspecto ou atividade funcional em uma ou mais das seguintes categorias: (1) redução do estresse oxidativo ou lesão; (2) agente antiglicação; (3) redução do peso corpóreo, especialmente gordura corpórea; (4) estimulação da sensibilidade à insulina ou redução da glicose ou insulina no sangue; e (5) agente antiinflamatório.

"Quantidade eficaz" se refere a uma quantidade de um composto, material ou composição, conforme descrito aqui, que é eficaz para obter um resultado biológico específico. Tais resultados incluem, porém não são limitados aos fatores comprometidos com a melhora do envelhecimento, aumento da longevidade, redução da incidência e/ou retardo do início das doenças relacionadas à idade, redução do declínio funcional e aperfeiçoamento dos efeitos biomédicos, moleculares, celulares, fisiológicos e fenotípicos do envelhecimento. Tal atividade eficaz pode ser obtida, por exemplo, por administração das composições da presente invenção a um indivíduo.

Um "sujeito" ou "indivíduo" se refere a um animal de qualquer espécie. Nas várias concretizações, o animal é um mamífero e pode ser um ser humano.

Conforme usado aqui, um "suplemento dietético" é um produto

que se destina a ingestão além da dieta normal de um animal. O animal é um mamífero e pode também ser um ser humano.

5 Conforme usado aqui, um "produto alimentício formulado para consumo humano" é qualquer composição destinada à ingestão por um ser humano.

10 Conforme usado aqui, o termo "alimento para animais de estimação" ou "composição para alimento de animais de estimação" significa uma composição que se pretende seja ingerida por um animal e preferivelmente por animais de estimação. Um "alimento para animais de estimação completo e nutricionalmente equilibrado" é um que contém todos os nutrientes necessários em quantidades apropriadas e proporções, com base nas recomendações das autoridades reconhecidas no campo de nutrição dos animais de estimação e é portanto, capaz de servir como uma única fonte de ingestão de dieta de modo a manter a vida ou promover a produção, sem a
15 adição de fontes nutricionais complementares. Composições nutricionalmente equilibradas para animais de estimação são amplamente conhecidas e amplamente usadas na técnica.

20 "Restrição de caloria" ou "restrição calórica" são empregadas aqui intercambiavelmente, e se referem a qualquer regime de dieta de baixas calorias, sem subnutrição. Em geral, a limitação é de calorias totais derivadas dos carboidratos, gorduras, e proteínas. A limitação é tipicamente, embora não limitada a cerca de 25% a cerca de 40% da ingestão calórica em relação ao consumo *ad libitum*.

25 "Longevidade" se refere, de modo geral, à duração da vida além da expectativa de vida média para espécies específicas. "Longevidade melhorada" ou "longevidade aumentada" se refere a qualquer extensão significativa do período de vida de um animal específico além da expectativa de vida média para as espécies as quais o animal pertence.

30 "Jovem" se refere, de modo geral, a um indivíduo em sua vida adulta jovem, isto é, amadurecido após a puberdade ou adolescência, conforme seria definido pelas espécies de acordo com os parâmetros conhecidos.

"Envelhecido" ou "velho," conforme usado aqui, se refere a um indivíduo que se encontra física ou cronologicamente dentro dos últimos 30% de sua expectativa média de vida.

Os inventores determinaram que um número de aspectos fisiológicos, bioquímicos e/ou de expressão gênica associados à CR podem ser mimetizados através da administração de uma formulação contendo uma combinação de três ou mais categorias de ingredientes funcionais. Tais formulações provaram ser eficazes na mimetização de CR, em comparação com as formulações e métodos anteriores focados apenas em nutrientes simples ou uma ou duas categorias de ingredientes funcionais que não conseguiram mimetizar os benefícios da CR.

Assim, um aspecto da invenção provê sistemas nutricionais que mimetizam os efeitos da restrição calórica sem restringir a ingestão calórica. Os sistemas nutricionais da invenção compreendem uma formulação e administração de combinações de nutrientes que possuem várias funções pretendidas no corpo e que se encontram em três ou mais das atividades que se seguem: (1) atividade antioxidante; (2) inibição da lesão por glicação; (3) redução do peso corpóreo, especialmente gordura corpórea; e (4) promoção de alta sensibilidade à insulina e baixo teor de insulina/glicose no sangue; e (5) atividade antiinflamatória.

Quando administrados aos animais, os sistemas nutricionais descritos aqui mostraram mimetizar a CR em vários efeitos fisiológicos e bioquímicos incluindo alteração no peso corpóreo e acúmulo de gordura, redução na peroxidação lipídica, e taxa de sobrevivência. Os inventores determinaram que, como com a CR, os sistemas nutricionais são capazes de retardar, em várias extensões, as alterações na expressão gênica relacionadas à idade nos tecidos corpóreos. Conseqüentemente, os sistemas nutricionais descritos aqui podem prover uma vantagem alternativa ou suplementar a CR no aumento da longevidade.

Nas várias concretizações, as cinco funções pretendidas são combinadas em formulações compreendendo uma combinação de ingredientes funcionais. Por exemplo, e não limitado à invenção, uma formulação

compreende pelo menos um antioxidante, preferivelmente um antioxidante solúvel em água e um antioxidante solúvel em gordura. Outra formulação compreende pelo menos um ingrediente funcional que inibe a lesão por glicação, pelo menos um ingrediente funcional que promove a redução do peso corpóreo, especialmente gordura corpórea e/ou pelo menos um ingrediente funcional para promoção de alta sensibilidade à insulina e baixo teor de insulina/glicose no sangue. Outra formulação compreende pelo menos um ingrediente funcional que reduz inflamação crônica.

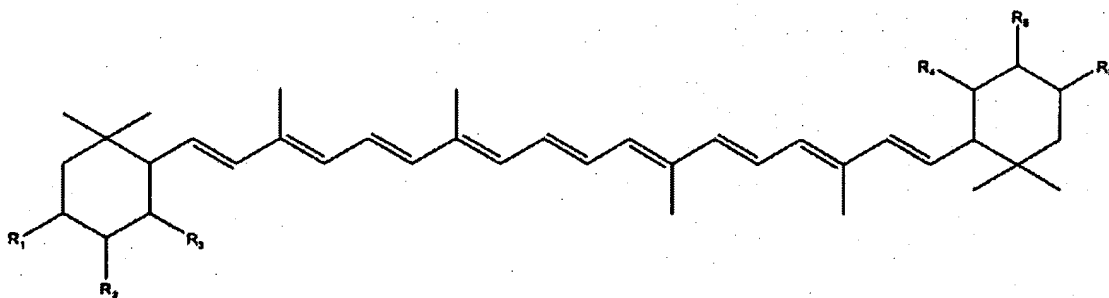
As formulações podem ser administradas aos primatas, incluindo os seres humanos. Tais formulações também podem ser administradas aos animais tais como, porém não limitados aos animais de estimação (por exemplo, cães, gatos, furões, pássaros), animais de fazenda (por exemplo, porcos, cabras, carneiros, gado, cavalos, galinhas, lhamas). As composições também podem ser administradas aos animais exóticos, especificamente animais de zoológico e espécies ameaçadas de extinção. Em determinadas concretizações, a formulação contém pelo menos um antioxidante, preferivelmente um antioxidante solúvel em água e um antioxidante solúvel em gordura. Antioxidantes solúveis em água incluem, porém não estão limitados às vitaminas C, polifenóis de várias bagas (uva-do-monte, fruto do vacínio, arando e similares), proantocianidinas e antocianinas de sementes de uva e da casca do pinheiro da costa Européia e *Pinus maritime*, bioflavonóides (taxifolina, naringenina, hesperetina, 6-hidroxi-flavanona, 2'-hidroxi-flavanona, 4'-hidroxi-flavanona) de frutas (especialmente frutas cítricas) e vegetais, L-selenometionina, ácido alfa-lipóico, glutathiona, catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epicalocatequina, galato de epicatequina, cisteína. Antioxidantes solúveis em gordura incluem, porém não são limitados a vitamina E (alfa-acetato de tocoferol), gama-tocoferol, alfa-caroteno, beta-caroteno, luteína, zeaxantina, retinal, astaxantina, criptoxantina, carotenóide mistos naturais, licopeno e resveratrol, para denominar alguns. Em algumas concretizações, a formulação pode incluir uma combinação de todos esses antioxidantes.

Na formulação rica em antioxidante, a Vitamina E e/ou a Vitami-

na C podem ser providas para liberar cerca de 100-1,000 mg/kg da dieta. Nas concretizações mais específicas, a Vitamina E ou a Vitamina C é provida para fornecer cerca de 200-800 mg/kg da dieta, ou cerca de 300-700 mg/kg, ou cerca de 400-600 mg/kg, ou cerca de 450-500 mg/kg da

5 dieta.

Os carotenóides são uma classe de pigmentos solúveis em gordura natural encontrados principalmente em plantas, algas, bactérias fotossintéticas e algumas não fotossintéticas, leveduras e mofo. Cerca de 600 carotenóides diferentes são conhecidos como ocorrendo naturalmente (Ong & Tee. (1992) *Meth. Enzymol*, 213:142-167), e novos carotenóides continuam a ser identificados (Mercadante, A. (1999) "New carotenoids: recent progress" Invited Lecture 2. Abstracts of the 12th International Carotenoid Symposium, Cairns, Austrália, julho de 1999). Os carotenóides são definidos por sua estrutura química. A maioria dos carotenóides é definida por sua estrutura química. A maioria dos carotenóides é derivada de cadeia de polieno de 40 carbonos. A cadeia pode ser terminada por grupos de extremidade cíclicos (anéis) conforme mostrado na fórmula I, a seguir:



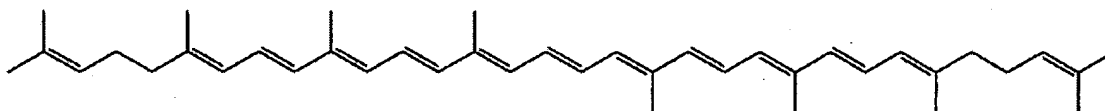
Fórmula I

A fórmula I pode ser complementada com grupos funcionais contendo oxigênio. Por exemplo, R₁, R₃, R₄ e R₆ podem ser independentemente H ou OH e R₂ e R₅ podem ser independentemente H ou =O. Os anéis podem conter cada um uma ligação dupla. Em geral, os carotenóides de hidrocarboneto são conhecidos como carotenos, enquanto os derivados oxigenados desses hidrocarbonetos são conhecidos como xantófilos. Exemplos não limitantes de carotenóides são beta-caroteno, zeaxantina, astaxantina, criptoxantina, e luteína.

Em determinadas concretizações, os carotenóides são providos

para liberar cerca de 1-100 mg/kg da dieta. Nas concretizações específicas, os carotenóides são providos para liberar cerca de 10-90 mg/kg da dieta, ou cerca de 20-80 mg/kg, 30-70 mg/kg, 40-60 mg/kg, ou cerca de 50 mg/kg da dieta.

- 5 Além de outros carotenóides, a formulação pode incluir, especificamente, uma quantidade de carotenóides purificados, o licopeno. O licopeno é um caroteno possuindo a estrutura da fórmula II:



Fórmula 13

- 10 O licopeno pode ser provido para liberar cerca de 1-100 mg/kg da dieta, ou nas concretizações específicas, cerca de 10-90, 20-80, 30-70, 40-60, ou cerca de 50 mg/kg da dieta.

- 15 Uma formulação rica em antioxidante da invenção também pode conter uma fonte de selênio. O elemento de traço, o selênio, pode ser provido como selênico inorgânico, tal como, por exemplo, selenita de sódio ou selenato de sódio. Contudo, nas concretizações preferidas, L-selenometionina ((S)-(+)-2-amino-4-(metilseleno)-ácido butanóico) é empregado uma vez que é natural, estável e mais prontamente absorvido. Tipicamente, é provida uma fonte de selênio para fornecer cerca de 0,01 a cerca de 0,4 mg de selênio por kg de dieta. Em outras concretizações, o selênio é liberado em cerca de 20 0,05 a cerca de 0,35 mg/kg da dieta, ou cerca de 0,075 a cerca de 0,3 mg/kg, ou cerca de 0,1 a cerca de 0,275 mg/kg, ou cerca de 0,15 a cerca de 0,25 mg/kg, ou cerca de 0,2 mg/kg da dieta.

- 25 Em uma concretização exemplar da invenção, a formulação referida aqui como "Coquetel I" provê o que se segue na dieta: Vitamina E, 500 mg/kg; Vitamina C, 450 mg/kg; L-selenometionina, 0,2 mg/kg; carotenóides mistos, 50 mg/kg; licopeno, 50 mg/kg. Em outra concretização específica para o consumo humano, o Coquetel I provê o que se segue: Vitamina E, 500 mg/dia; Vitamina C, 450 mg/dia; L-selenometionina, 200 µg/dia; carotenóides mistos 2.500 IU/dia; licopeno, 15 mg/dia.

Quando administrado aos animais, um coquetel desse tipo mostrou aperfeiçoar as taxas de sobrevivência aos níveis similares ao da CR, sem afetar substancialmente o peso corpóreo ou composição do peso e retardar, em vários graus, uma porcentagem significativa das alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica, conforme descrito em
5 detalhes nos exemplos.

Em determinadas concretizações, outro tipo de formulação pode ser composto de dois ou três subgrupos de ingredientes funcionais, por exemplo: (a) um inibidor de lesão por glicação; (b) um redutor de peso corpóreo, especialmente gordura corpórea; e (c) um promotor de alta sensibilidade
10 à insulina e baixo teor de insulina/glicose no sangue. Os ingredientes funcionais que inibem lesão por glicação incluem, porém não estão limitados à carnosina e aos compostos antiglicação sintéticos, tais como, aminoguanidina. Ingredientes funcionais que promovem a redução do peso corpóreo e
15 gordura corpórea incluem, porém não estão limitados ao piruvato, ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos de cadeia média, triglicerídeos de cadeia média, ácido linoléico conjugado (CLA), isoflavonas de soja e seus metabólitos, L-carnitina e acetil-L-carnitina. Ingredientes funcionais que promovem a alta sensibilidade à insulina e baixo teor de insulina/glicose no sangue
20 incluem, porém não estão limitados a uma fonte de cromo, cinamono, extrato de cinamono, polifenóis de cinamono e hamamélia, extrato do grão de café, ácido clorogênico, ácido caféico, uma fonte de zinco, e extrato de semente de uva.

Assim, uma formulação de nutriente combinada da invenção
25 compreende pelo menos um ingrediente funcional selecionado de cada uma de duas ou três categorias de ingredientes funcionais. Em algumas concretizações, uma formulação de nutriente combinada compreende uma mistura de picolinato de cromo, extrato de semente de uva, uma fonte de zinco, ácido linoléico conjugado (CLA), L-carnitina, acetil-L-carnitina e carnosina.

30 O picolinato de cromo pode ser provido nas faixas aproximadas que se seguem de mg/kg da dieta: cerca de 0,1 a cerca de 1,0, cerca de 0,2 a cerca de 0,9, cerca de 0,3 a cerca de 0,8, cerca de 0,4 a cerca de 0,75,

cerca de 0,45 a cerca de 0.6, ou cerca de 0,5 mg/kg da dieta.

As formulações dessa concretização podem também conter extrato de semente de uva que é uma fonte, por exemplo, de proantocianidinas, bioflavonóides e catequinas. Quantidades apropriadas podem compreender cerca de 50-500, 100-400, 150-350, 200-300 ou cerca de 250 mg/kg da dieta.

As formulações dessas concretizações podem também conter uma fonte de zinco, tal como, por exemplo, cloreto de zinco, acetato de zinco, gluconato de zinco, monometionato de zinco e sulfato de zinco. Nas concretizações preferidas, a formulação contém sulfato de zinco em uma quantidade de cerca de 100-300, 125-275, 150-250, 175-225 ou cerca de 190 mg/kg da dieta. Em outras concretizações preferidas, a formulação contém monometionato de zinco em uma quantidade de cerca de 25-125, 50-100, 60-90 ou cerca de 70-80 mg/kg da dieta.

As formulações dessas concretizações podem também conter um ou mais ingredientes que afetam o metabolismo e promovem a perda da gordura e/ou preservação de massa magra do corpo, incluindo ácido linolênico conjugado (CLA), L-carnitina e acetil-L-carnitina ou outros conforme listado acima. O CLA é tipicamente provido em quantidades entre 5 e 10 g/kg da dieta, ou mais especificamente, cerca de 6-9 ou 7-8 g/kg da dieta. L-carnitina é tipicamente fornecida em cerca de 100-1.000 mg/kg da dieta, ou mais especificamente, cerca de 200-800, 300-700, 400-600, ou cerca de 500 mg/kg da dieta. Acetil-L-carnitina é tipicamente fornecida em cerca de 50-150 mg/kg da dieta, ou mais especificamente, cerca de 60-140, 70-130, 80-120, 90-110, ou cerca de 100 mg/kg da dieta.

As formulações dessas concretizações podem também conter um agente antiglicação, tal como, carnosina (beta-alanil-L-histidina). A carnosina é tipicamente provida em quantidades entre cerca de 100-1.000 mg/kg da dieta, ou mais especificamente, cerca de 200-800, 300-700, 400-600, ou cerca de 500 mg/kg da dieta.

Em uma concretização específica da invenção, a formulação referida aqui como "Coquetel II" provê o que se segue em uma dieta: tripico-

linato de cromo, 0,5 mg/kg; extrato de semente de uva, 250 mg/kg; monometionato de zinco, 78 mg/kg; CLA (65%), 5.000 mg/kg; carnitina, 400 mg/kg; acetil-carnitina, 100 mg/kg e carnosina, 500 mg/kg. Em outra concretização

5
linato de cromo 120 µg/dia; extrato de semente de uva, 150 mg/dia; sulfato de zinco 15 mg/dia; CLA (65%), 2.000 mg/dia; carnitina, 2.500 mg/dia; acetil-carnitina, 500 mg/dia; e carnosina, 500 mg/dia.

Quando administrado aos animais, um coquetel desse tipo mostrou diminuir marcadamente o peso corpóreo e gordura corpórea, a níveis

10
mesmo maiores que a CR, diminuindo a peroxidação lipídica no tecido muscular, e retardando uma porcentagem significativa de alterações relacionadas à idade na expressão gênica, conforme descrito em detalhes nos exemplos.

Outro tipo de formulação pode conter ingredientes funcionais

15
para reduzir ou prevenir a inflamação crônica. Em determinadas concretizações, esse tipo de formulação contém pelo menos uma fonte de ácidos graxos ômega-3 e/ou curcumunóides. Em algumas concretizações, a fonte de ácidos graxos ômega-3 é óleo de peixe. Em outras concretizações, a fonte é uma combinação de ácidos graxos ômega-3 combinados, tais como, porém

20
não limitados aos ácidos eicossapentanóicos e docosahexanóicos (EPA e DHA). Os curcumunóides podem incluir um curcumunóide purificado ou podem conter uma combinação de mais de um curcumunóide. Os curcumunóides incluem, porém não limitados à curcumina (1,7-bis-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidróxi-3-

25
metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1,7-bis-(4-hidroxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona), desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina.

Em algumas concretizações, óleo de peixe é provido dentro das faixas que se seguem (g/kg da dieta): 10-50, 15-40, 20-30, ou em uma concretização preferida, cerca de 26 g/kg da dieta. Os curcumunóides são

30
providos dentro das faixas que se seguem (mg/kg da dieta): 100-1.000, 200-900, 300-750, 400-600, ou, em uma concretização específica, cerca de 500 mg/kg da dieta. Em uma concretização específica da invenção, a formulação

referida aqui como "Coquetel III" provê o que se segue em uma dieta: óleo de peixe, 26,5 g/kg; e extrato de curcuma 500 mg/kg da dieta.

Outras combinações também podem ser formuladas. Por exemplo, uma formulação rica em antioxidante pode ser combinada com uma
5 formulação de função mista, conforme pode ser exemplificado por uma combinação do Coquetel I com o Coquetel II. Alternativamente, uma formulação rica em antioxidante pode ser combinada com uma formulação antiinflamatória, conforme pode ser exemplificado por uma combinação do Coquetel I com o Coquetel III, ou uma combinação de todos três Coquetéis. Outra alternativa pode compreender uma formulação rica em antioxidante combina-
10 da com uma formulação de função mista e uma formulação antiinflamatória, conforme pode ser exemplificado por uma combinação do Coquetel I com o Coquetel II e Coquetel III.

Em uma concretização preferida, a composição é um suplemento de dieta, tais como molho, água para beber, bebida, yogurt, pó, grânulo,
15 pasta, suspensão, goma, azeite, lanche, aperitivo, microesfera, pílula, cápsula, comprimido ou qualquer outra forma desejada. Em outra concretização preferida, as formulações de dieta da invenção são incorporadas às composições alimentícias para seres humanos e para animais de estimação. Essas
20 incluirão, vantajosamente, alimentos destinados ao fornecimento dos requisitos necessários a dieta, bem como, lanches (por exemplo, biscoitos) e outros suplementos da dieta. Opcionalmente, as composições alimentícias podem ser uma composição seca (por exemplo, petisco), composição semi-úmida, composição úmida ou qualquer mistura das mesmas. Em uma concretização
25 detalhada, o suplemento de dieta pode compreender uma alta concentração de ingredientes que aperfeiçoam a longevidade, tal que o suplemento pode ser administrado ao animal em pequenas quantidades ou como uma alternativa, pode ser diluído antes da administração a um animal. O suplemento de dieta pode precisar de mistura com água antes da administração ao animal.

30 As composições podem ser refrigeradas ou congeladas. Os ingredientes que aperfeiçoam a longevidade podem ser pré-combinados com outros componentes da composição, de modo a prover as quantidades be-

néficas necessárias, podem ser revestidos com uma composição alimentícia para animais de estimação ou podem ser adicionados à composição antes da mesma ser oferecida ao animal, por exemplo, usando um pó dispersável ou uma mistura.

5 As formulações de dieta e composições da invenção podem compreender, opcionalmente, substâncias suplementares, tais como, mine-
rais, vitaminas, sais, condimentos, corantes e conservantes. Exemplos não
10 limitantes de minerais suplementares incluem cálcio, fósforo, potássio, sódio,
ferro, cloreto, boro, cobre, zinco, manganês, iodo, selênio e similares. Exem-
plos não limitantes de vitaminas suplementares incluem vitamina A, várias
vitaminas B, vitamina C, vitamina D, vitamina E e vitamina K. Suplementos
adicionais de dieta também podem ser incluídos, por exemplo, niacina, ácido
pantotênico, inulina, ácido fólico, biotina, aminoácidos e similares.

 Nas várias concretizações, o alimento para animais de estima-
15 ção ou composições para tratamento dos mesmos, da invenção, pode com-
preender, em uma base seca, cerca de 15% a cerca de 50% de proteína
bruta, em peso, da composição. O material de proteína bruta pode compre-
ender proteínas vegetais, tais como, soja, semente de algodão e amendoim
ou proteínas animais, tais como, caseína, albumina e proteína da carne. E-
20 xemplos não limitantes de proteína da carne úteis aqui incluem, porco, car-
neiro, eqüinos, aves, peixes e misturas dos mesmos.

 As formulações de dieta e composições podem compreender
adicionalmente, em uma base seca, cerca de 5% a cerca de 40% de gordu-
ra, em peso da composição. As composições podem compreender adicio-
25 nalmente uma fonte de carboidrato. As composições podem compreender,
em uma base seca, cerca de 15% a cerca de 60% de carboidrato, em peso
da composição. Exemplos não limitantes de tais carboidratos incluem grãos
ou cereais, tais como, arroz, milho, sorgo, alfafa, cevada, soja, canola, aveia,
trigo e misturas dos mesmos. As composições também podem compren-
30 der, opcionalmente, outros materiais, tais como, soro seco e outros subpro-
dutos de laticínios.

 As formulações de dieta e composições também podem com-

preender pelo menos uma fonte de fibra. Várias fibras solúveis e insolúveis podem ser utilizadas, conforme é conhecido de um versado na técnica comum. A fonte de fibra pode ser polpa de beterraba (da beterraba), goma arábica, goma talha, psílio, casca de arroz, goma alfarroba, polpa de cítricos, pectina, frutooligossacarídeo adicional à oligofrutose de cadeia curta, mananoligofrutose, fibra de soja, arabinogalactano, galactooligossacarídeo, arabinoxilano ou misturas dos mesmos. Alternativamente, a fonte de fibra pode ser uma fibra fermentável. A fibra fermentável foi descrita, anteriormente, como provendo um benefício ao sistema imune de um animal de estimação.

5 A fibra fermentável ou outras composições conhecidas dos versados na técnica que fornecem uma composição prebiótica para melhorar o crescimento dos organismos probióticos dentro dos intestinos também pode ser incorporada à composição para ajudar a melhorar o benefício provido pela presente invenção ao sistema imune de um animal. Adicionalmente, os microorganismos probióticos, tais como, espécies *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*, por exemplo, podem ser adicionados à composição.

10

15

Em uma concretização detalhada, a formulação de dieta ou composição é um alimento para animais de estimação completo e nutricionalmente balanceado. Nesse contexto, o alimento para animais domésticos pode ser um alimento úmido, um alimento seco, ou um alimento de teor de umidade intermediário, conforme será reconhecido pelos versados na técnica de formulação alimentícia para animais domésticos e fabricação. "Alimento úmido" descreve um alimento para animais de estimação que é tipicamente vendido em latas ou sacos de alumínio e possui um teor de umidade tipicamente na faixa de cerca de 70% a cerca de 90%. "Alimentos seco" descreve um alimento para animais de estimação que possui uma composição similar à do alimento úmido, porém contém um teor de umidade limitado, tipicamente na faixa, por exemplo, de cerca de 5% a cerca de 15%, e portanto, está presente, por exemplo, como um petiscos pequeno similar a um biscoito. As composições, formulações de dieta, e suplementos para dieta podem ser especialmente formulados para animais adultos ou para animais mais velhos ou jovens, por exemplo, uma "ração para filhotes", "ração para

20

25

30

gatinhos", formulação para adultos ou "senior". Em geral, as formulações especializadas compreenderão os requisitos de energia e nutricionais apropriados aos animais em diferentes estágios de desenvolvimento ou idade.

Determinados aspectos da invenção são preferivelmente empregados em combinação com um alimento completo e balanceado (por exemplo, conforme descrito no National Research Council, 1985, Nutritional Requirements for Dogs, National Academy Press, Washington D.C., ou Association of American Feed Control Officials, Official Publication 1996). Isto é, formulações de dieta ou composições compreendendo pelo menos três ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem pelo menos um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica de acordo com determinados aspectos dessa invenção são preferivelmente utilizados com um alimento comercial de alta qualidade. Conforme usado aqui, "alimento comercial de alta qualidade" se refere a uma dieta fabricada para produzir a capacidade de digestão dos nutrientes chave de 80% ou mais, conforme estabelecido, por exemplo, nas recomendações do National Research Council acima para os cães ou nas diretrizes estabelecidas pela Association of American Feed Control Officials. Padrão de nutrientes similares altos seriam usados para outros animais.

O versado na técnica entenderá como determinar a quantidade apropriada de ingredientes que melhoram a longevidade a serem adicionados a uma dada formulação de dieta ou composição. Os fatores que podem ser levados em consideração incluem o tipo de composição (por exemplo, composição alimentícia para animais de estimação versus suplemento para dieta), o consumo médio dos tipos específicos de composições por animais diferentes, e as condições de fabricação nas quais a composição é preparada. Preferivelmente, as concentrações de um dado ingrediente de melhora da longevidade a ser adicionado à composição são calculadas com base nos requisitos de energia e nutricionais do animal. De acordo com determinados aspectos da invenção, os ingredientes que melhoram a longevidade podem ser adicionados a qualquer momento durante a fabricação e/ou processamento da composição. Isso inclui, sem limitação, a incorporação à formula-

ção da composição alimentícia para animais de estimação ou suplemento de dieta, ou como um revestimento aplicado à composição alimentícia para animais de estimação ou suplemento de dieta.

5 As composições podem ser fabricadas de acordo com qualquer método apropriado na técnica, tal como, por exemplo, conforme descrito em Waltham Book of Dog and Cat Nutrition, Ed. ATB Edney, Chapter by A. Rabinbird, intitulado "A Balanced Diet" nas páginas 57 a 74, Pergamon Press Oxford.

10 Outro aspecto da invenção caracteriza os métodos para aumentar a longevidade em um animal, incluindo seres humanos, compreendendo administração ao animal de uma formulação de dieta ou composição compreendendo pelo menos três ingredientes que melhoram a longevidade, cada ingrediente sendo de uma categoria diferente dentre as cinco categorias de ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem pelo menos
15 um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica, onde as categorias são antioxidantes, agentes antiglicação, redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea, promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixas no sangue, e agentes antiinflamatórios, em uma quantidade eficaz para melhorar a longevidade no animal. Em uma concretização detalhada, a composição é uma composição alimentícia para animais de estimação
20 ou um suplemento de dieta, conforme exemplificado aqui. Os animais podem incluir animais domesticados ou animais de estimação conforme descrito acima. Em determinadas concretizações, o animal é um animal de estimação tal como um cão ou gato. Em outra concretização, a composição
25 é um alimento ou suplemento de dieta formulado para consumo humano e é administrado ou consumido por um ser humano com o fim de melhorar a longevidade. A formulação é administrada em uma base regular, que, em uma concretização é de pelo menos uma vez ao dia. Em determinadas concretizações, a formulação é administrada como parte de um regime de dieta
30 diário por pelo menos cerca de uma semana, ou pelo menos cerca de um mês, ou pelo menos cerca de três meses ou mais, até a duração da vida do animal.

As composições da invenção podem ser administradas aos indivíduos por qualquer de uma variedade de vias de administração alternativas. Tais vias incluem, sem limitação, oral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intragástrica, transpilórica, subcutânea, retal e similares. Preferivelmente, as formulações de dieta ou composições são administradas oralmente. Conforme usado aqui, o termo "administração oral" ou "oralmente administrado" significa que o indivíduo ingere ou um ser humano é direcionado a se alimentar ou se alimenta, ou um animal, de uma ou mais das composições da invenção descritas aqui.

Quando um ser humano é instruído a alimentar um animal com a composição, tal instrução pode ser aquela que instrui e/ou informa o ser humano que o uso da composição pode e/ou proverá o benefício referido, por exemplo, a melhora da função cognitiva no animal. Tal instrução poderá ser uma instrução oral (por exemplo, através da instrução oral de um médico, veterinário ou outro profissional de saúde, ou através do rádio ou televisão (isto é, por uma propaganda), ou instruções escritas (por exemplo, através de instrução escrita por exemplo, de um médico, veterinário ou outro profissional de saúde (por exemplo, prescrição), profissionais de venda ou organização (por exemplo, através de anúncios, panfletos ou outros papéis de instruções), meios escritos (por exemplo, pela Internet, correio eletrônico ou outros meios relacionados ao computador) e/ou embalagem associada à composição (por exemplo, um rótulo presente no recipiente que contém a composição).

A administração pode ser em uma base quando necessária ou caso desejado, por exemplo, uma vez ao mês, uma vez por semana, diariamente ou mais de uma vez ao dia. De modo similar, a administração pode ser feita em dias intercalados, semanas, meses e mesmo de três em três dias, ou semanas, ou meses, a cada quatro dias, semanas, ou meses e similares. A administração pode ser realizada várias vezes ao dia. Quando utilizado como um suplemento aos requisitos dietéticos comuns, a composição pode ser administrada diretamente ao animal ou de outra forma contatada ou administrada com o alimento diário. Quando utilizada como um alimento

diário, a administração será bem-conhecida dos versados na técnica comum.

A administração também pode ser realizada como parte de um regime de dieta para o animal. Por exemplo, um regime de dieta pode compreender a ingestão regular pelo animal de uma composição compreendendo, pelo menos três ingredientes que aperfeiçoam a longevidade, em uma quantidade eficaz para aumentar a longevidade no animal. A ingestão regular pode ser uma vez, duas, três, quatro ou mais vezes ao dia, em uma base diária. O objetivo da ingestão regular é fornecer ao animal uma dose diária preferida dos ingredientes que aperfeiçoam a longevidade, conforme exemplificado aqui.

A dose diária das composições da invenção pode ser medida em termos de gramas de antioxidantes, agentes antiglicação, redutores do peso corpóreo ou gordura corpórea, promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose no sangue em níveis baixos ou agentes antiinflamatórios por kg de peso corpóreo (BW) do animal, conforme exemplificado aqui.

De acordo com os métodos da invenção, a administração das composições da invenção, incluindo administração como parte de um regime de dieta, pode ter um intervalo de tempo variando da gestação através da vida adulta do animal.

Os exemplos que se seguem são providos para descrever a invenção em maiores detalhes. Eles se destinam a ilustrar e não a limitar a invenção.

Exemplo 1

O protocolo de alimentação teve onze meses de duração. Camundongos com quinze meses de vida [C57B1/6] foram alimentados com 24 g/semana [AIN-93M - American Institute of Nutrition (AIN) de fórmula de dieta purificada para manutenção de roedores maduros] (exceto para o grupo de calorías restritas conforme especificado abaixo, que foi alimentado com 18 g/semana por onze meses. Os tratamentos consistiram na suplementação do protocolo de alimentação básica com um ou mais dentre os três coquetéis que se seguem:

Coquetel I:

Composto Dose (mg/kg de dieta)

	d-alfa-tocoferol	500
	Carotenóides mistos naturais	50
5	Selenometionina (39% selênio)	0,2 selênio
	Ácido ascórbico (vitamina C)	450
	Licopeno	50

Coquetel II:

Composto Dose

10	<u>(mg/kg dieta a menos que de outra forma declarado)</u>	
	Tripicolinato de cromo	0,5
	Extrato de semente de uva	250
	Monometionato de zinco	15 mg/kg zinco elementar (78 mg/kg Zn metionina)
15	CLA (65%)	7,7 g/kg
	L-carnitina	490
	Acetil-L-carnitina	103
	Carnosina	500

Coquetel III:

20 Composto Dose(mg/kg dieta a menos que de outra forma declarado)

	Óleo de peixe	26,5 g/kg
	Extrato de curcumina	500

O projeto do protocolo foi como se segue:

25	<u>Grupo</u>	<u>Abreviatura</u>	<u>Tamanho W</u>	<u>Tratamento</u>
	1	201 LA (Dieta A)	15	Coquetel I
	2	201 LB (Dieta B)	15	Coquetéis I e II
	3	201 LC (Dieta C)	15	Coquetéis I e III
	4	201 LD (Dieta D)	15	Coquetéis I, II e III
30	5	201 LE (Dieta E)	15	Nenhum coquetel (controle negativo)
	6	201 LF (Dieta F)	15	Restrição de caloria

<u>Grupo</u>	<u>Abreviatura</u>	<u>Tamanho W</u>	<u>Tratamento</u>
--------------	--------------------	------------------	-------------------

(CR) (controle positivo)

Quando do término do protocolo de alimentação de onze meses, todos os animais que sobreviveram foram sacrificados. As avaliações foram feitas com relação aos aspectos fenotípicos, parâmetros bioquímicos e perfis de expressão gênica do músculo, tecido adiposo e linfócito, conforme descrito nos exemplos que se seguem. O músculo foi selecionado como uma fonte de amostra em razão de um tecido pós-mitótico no qual as células não se renovarão. Como tal, esse tecido refletiria a lesão relacionada ao envelhecimento e alterações associadas na expressão gênica. Os linfócitos foram selecionados como uma fonte de amostra alternativa, em razão da acessibilidade desse tecido, sem o uso de procedimentos invasivos, tais como, biópsia. O tecido adiposo foi examinado em razão do efeito pronunciado de determinados tratamentos, a saber, dietas contendo Coquetel II no teor da almofada de gordura dos camundongos.

Exemplo 2

Os pesos corpóreos dos animais foram medidos semanalmente durante o protocolo de onze meses. Os resultados são mostrados na figura 1. Conforme pode ser visto, os pesos corpóreos totais mais altos foram mantidos pelo grupo de controle (Dieta E), com manutenção de peso corpóreo similar pela Dieta A (Coquetel I) e Dieta C (Coquetel I e III). Uma queda inicial pronunciada no peso corpóreo foi vista nos animais da Dieta F (CR); contudo, ao final do protocolo, pesos similarmente reduzidos foram vistos nos animais alimentados com as Dietas B (Coquetel I e II), D (Coquetel I, II e III) e F (CR).

A figura 2 mostra alterações no peso corpóreo, peso da carcaça desnudada e peso da almofada de gordura dos animais nos onze meses do protocolo de alimentação. As maiores alterações foram observadas nos animais alimentados com as Dietas B (Coquetel I e II), D (Coquetel I, II e III) e F (CR). A maior parte dessas alterações foram em razão da diminuição no peso da almofada de gordura (figura 2, painel inferior).

As taxas de sobrevivência dos animais no protocolo são mostra-

das na Tabela 2-1 a seguir.

Tabela 2-1

	Dieta A (Coquetel I)	Dieta B (Coquetel I e II)	Dieta C (Coquetel I e III)	Dieta D (Coquetel I, II e III)	Dieta F (CR)	Dieta E(sem tratamento)
Número de camundongos no início	15	15	15	15	15	15
Número de camundongos em onze meses	10	11	9	9	12	7
Taxa de sobrevivência	66,7%	73,3%	60,0%	60,0%	80,0%	46,7

Sumário:

5 Nesse protocolo de alimentação, as combinações de nutriente contendo o coquetel II resultaram no peso do corpo e gordura corpórea significativamente inferior em comparação aos camundongos de controle e todos os outros tratamentos, incluindo CR. A massa corpórea magra era similar aquela dos camundongos tratados com CR.

10 A CR resultou em uma taxa de sobrevivência mais alta (80%), seguido pela Dieta B (coquetéis I+II, 73%). Os camundongos de controle tiveram taxa de sobrevivência mais baixa (46%). Devido ao tamanho de amostra pequeno, não foi determinado se CR ou coquetéis I+II tiveram impacto estatisticamente significativo na longevidade.

Exemplo 3

15 Uma vez que a peroxidação lipídica é um indicador do estresse oxidativo nas células e tecidos, os efeitos da CR e as várias dietas na peroxidação lipídica no músculo foram avaliados. Os níveis de subprodutos de peroxidação de ácido graxo de malondialdeído (MDA) e 4-hidroxicenais (4-HDA) foram determinados no músculo dos camundongos que consumiram
20 as Dietas de coquetel A-D, bem como nos jovens (5 meses de idade) e ca-

mundongos velhos (26 meses de idade) alimentados com a dieta de controle AIN-93M e camundongos alimentados com a dieta CR (Dieta F). Conforme mostrado na figura 3, foi verificado que os camundongos alimentados com o coquetel da Dieta C (Coquetel I + III) exibiram níveis altos de peroxidação lipídica. Os níveis de peroxidação lipídica nesses camundongos se aproximaram muito dos níveis observados nos camundongos velhos alimentados com a dita de controle AIN-93M. Em contraste, os animais alimentados com as Dietas A (Coquetel I), B (Coquetel I + II, $p < 0,05$), e D (Coquetel I + II + III, $p < 0,05$) demonstraram níveis menores de peroxidação lipídica, em relação aos camundongos velhos. Na realidade, os níveis de peroxidação lipídica nos camundongos consumindo Dietas A, B, e D se aproximaram mais dos níveis de peroxidação observados nos camundongos jovens. Deve ser observado que os camundongos alimentados com as Dietas A, B, e D exibiram níveis menores de peroxidação lipídica em relação aos camundongos alimentados com a Dieta CR, e Dietas B ($P < 0,05$) e D ($p < 0,05$) produziram níveis menores de peroxidação lipídica, em relação aos níveis observados nos camundongos jovens. As Dietas A, B ($p < 0,05$), e D ($p < 0,05$) produziram níveis menores de peroxidação lipídica, em relação aos camundongos alimentados com CR e Dietas B ($p < 0,05$) e D ($p < 0,05$) produziram níveis menores de peroxidação lipídica, em relação aos camundongos jovens.

Exemplo 4

Análises de microfileira foram realizadas para determinar genes que foram afetados significativamente pelo envelhecimento no músculo e para determinar os efeitos da restrição calórica e as várias combinações de nutrientes na expressão tais genes. O conjunto de Expressão de Camundongo Affymetrix GeneChip® 430A (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA), contendo grupamentos de seqüência criados a partir da base de dados da UniGene (Build 107, Junho de 2002, National Center for Biotechnology Information) foi analisado usando Software Operacional da Affymetrix GeneChip®. Os dados foram normalizados e a base foi subtraída das análises.

Os genes submetidos à análise de dados em microfileira foram selecionados de acordo com os critérios que se seguem: 1) genes que não

foram detectados nos camundongos jovens (5 meses de idade) foram removidos; 2) diferenças significativas na intensidade de sinal em camundongos jovens versus camundongos velhos, conforme determinado pelo teste t de Student (valor p de $< 0,05$ ou $< 0,01$ (duas distribuições de cauda); e 3) alterações na intensidade de sinal: $\geq 1,2$ e $\leq -1,2$ na intensidade (correspondendo a 20% de supra ou infra-regulação nos camundongos envelhecidos em relação aos novos).

Os efeitos dos vários regimes de dietas foram então avaliados para os genes selecionados. Os camundongos foram alimentados com cada uma das Dietas A-F conforme descrito no Exemplo 1. Se uma dada dieta produziu um efeito preventivo no envelhecimento essa era avaliada em termos de intensidade de sinal na microfileira. A fórmula que se segue foi usada para determinar o efeito preventivo de cada dieta: $\{100 - [(jovem - tratamento) \times 100 / (jovem - velho)]\}$.

De acordo com essa fórmula, para um dado gene, se os efeitos observados para um dado regime de dieta se iguallassem aos efeitos observados nos camundongos jovens, então a formulação de dieta preveniria a alteração induzida pela idade naquele gene em 100%. Se os efeitos observados para um dado regime de dieta fossem maiores que os efeitos observados nos camundongos jovens, então a formulação de dieta preveniria mais de 100% da alteração associada à idade na expressão gênica. Se os efeitos observados para um dado regime de dieta fossem inferiores aos efeitos observados nos camundongos jovens, porém superiores aos efeitos observados nos camundongos velhos, então a formulação de dieta preveniria parcialmente as alterações induzidas pela idade na expressão gênica. Se os efeitos observados para um dado regime de dieta fossem inferiores aos efeitos observados nos camundongos velhos, então o regime de dieta seria considerado como acelerando as alterações induzidas pela idade na expressão gênica.

A alteração gênica na intensidade de sinal para todos os genes selecionados do tecido muscular do camundongo foi calculada para camundongos alimentados com cada uma das dietas experimentais em relação aos

camundongos velhos e os resultados são apresentados na figura 4. Toda as dietas de coquetel preveniram, parcialmente, as alterações relacionadas à idade na expressão gênica do tecido muscular, em relação aos camundongos velhos. Embora as Dietas B (Coquetel I + II) e C (Coquetel I + III) tenham produzido uma média ligeiramente inferior a 30% de prevenção, as Dietas A (Coquetel I) e D (Coquetel I + II + III) produziram uma média ligeiramente superior a 30% de prevenção. Foi observado que os animais alimentados com a Dieta F (regime de dieta CR) produziram mais de 40% de prevenção das alterações induzidas pela idade na expressão gênica.

- 10 O número de genes do tecido muscular no qual as dietas experimentais exercem um efeito estatisticamente significativo ($p < 0,01$) é apresentado na Tabela 4-1.

Tipo do Gene	Número
Proteínas reguladoras da apoptose	4
Proteínas de adesão celular	12
Proteínas reguladoras do ciclo celular/crescimento celular	23
Proteínas de organização do cromossoma	4
Proteínas do desenvolvimento/diferenciação celular	13
Proteínas de metilação do DNA	3
Proteínas de reparo do DNA/replicação do DNA	7
Proteínas do metabolismo energético	22
Proteínas do metabolismo hormonal	5
Proteínas de resposta inflamatória	20
Proteínas do metabolismo geral	10
Fatores neuronais	3
Fosforilação da proteína/proteínas de modificação da proteína	15
Proteínas de síntese da proteína	16
Proteínas de transporte da proteína	16
Proteínas de metabolismo do RNA	7
Proteínas de transdução de sinal	22
Proteínas de resposta ao estresse	30

Tipo do Gene	Número
Proteínas estruturais	24
Fatores de transcrição	34
Proteínas de transporte	16
Outras funções	17
Funções desconhecidas	108
Efeitos gerais das Dietas (número total de genes)	431

Alterações no corpo que conduziram ao envelhecimento e doenças relacionadas ao envelhecimento incluem apoptose induzida por estresse aumentado, inflamação aumentada, estresse oxidativo aumentado, via de inulina-IGF-1 comprometida e sensibilidade à insulina comprometida. Conseqüentemente, a restrição calórica e as várias dietas experimentais descritas aqui foram avaliadas quanto aos seus respectivos efeitos nos genes específicos relacionados a essas alterações.

A figura 5 mostra os efeitos preventivos da CR e dos coquetéis de dieta nas alterações gênicas de apoptose induzidas pelo envelhecimento nos músculos dos camundongos. Todas dietas de coquetel demonstraram um efeito mensurável nos genes relacionados à apoptose no tecido muscular em relação aos camundongos velhos.

Os efeitos da CR e dos coquetéis de dieta também foram avaliados para os genes específicos relacionados à apoptose. Conforme mostrado na Tabela 4-2 abaixo, a CR e os coquetéis de dieta exerceram efeitos preventivos no aumento induzido por envelhecimento nos genes relacionados à apoptose. De modo similar, conforme mostrado na Tabela 4-3, a CR e os coquetéis de dieta exerceram efeitos preventivos na diminuição induzida pelo envelhecimento nos genes relacionados à apoptose.

20 Tabela 4-2:

Efeitos preventivos (%) no aumento induzido por envelhecimento em genes relacionados à apoptose

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Ciclina L2 (inibição do	86	51	48	78	82

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
crescimento celular tumoral, promoção da apoptose)					
Delta Sleep induzindo imunoreator de peptídeo (Dsip 1)	47	-29	55	-77	86
Proteína ativada por mitógeno, cinase cinase 7 (Map2K7)	47	94	70	51	36
Promotor de extermínio associado à Bcl (Bad)	-23	1	21	87	68
Gene de adenoma pleimórfico similar à 1 (Plag 1 1)	-6	89	3	115	83

Tabela 4-3:

Efeitos preventivos (%) na diminuição induzida por envelhecimento nos genes relacionados à apoptose.

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Clusterina (sCLU: citoprotetora, n-CLU-pró-apoptose)	23	23	-17	4	55
Precursor da proteína de ligação B-amilóide	36	29	55	38	25

5 Em seguida, os efeitos preventivos de CR e dos coquetéis de dieta nas alterações gênicas da resposta de estresse relacionada ao enve-

lhhecimento foram avaliados nos músculos dos camundongos, os resultados sendo mostrados na figura 6. A resposta ao estresse aumentada no envelhecimento no tecido muscular inclui expressão aumentada de proteínas induzíveis de choque térmico, aumento na expressão gênica induzível de lesão de DNA e aumento da expressão gênica induzível de estresse oxidativo. Todas as dietas de coquetel demonstraram um efeito mensurável nos genes de resposta de estresse relacionados à idade no tecido muscular em relação aos camundongos velhos (figura 6).

Os efeitos da CR e dos coquetéis de dieta também foram avaliados para os genes de resposta de estresse específica no músculo. A tabela 4-4 mostra os efeitos preventivos da CR e dos coquetéis de dieta no aumento induzido pelo envelhecimento nas proteínas de choque térmico. A tabela 4-5 mostra os efeitos preventivos da CR e dos coquetéis de dieta no aumento induzido pelo envelhecimento nos genes que induzem lesão ao DNA. A tabela 4-6 mostra os efeitos preventivos da CR e dos coquetéis de dieta no aumento induzido por envelhecimento nos genes induzíveis da tensão oxidativa. A tabela 4-7 mostra os efeitos preventivos de CR e dos coquetéis de dieta no aumento induzido por envelhecimento nos genes relacionados ao estresse, de modo geral.

20 Tabela 4-4:

Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel no aumento induzido por envelhecimento em HSP.

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Proteína 4 do Choque Térmico (HSP70)	24	36	57	31	45
Proteína 1 do choque térmico, beta (Hsp84 ou Hsp84-1 ou Hsp90)	37	54	31	14	41
Proteína 2 do choque térmico (Proteína do choque térmico de 27 kDa)	59	34	40	31	56

Tabela 4-5:

Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel no aumento induzido por envelhecimento nos genes que induzem lesão ao DNA

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Homólogo de PRP19/PSO4 (DSB reparo de DNA)	38	75	45	69	8
Proteína 1 de ligação de DNA específica para lesão (Ddbp1)	15	8	-6	-16	42
Proteína 2 de ligação de DNA específica para lesão (Ddbp2) (reparo genômico global/reconhecimento de lesão/reparo de não combinação/supressor de tumor)	76	54	12	96	46
Fator nuclear I/C (replicação de DNA)	149	69	-146	5	96

Tabela 4-6:

- 5 Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel no aumento induzido por envelhecimento nos genes induzíveis de estresse oxidativo

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Glutathiona peroxidase 4 (PHGPx)	34	36	25	61	53
Proxiredoxina 1 (tioredoxina peroxidase 2)	59	44	30	21	52
Proteína de interação da tioredoxina	95	82	82	58	123
Glutathiona reductase 1 (Grs)	47	25	46	33	54
Xantina desidrogenase	61	41	75	79	72

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Proteína cinase cinase ativada por mitógeno (Map2k7)	47	94	70	51	36

Tabela 4-7:

Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel no aumento induzido por envelhecimento nos genes relacionados ao estresse

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Proteína de ligação de RNA induzível de resfriado (supressão induzida por resfriado da proliferação celular)	50	77	13	60	99
Fator de biogênese peroxisomal 11b (organização do peroxisoma e biogênese)	66	64	61	38	92
Repetição de tetra-tricopeptídeo rico em glutamina pequena (TPR)-contendo alfa (co-chaperona que se liga ao HSC70 e HSP70 e regula a atividade de ATPase)	78	33	-50	-25	99

Em seguida, os efeitos preventivos da CR e os coquetéis de dieta nas alterações dos genes na resposta inflamatória relacionada à idade foram avaliados do músculo dos camundongos, os resultados sendo mostrados na figura 7. Todas as dietas de coquetel demonstraram um efeito mensurável nos genes de resposta ao estresse relacionados ao envelhecimento no tecido muscular em relação aos camundongos velhos.

10

Os efeitos da CR e dos coquetéis de dieta também foram avalia-

- dos quanto aos genes de resposta inflamatória específica no músculo. Conforme mostrado na Tabela 4-8 a seguir, a CR e os coquetéis de dieta exerceram efeitos preventivos no aumento induzido por envelhecimento nos genes relacionados à inflamação/imune.
- 5 na Tabela 4-9, a CR e os coquetéis de dieta exerceram efeitos preventivos na diminuição induzida pelo envelhecimento nos genes relacionados à inflamação/imune.

Tabela 4-8:

- Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel no aumento induzido por envelhecimento nos genes relacionados à inflamação/imune
- 10

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Proteína Ubiquitina Tiolesterase (O-TUB1)	89	11	3	-49	80
Proteína de ligação de elemento promotor do núcleo	46	14	50	24	79
Antígeno CD59a (inibidor potente da ação complexa de ataque da membrana complementar)	49	78	92	110	54

Tabela 4-9:

- Efeitos preventivos (%) da CR e dietas de coquetel na diminuição induzida pelo envelhecimento nos genes relacionados à inflamação/imune

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
Proteína 1 de ligação da seqüência de consenso do	24	23	4	12	22

	Dieta A (I)	Dieta B (I + II)	Dieta C (I + III)	Dieta D (I + II + III)	Dieta F (CR)
interferon (Icsbp 1)					
Interleucina 16	30	26	-8	-2	-15
Antígeno CD790B	43	66	-14	31	-20
Precursor de citocina B13 induzível pe- que- na,(CxClI3)	116	116	-12	120	98
Antígeno CD79A (CD79a)	39	70	-7	39	-7
Receptor Fc, IgE, baixa afi- nidade II, poli- peptídeo alfa	-6	14	-8	2	-20
Receptor de complemento 2	41	38	-48	-10	-10
Precursor da proteína 2 relacionado à uteroglobina (família da secretoglobina 3A, elemento 1, proteína antiinflamató- ria)	5	25	31	46	36
Receptor da imunoglobuli- na polimérica	-46	7	-38	-10	32

Os resultados dos efeitos totais da idade, CR e das várias formulações de dieta descritos aqui na expressão do substrato de receptor de insulina 1 (IRS-1) foram também avaliados. As intensidades de sinal de IRS-1 foram determinadas na microfileira para tecido muscular do camundongo, em camundongos alimentados com cada uma das dietas de coquetel e em

camundongos alimentados com um regime de dieta de restrição calórica, e foram comparados às intensidades de sinal IRS-1 no tecido muscular a partir de camundongos jovens e velhos de controle (figura 8). Os camundongos alimentados com coquetéis das Dietas A (I), C (I + III), e D (I + II + III) mostraram as intensidades de sinal mais baixas para IRS-1, que estavam apenas ligeiramente acima das intensidades de sinal para IRS-1 observadas nos camundongos de controle velhos. Os camundongos alimentados com a Dieta B de coquetel (I + II) mostraram a intensidade de sinal maior entre as dietas de coquetel, que estava ligeiramente abaixo da intensidade de sinal observada nos camundongos jovens de controle. Os camundongos da Dieta F (CR) demonstraram a maior intensidade de sinal, que foi determinada como sendo superior à intensidade de sinal observada nos camundongos jovens de controle.

Os efeitos preventivos da CR e dos coquetéis de dieta na redução induzida pelo envelhecimento da expressão muscular de IRS-1 foram avaliados no músculo dos camundongos, conforme mostrado na figura 9. Consistente com os resultados observados na intensidade de sinal IRS-1 (figura 8), os camundongos alimentados com os coquetéis das Dietas A (I), C (I + III), e D (I + II + III) mostraram os menores efeitos preventivos contra redução induzida por envelhecimento na expressão de IRS-1 (figura 9). Os camundongos alimentados com coquetel B (I + II) demonstraram os efeitos preventivos mais fortes contra redução na expressão de IRS-1 entre as dietas de coquetel testadas. Os camundongos alimentados com o regime de dieta CR demonstraram um efeito preventivo significativamente maior em relação aos camundongos alimentados com coquetel, o que de fato, foi maior que o efeito observado nos controles jovens.

Sumário:

A restrição calórica exerceu mais de 40% de prevenção das alterações induzidas pela idade na expressão gênica e retardou, parcialmente, as alterações induzidas pelo envelhecimento em muitas vias que estão envolvidas no processo de envelhecimento e doenças relacionadas ao envelhecimento, por exemplo, genes da apoptose, genes relacionados ao estres-

se, reparo do DNA e expressão gênica relacionada à inflamação, e preveniram completamente a diminuição induzida pelo envelhecimento na expressão do genes relacionado à sinalização de insulina no tecido muscular do camundongo. Todas dietas de coquetel também preveniram, parcialmente, as alterações relacionadas à idade na expressão gênica do tecido muscular com relação aos camundongos velhos. As Dietas B (Coquetel I + II) e C (Coquetel I + III) produziram uma média de ligeiramente mais de 30% de prevenção, as Dietas A (Coquetel I) e D (Coquetel I + II + III) produziram uma média ligeiramente superior a 30% de prevenção. Além disso, as combinações de nutrientes descritas aqui reverteram parcialmente algumas das alterações induzidas pelo envelhecimento em muitas vias que estão envolvidas no processo de envelhecimento e doenças relacionadas ao envelhecimento, por exemplo, genes de apoptose, genes relacionados ao estresse, reparo do DNA e expressão gênica relacionada à inflamação. O Coquetel I sozinho demonstrou algum efeito preventivo na diminuição da expressão de IRS-1 induzida pelo envelhecimento. Os coquetéis I + II demonstraram efeitos preventivos maiores na diminuição da expressão gênica de IRS-1 induzida por envelhecimento, em relação ao coquetel I sozinho.

Exemplo 5

20 Análises de microfileira foram realizadas para determinar genes que foram afetados significativamente pelo envelhecimento nos linfócitos e para determinar os efeitos da restrição calórica e das várias combinações de nutrientes na expressão de tais genes. Conjunto de Expressão de Camundongo Affymetrix GeneChip® 430A (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA), contendo grupamentos de seqüência criados da base de dados da UniGene (Build 107, Junho de 2002 (National Center for Biotechnology Information) foram analisados usando Software Operacional Affymetrix GeneChip®, conforme descrito no Exemplo 4. Os genes submetidos à análise de dados de microfileira foram selecionados de acordo com os critérios estabelecidos no Exemplo 4, como foi a avaliação dos efeitos dos vários regimes de dieta nos genes selecionados.

A alteração média na intensidade de sinal para todos os genes

selecionados do tecido muscular do camundongo foi calculada para os camundongos alimentados com cada uma das dietas experimentais em relação aos camundongos velhos e os resultados são apresentados na Tabela 5-1.

5 Tabela 5-1:

Prevenção (%) de alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica nos linfócitos por CR ou dieta

Função	(número de genes afetados)	Dieta A (I)/Velhos	Dieta B (I+II)/Velhos	Dieta C (I+III)/Velhos	Dieta D (I+II+III)/Velhos	Dieta F CR/Velhos
Ciclo celular/crescimento celular	(7)	43	35	49	94	42
Biossíntese da proteína	(11)	26	22	14	24	24
Transporte de proteína	(8)	27	28	21	30	35
Metabolismo de RNA	(13)	43	62	51	55	48
Transdução de sinal	(11)	33	33	32	22	37
Desconhecido	(37)	41	46	39	45	37
Total	(127)	37	42	36	43	37

Conforme pode ser visto da Tabela 5-1, todas dietas de coquetel, bem como da CR, preveniram as alterações relacionadas à idade na expressão gênica do linfócito, em relação aos camundongos velhos. As Dietas A, (Coquetel I), C (Coquetel I + III) e F (CR) produziram uma média ligeiramente inferior a 40% de prevenção, as Dietas B (Coquetel I + II) e D (Coquetel I + II + III) produziram uma média ligeiramente superior a 40% de preven-

ção.

Exemplo 6

5 Análises de microfileira foram realizadas para determinar genes que foram afetados significativamente pelo envelhecimento no tecido adipo-
so e para determinar os efeitos da restrição calórica e das várias combina-
ções de nutrientes na expressão de tais genes. Conjunto de Expressão de
10 Camundongo Affymetrix GeneChip® 430A (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA),
contendo grupamentos de seqüência criados da base de dados da UniGene
(Build 107, Junho de 2002, National Center for Biotechnology Information)
foram analisados usando Software Operacional Affymetrix GeneChip®, con-
forme descrito no Exemplo 4. Os genes submetidos à análise de dados de
microfileira foram selecionados de acordo com os critérios estabelecidos no
Exemplo 4, como foi a avaliação dos efeitos dos vários regimes de dietas
nos genes selecionados.

15 A figura 10 mostra um Sumário das alterações relacionadas à idade na expressão gênica do tecido adiposo. Conforme pode ser visto, 643 genes, representando uma variedade de funções conhecidas e desconhecidas, exibiram níveis alterados de expressão nos camundongos velhos em comparação aos camundongos jovens ($p < 0,01$).

20 A influência da CR ou regime de dieta na expressão gênica relacionada ao envelhecimento, no tecido adiposo, é mostrada na figura 10 e na Tabela 6-1.

Tabela 6-1:

25 Sumário das Influências das dietas nas alterações relacionadas à idade na expressão gênica, no Tecido Adiposo (em $p < 0,01$ e $p < 0,05$)

		CR	Dieta A	Dieta B	Dieta C	Dieta D
Função	Enve- lhecimento	0,01/0,05	0,01/0,05	0,01/0,05	0,01/0,05	0,01/0,05
Metabo- lismo do aminoá- cido	6	0/1	2/2	2/3	2/3	1/2
Angio-	5	2/3	0/0	0/3	0/1	0/2

gênese						
Apoptose	25	6/11	3/10	4/8	4/8	2/8
Adesão celular	17	4/5	1/5	5/8	3/4	2/6
Crescimento celular e/ou manutenção	36	10/15	3/11	6/10	5/15	9/13
Proliferação celular	27	6/11	3/6	6/13	1/4	3/8
Transporte de elétrons e síntese de ATP	3	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0
Remodelação da matriz extracelular	5	0/1	0/0	1/1	0/0	0/1
Resposta imune e inflamação	32	11/15	3/7	6/16	3/6	5/9
Metabolismo, carboidrato	10	2/3	1/2	2/3	0/1	3/4
Metabolismo, ácido graxo	3	0/2	0/1	2/2	0/1	2/2
Metabolismo, lipídeo	17	1/6	2/3	5/7	0/3	5/8
Metabolismo do ácido	16	6/8	3/6	1/7	3/6	1/1

nucléico						
Degradação da proteína	7	2/4	5/7	0/1	3/5	0/3
Metabolismo da proteína	28	9/19	4/9	6/10	6/9	6/11
Modificação da proteína	11	3/4	5/8	2/5	4/6	2/2
Síntese da proteína	6	0/2	2/3	1/4	1/1	0/1
Resposta aos estímulos externos	5	0/0	1/1	1/1	1/2	1/2
Resposta à transdução de sinal do estresse	20 55	6/9 15/24	2/6 11/18	3/8 11/20	1/4 8/18	4/6 10/14
Transcrição	62	12/30	6/8	9/19	6/10	7/17
Transporte	46	17/24	13/18	10/18	8/18	9/16
Desconhecido	118	25/51	16/36	20/46	18/39	22/43

Conforme pode ser visto da figura 11, a CR e cada uma das Dietas A-D (e uma combinação) preveniu determinadas porcentagens de alterações observadas com relação à idade na expressão gênica. A maior influência foi observada com a CR; contudo, influências significativas foram também observadas com cada uma das Dietas testadas. A tabela 6- provê um histórico do gene influenciado pela função.

As figuras 12-16 mostram análises diferentes dos dados. Nessas análises, a influência da CR ou de cada uma das quatro Dietas nas altera-

ções relacionadas à idade na expressão de genes específicos foi colocada em gráfico. Apenas os genes possuindo uma alteração relacionada à idade na expressão e uma alteração relacionada à CR ou a dita na expressão são mostrados. O eixo X de cada gráfico representa o aumento ou diminuição em vezes na expressão de um gene em camundongos velhos versus jovens. O eixo Y de cada gráfico representa o aumento ou diminuição em vezes na expressão gênica daquele gene como um resultado do tratamento (CR ou uma dentre as Dietas A-D). Assim, por exemplo, se um gene específico exibe um aumento de dez vezes na expressão em camundongos velhos versus jovens e exibe uma diminuição de seis vezes na expressão como um resultado do tratamento com dieta, aquele tratamento é dito como prevenindo ou impedindo a alteração relacionada à idade na expressão daquele gene específico. Conseqüentemente, os quadrantes superior esquerdo e inferior direito de cada gráfico mostrado nas figuras 12-16 representam genes cuja alteração relacionada à idade na expressão pode ser prevenida, pelo menos em parte, por uma intervenção de dieta. Em contraste, os quadrantes superior direito e inferior esquerdo de cada gráfico mostrado nas figuras 12-16 representa os genes cujas alteração relacionada à idade na expressão provavelmente não foi influenciada pela intervenção da dieta.

Conforme pode ser visto das figuras 12-16, do número de genes cuja expressão foi afetada pelo envelhecimento e pelos tratamentos de dieta respectivos, a grande maioria das alterações relacionadas à idade foi prevenida ou revertida, a uma extensão variada, pelo tratamento com a dieta. Esses resultados variaram de 68% (Deita D, Coquetéis I + II + III) a 97% (CR).

De modo a resumir os dados apresentados acima, foi observado que a CR preveniu o maior número de alterações associadas à idade na expressão gênica do tecido adiposo. As Dietas A, B, C e D também reduziram o desenvolvimento de muitas alterações associadas à idade na expressão gênica. Como um exemplo, foi observado que a expressão *Pltp* foi aumentada em todas as dietas, possivelmente devido à influência do Coquetel I, que estava presente em todas a dietas.

A proteína CD59a é conhecida como sendo um regulador do

complexo de ataque da membrana (cascada complementar). A expressão desse gene nos camundongos velhos versus jovens e como influenciada pelos regimes de dieta foi examinada. Os resultados são mostrados na figura 17. Conforme pode ser visto na figura, a expressão desse gene aumentou nos indivíduos velhos em 1,6 vezes em comparação aos indivíduos jovens. 5 Notavelmente, a CR e cada uma das Dietas A-D foram capazes de diminuir a expressão desse gene em comparação ao controle "velho" e, em alguns casos, mesmo abaixo do valor observado no controle "jovem".

A presente invenção não está limitada às concretizações descritas e exemplificadas acima, porém é capaz de sofrer variações e modificações dentro do escopo das reivindicações apensas. 10

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação de dieta compreendendo pelo menos três ingredientes, cada um dos quais se encontrando em uma categoria dentre as cinco diferentes dos ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem, pelo menos, um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica, em que as categorias são:
- 5
- (a) antioxidantes;
 - (b) agentes antiglicação;
 - (c) redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea;

10

 - (d) promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixa no sangue; e
 - (d) agentes antiinflamatórios.
2. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os antioxidantes são solúveis em água.
- 15
3. Formulação de acordo com a reivindicação 2, em que os antioxidantes solúveis em água incluem um ou mais dentre Vitamina C, polifenóis, proantocianidinas, antocianinas, bioflavonóides, uma fonte de selênio, ácido alfa-lipóico, glutathione, catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epigallocatequina, galato de epicatequina ou cisteína.
- 20
4. Formulação de acordo com a reivindicação 3, em que a fonte de selênio é pelo menos um dentre selenita de sódio, selenato de sódio ou L-selenometionina.
5. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os antioxidantes são solúveis em gordura.
- 25
6. Formulação de acordo com a reivindicação 4, em que os antioxidantes solúveis em gorduras incluem um ou mais dentre Vitamina E, gamma-tocoferol, alfa-caroteno, beta-caroteno, luteína, zeaxantina, retinal, astaxantina, criptoxantina, carotenóides mistos naturais, licopeno ou resveratrol.
7. Formulação de acordo com a reivindicação 1, contendo antioxidantes solúveis em gordura e solúveis em água.
- 30
8. Formulação de acordo com a reivindicação 6, em que os antioxidantes incluem Vitamina E, Vitamina C, carotenóides naturais, uma fonte

de selênio e licopeno.

9. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os agentes antiglicação incluem um ou mais dentre carnosina ou aminoguanidina.

5 10. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea incluem um ou mais dentre ácido linoléico conjugado, L-carnitina, acetil-L-carnitina, piruvato, ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos de cadeia média, triglicerídeos de cadeia média, ou isoflavonas de soja e seus metabólitos.

10 11. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixas no sangue incluem um ou mais dentre uma fonte de cromo, cinamono, extrato de cinamono, polifenóis de cinamono e hamamélia, extrato do grão de café, ácido clorogênico, ácido caféico, uma fonte de zinco, ou extrato de semente
15 de uva.

12. Formulação de acordo com a reivindicação 1, em que os agentes antiinflamatórios incluem um ou mais dentre uma fonte de ácidos graxos ômega-3 ou uma fonte de curcumina.

13. Formulação de acordo com a reivindicação 12, em que a
20 fonte de ácido graxo de ômega 3 é pelo menos um dentre ácido α -linolênico, ácido eicossapentenoico, ácido docossapentenoico, ácido docosahexaenóico, semente de linho, óleo de linho, nozes, óleo de canola, germe de trigo, ou óleo de peixe.

14. Formulação de acordo com a reivindicação 12, em que a
25 fonte de curcumina é (1,7-bis-(4-hidróxi-3 metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona; 1,7-bis-(4-hidroxifenil)-hepta-1,6-dieno-3,5-diona), desmetoxicurcumina ou bisdesmetoxicurcumina.

15. Formulação de acordo com a reivindicação 1, compreendendo
30 pelo menos um inibidor de lesão por glicação, pelo menos um redutor de peso corpóreo e gordura; e pelo menos um promotor de sensibilidade alta à glicose e baixo teor de insulina/glicose no sangue.

16. Formulação de acordo com a reivindicação 15, compreendendo, adicionalmente, pelo menos um antioxidante.

17. Formulação de acordo com a reivindicação 16, compreendendo, adicionalmente, pelo menos um agente antiinflamatório.

5 18. Formulação de acordo com a reivindicação 1, compreendendo pelo menos um antioxidante e pelo menos um agente antiinflamatório.

19. Composição, que é um produto para alimentar animais de estimação, um suplemento de dieta ou um produto para alimento humano, compreendendo formulação como definida na reivindicação 1.

10 20. Composição de acordo com a reivindicação 19, que é um produto para alimentar animais de estimação ou suplemento de dieta formulado para consumo por um animal de estimação.

21. Composição de acordo com a reivindicação 20, em que o animal de estimação é cão ou gato.

15 22. Método para aumentar a longevidade em um animal, compreendendo administração ao animal, em bases regulares, de uma formulação de dieta compreendendo pelo menos três ingredientes, cada um dos quais se encontrando em uma categoria dentre uma das cinco diferentes de ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem pelo menos
20 um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica, em que as categorias são:

(a) antioxidantes;

(b) agentes antiglicação;

(c) redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea;

25 (d) promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixas no sangue; e

(e) agentes antiinflamatórios, em uma quantidade eficaz para aumentar a longevidade do animal.

30 23. Método de acordo com a reivindicação 22, em que o animal é um animal de estimação.

24. Método de acordo com a reivindicação 23, em que o animal é um cão ou gato.

25. Método de acordo com a reivindicação 22, em que a formulação de dieta faz parte do produto alimentício para animal ou um suplemento de dieta.

5 26. Método de acordo com a reivindicação 22, em que a formulação de dieta é administrada como parte de um regime de dieta selecionado de: uma vez ou mais por dia, uma vez ou mais por semana, ou uma vez ou mais por mês.

10 27. Uso de uma formulação de dieta na fabricação de uma composição para aumentar a longevidade em um animal, em que a formulação de dieta compreende pelo menos três ingredientes, cada um dos quais se encontrando em uma categoria dentre uma das cinco diferentes de ingredientes que aperfeiçoam a longevidade por mimetizarem pelo menos um efeito de promoção de longevidade de restrição calórica, em que as categorias são:

- 15 (a) antioxidantes;
(b) agentes antiglicação;
(c) redutores de peso corpóreo ou gordura corpórea;
(d) promotores de sensibilidade alta à insulina ou insulina ou glicose baixas no sangue; e
20 (e) agentes antiinflamatórios.

28. Uso de acordo com a reivindicação 27, em que o animal é um animal de estimação.

29. Uso de acordo com a reivindicação 28, em que o animal é um cão ou gato.

25 30. Uso de acordo com a reivindicação 27, em que a formulação de dieta faz parte de um produto alimentício para animais ou um suplemento de dieta.

30 31. Uso de acordo com a reivindicação 27, em que a formulação de dieta é administrada como parte de um regime de dieta selecionado de: uma vez ou mais por dia, uma vez ou mais por semana, ou uma vez ou mais por mês.

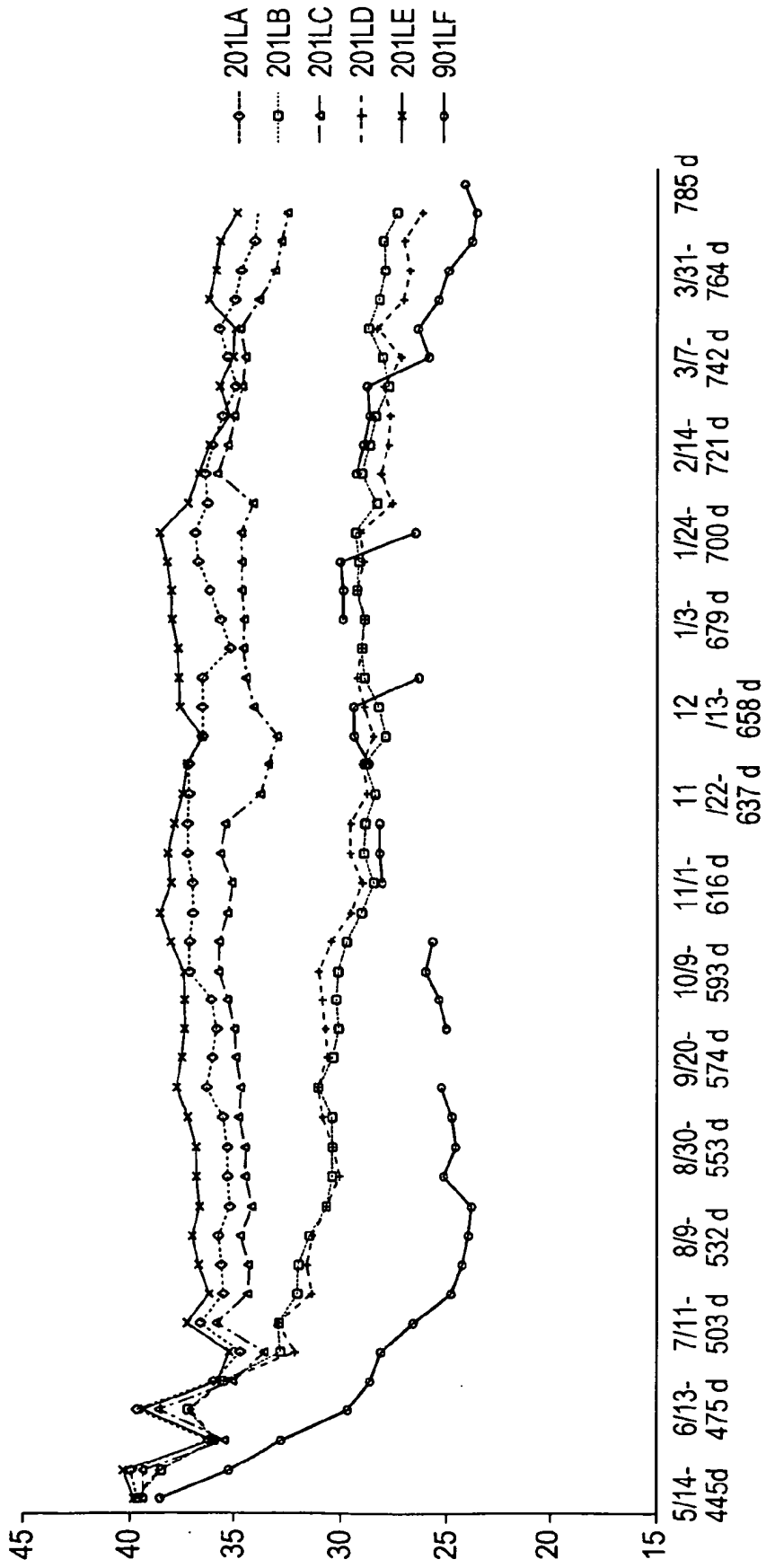


FIG 1

Alterações no peso corpóreo (BW), Peso da Carcaça Desnuda (SCW) e Peso Total da Almofada de Gordura (TFP) nos camundongos LifeGen após 11 meses de alimentação

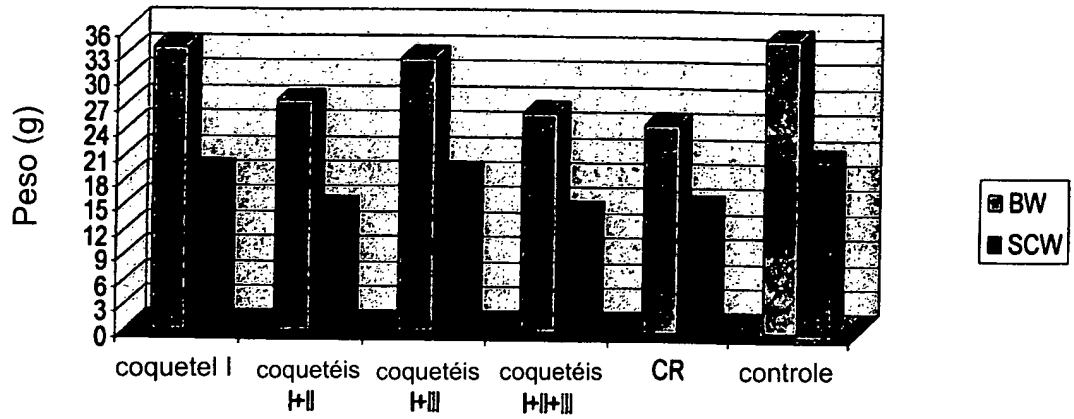


FIG 2A

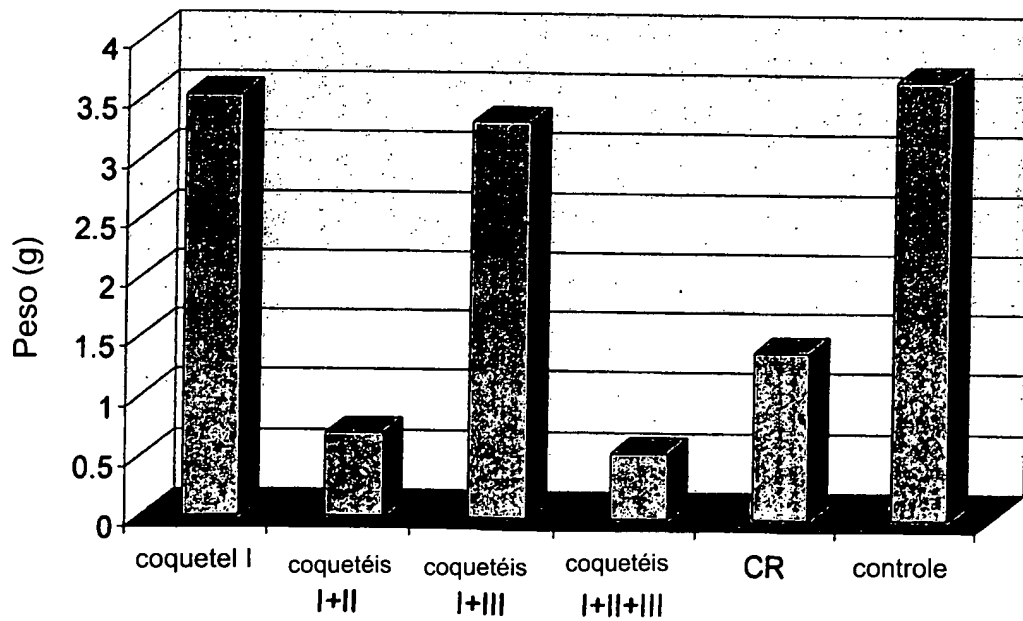


FIG 2B

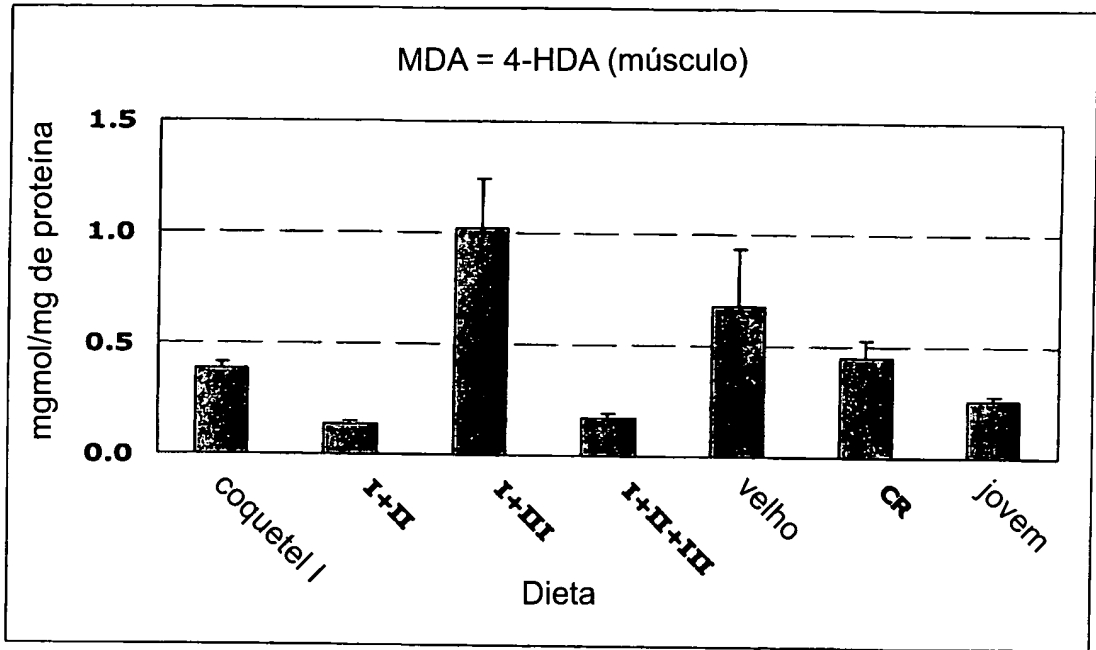


FIG 3

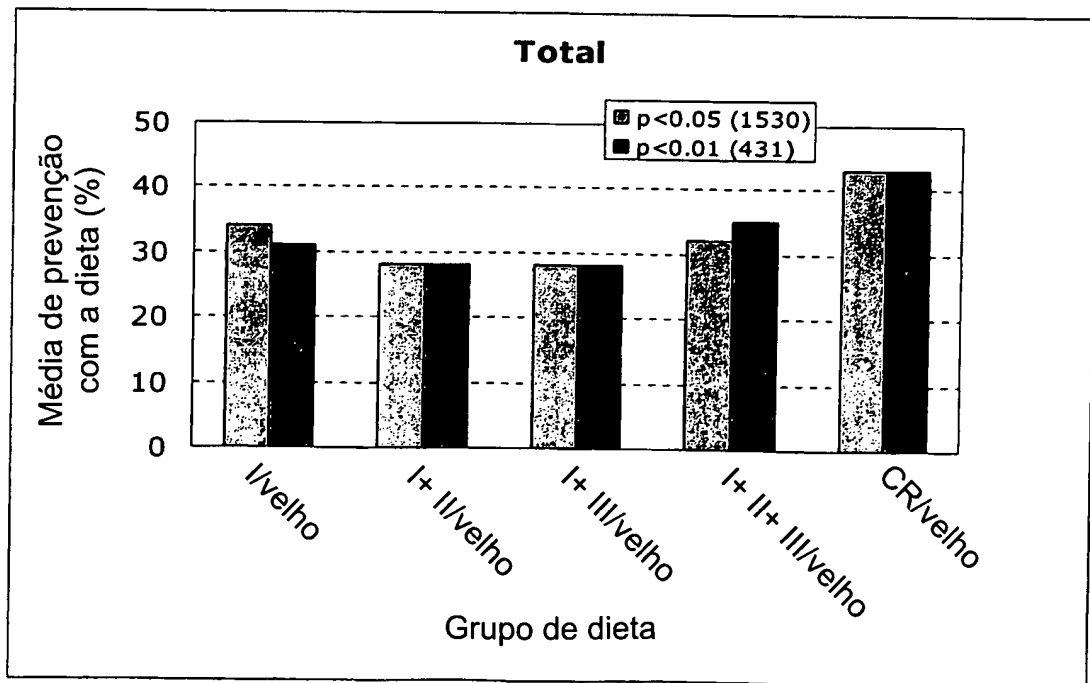


FIG 4

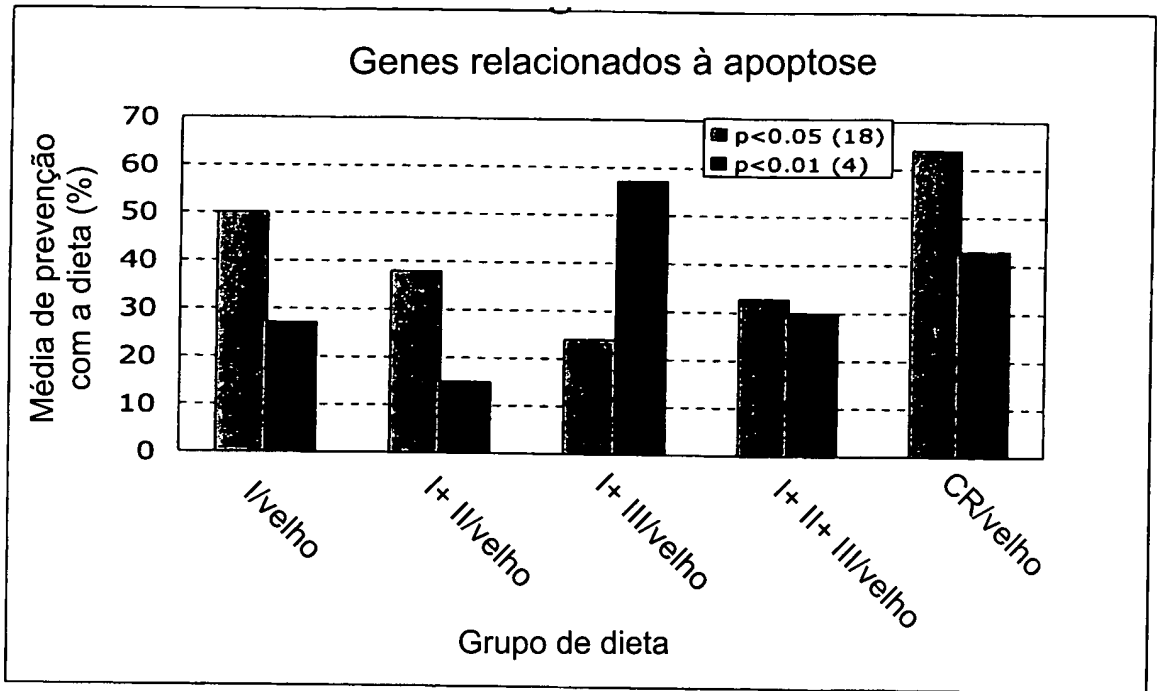


FIG 5

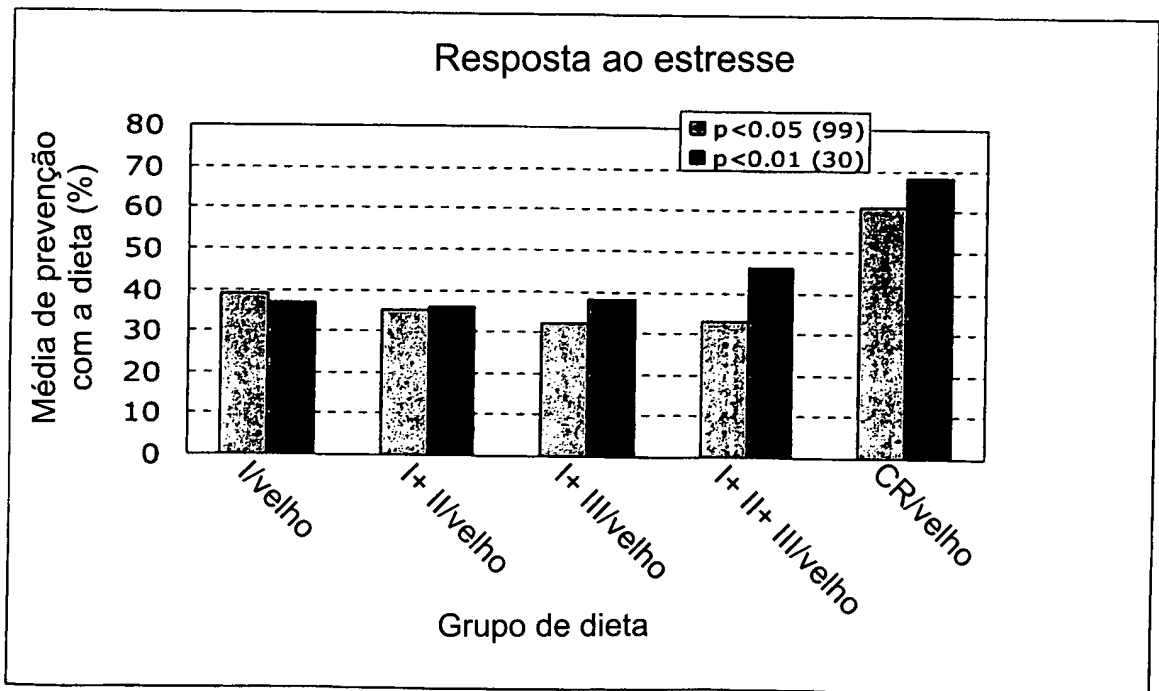


FIG 6

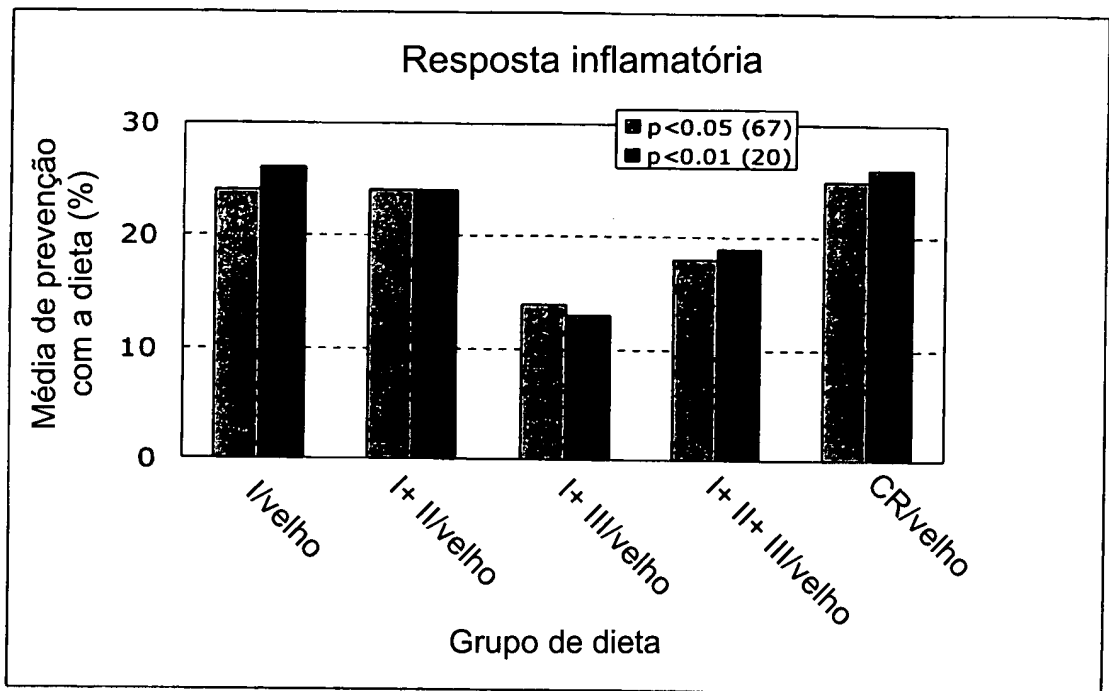


FIG 7

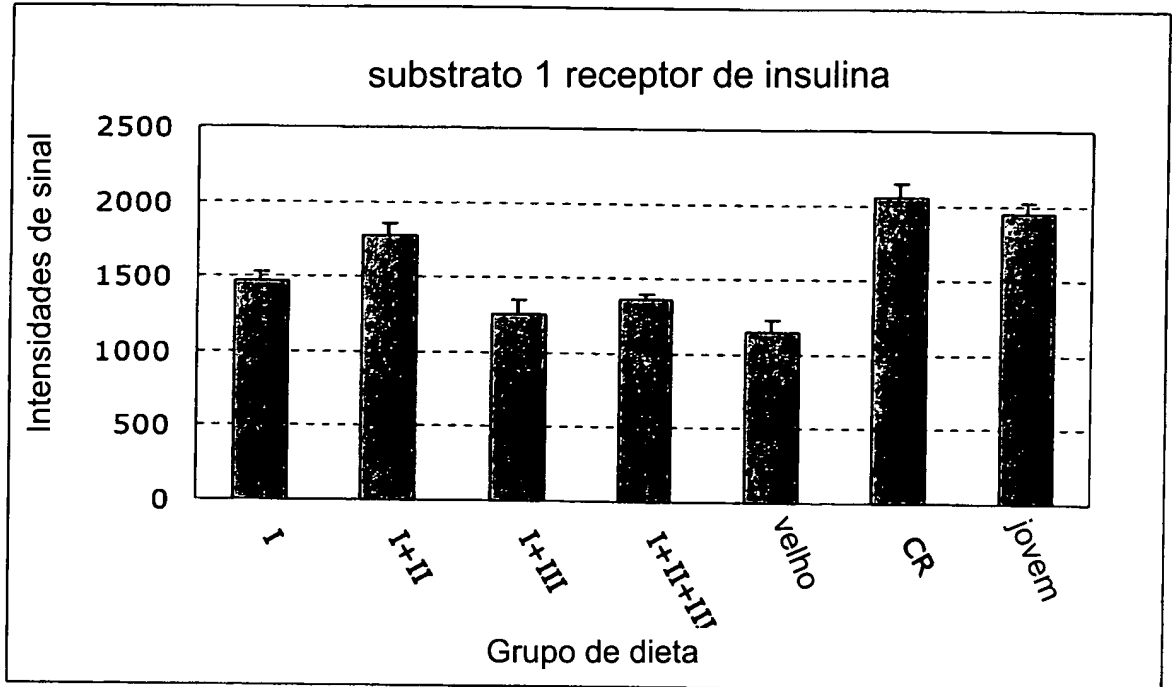


FIG 8

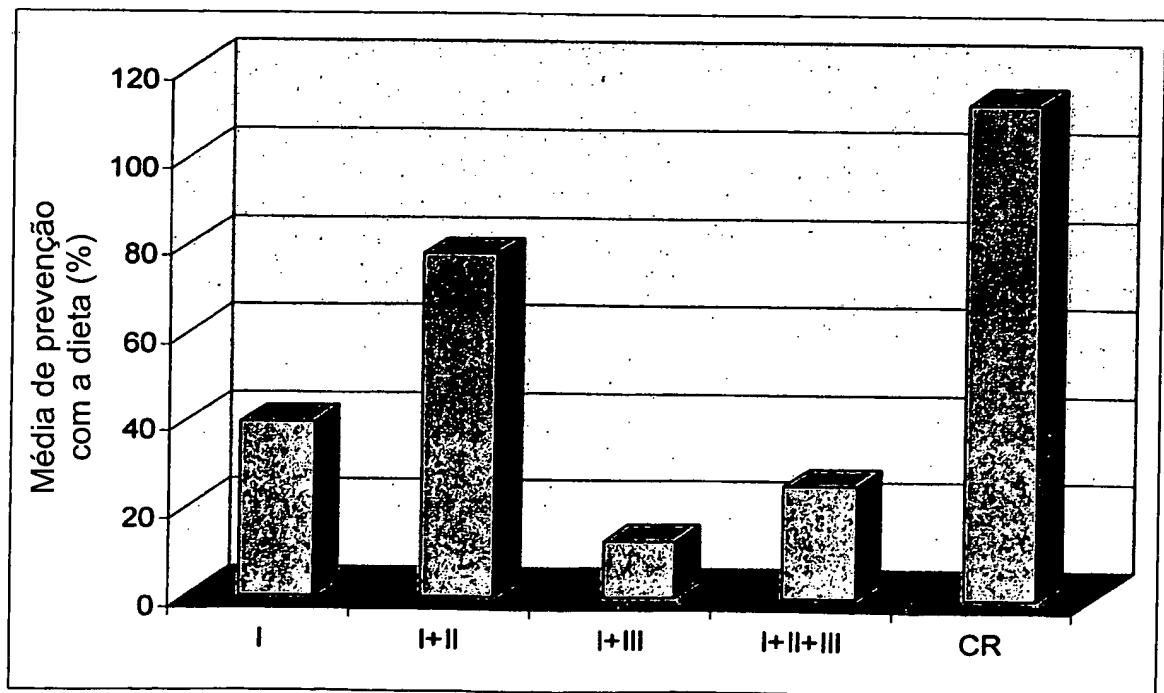


FIG 9

Resumo das alterações relacionadas à idade na expressão gênica do tecido adiposo

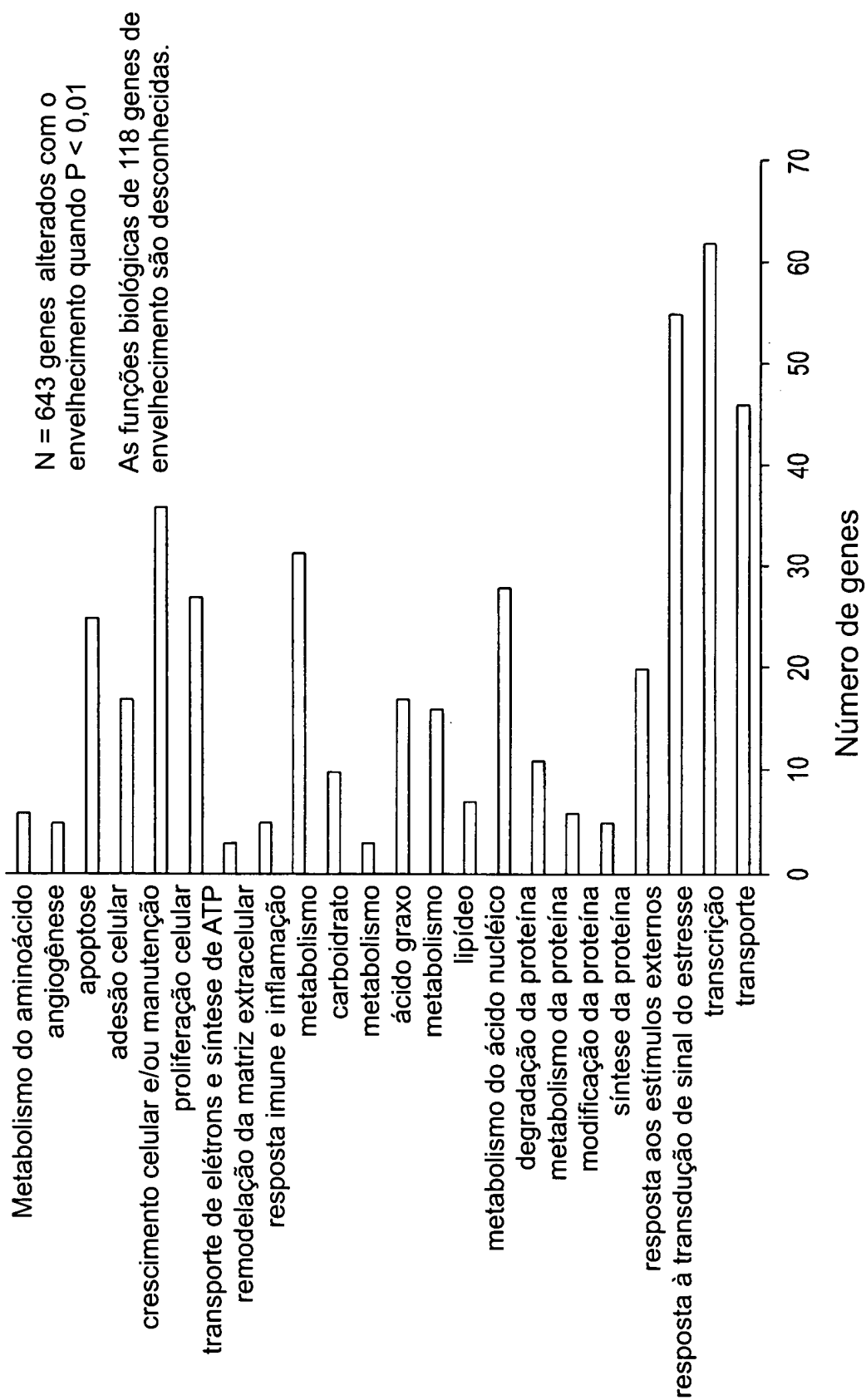




FIG 10

Resumo das influências da dieta nas alterações relacionadas à idade na expressão gênica
 Genes alterados pela idade

Genes alterados da idade (N=643, P<0.01)

-  Prevenção com a dieta @ P<0.01
-  Prevenção com a dieta @ P<0.05

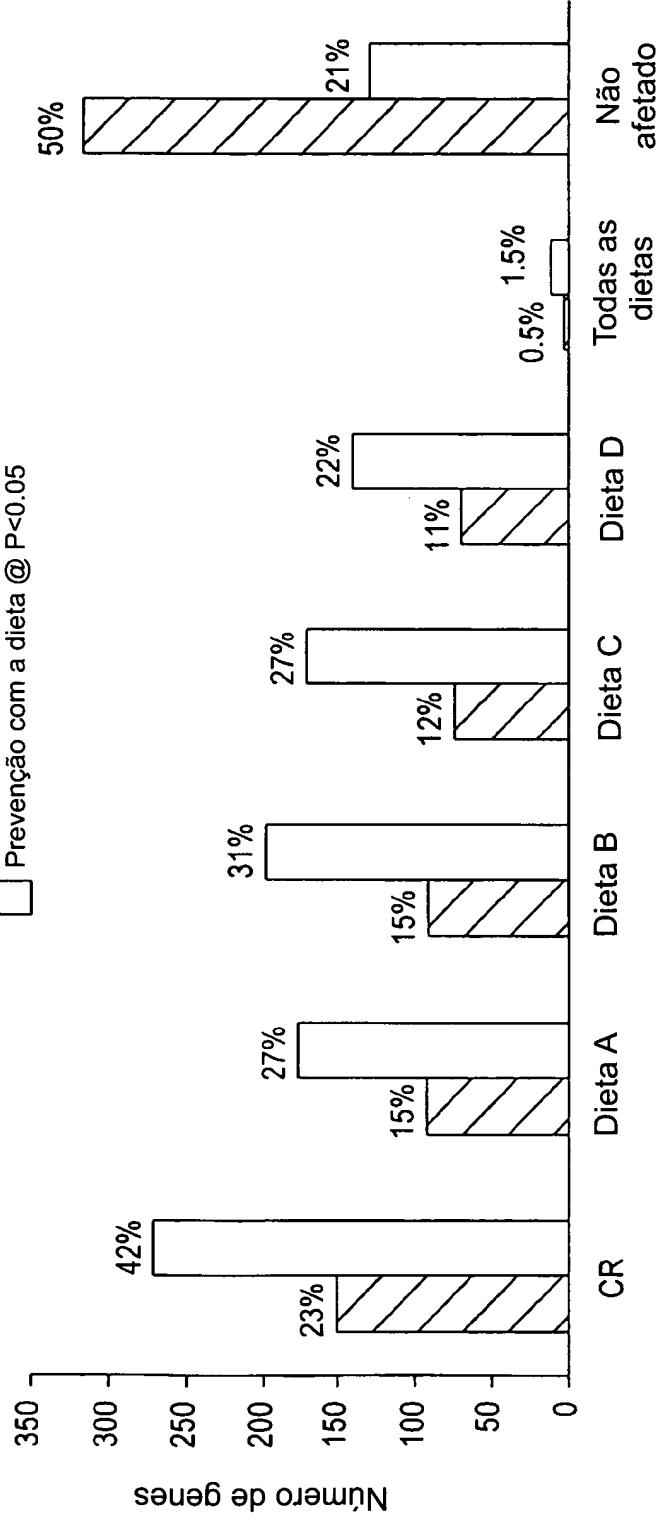


FIG 11

Capacidade da CR de retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica

272 mesma direção/ 281 alterações totais = 97%

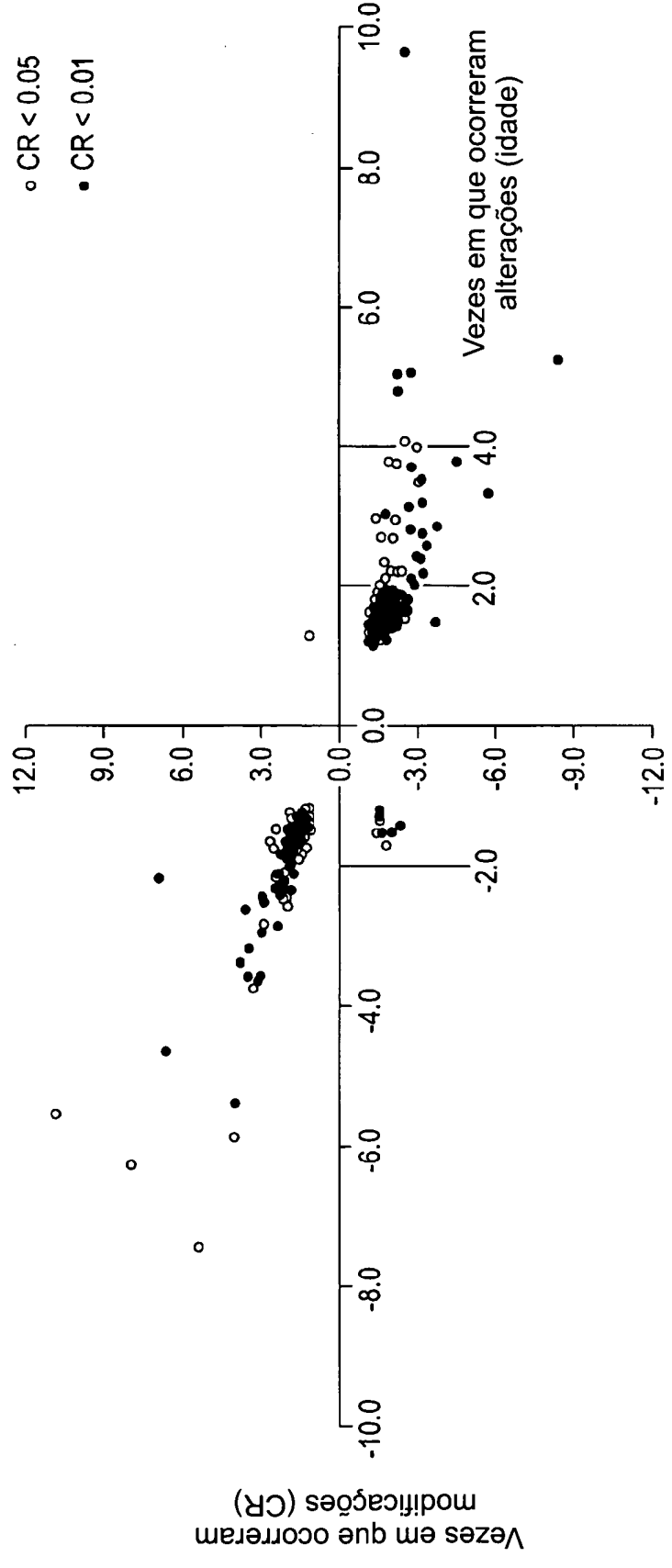


FIG 12

Capacidade da Dieta de retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica

178 mesma direção/ 187 alterações totais = 95%

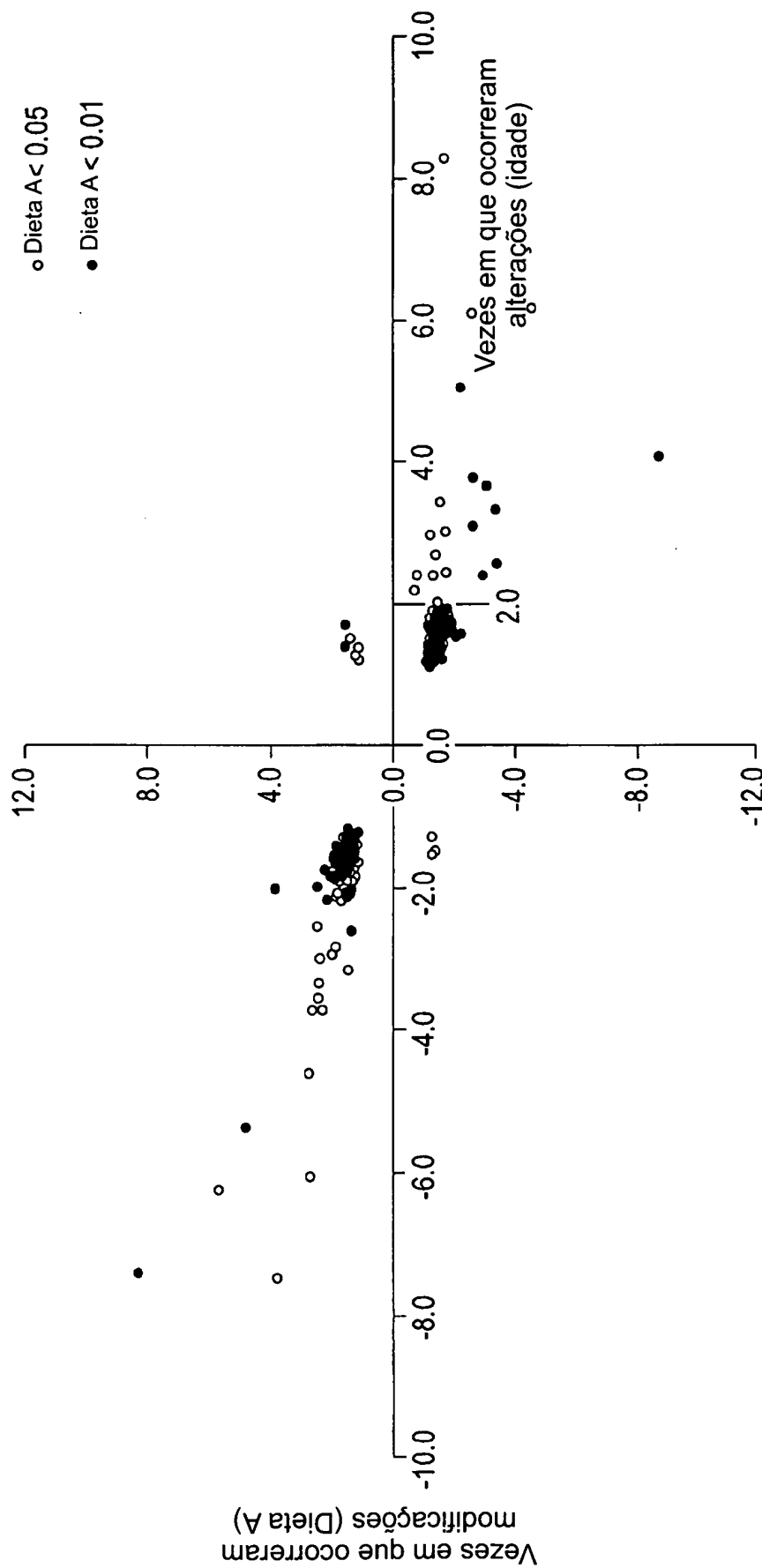


FIG 13

Capacidade da Dieta B de retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica

199 mesma direção/ 240 alterações totais = 83%

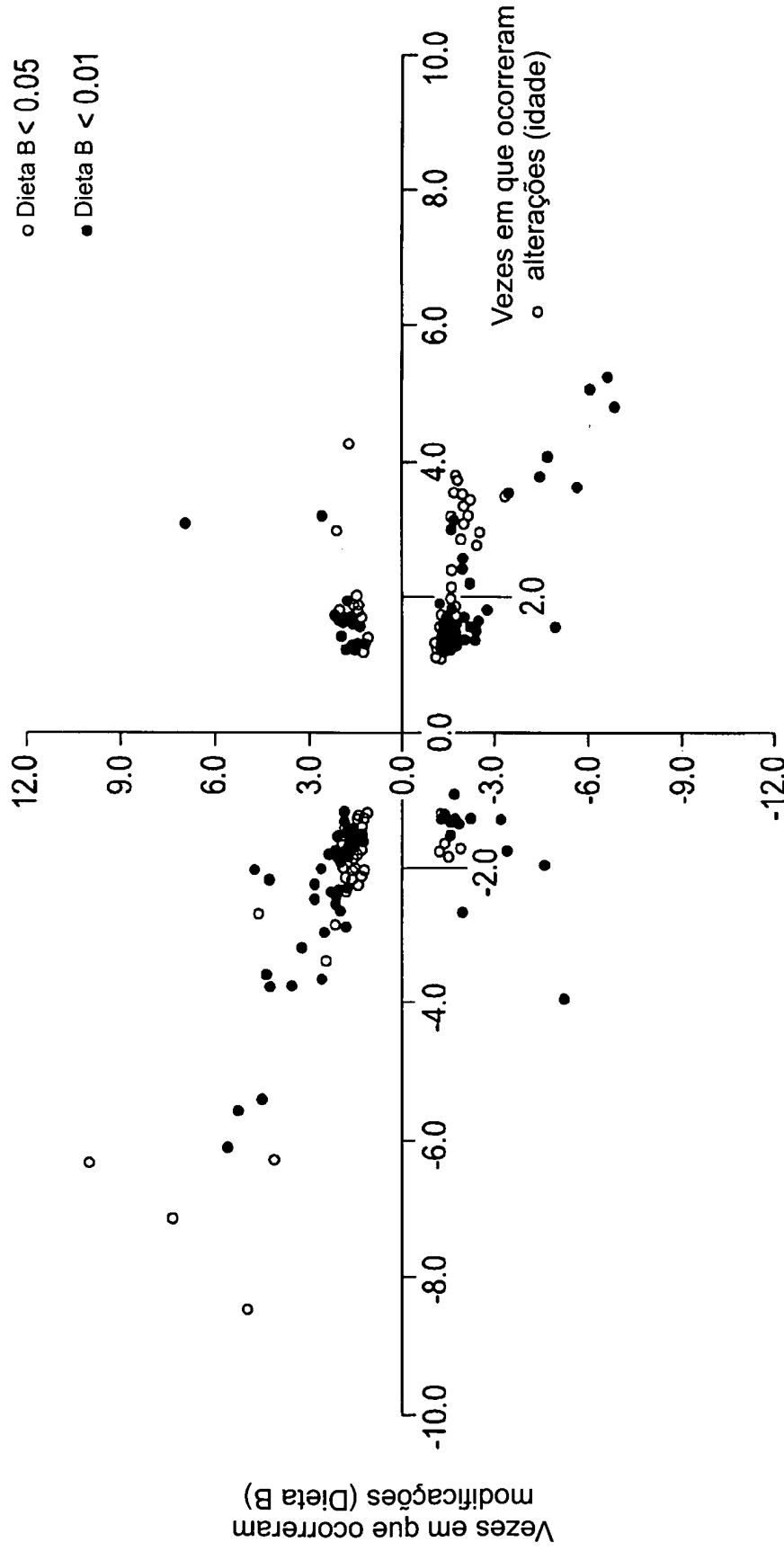


FIG 14

Capacidade da Dieta C de retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica

171 mesma direção/ 179 alterações totais = 95%

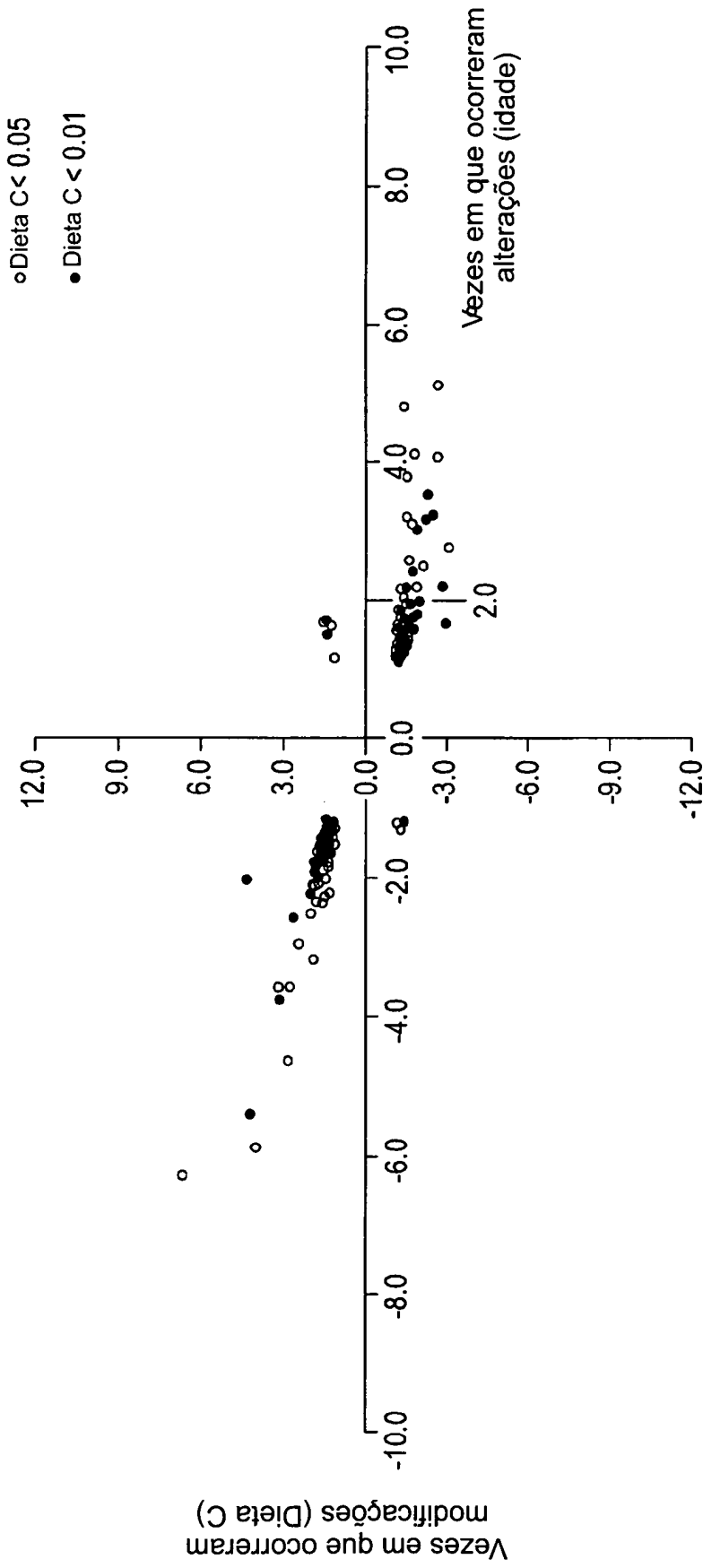


FIG 15

Capacidade da Dieta D de retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento na expressão gênica

140 mesma direção/ 205 alterações totais = 68%

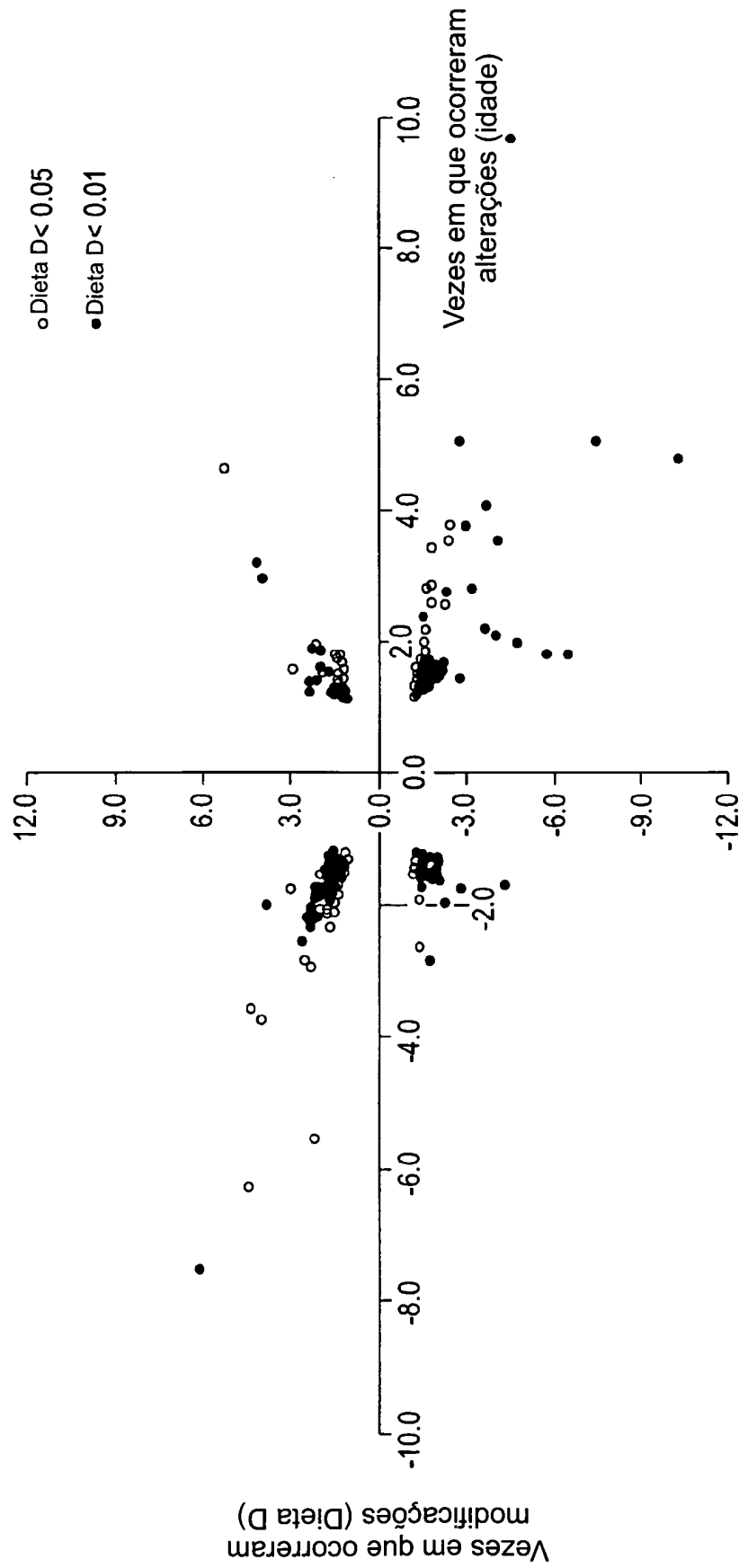
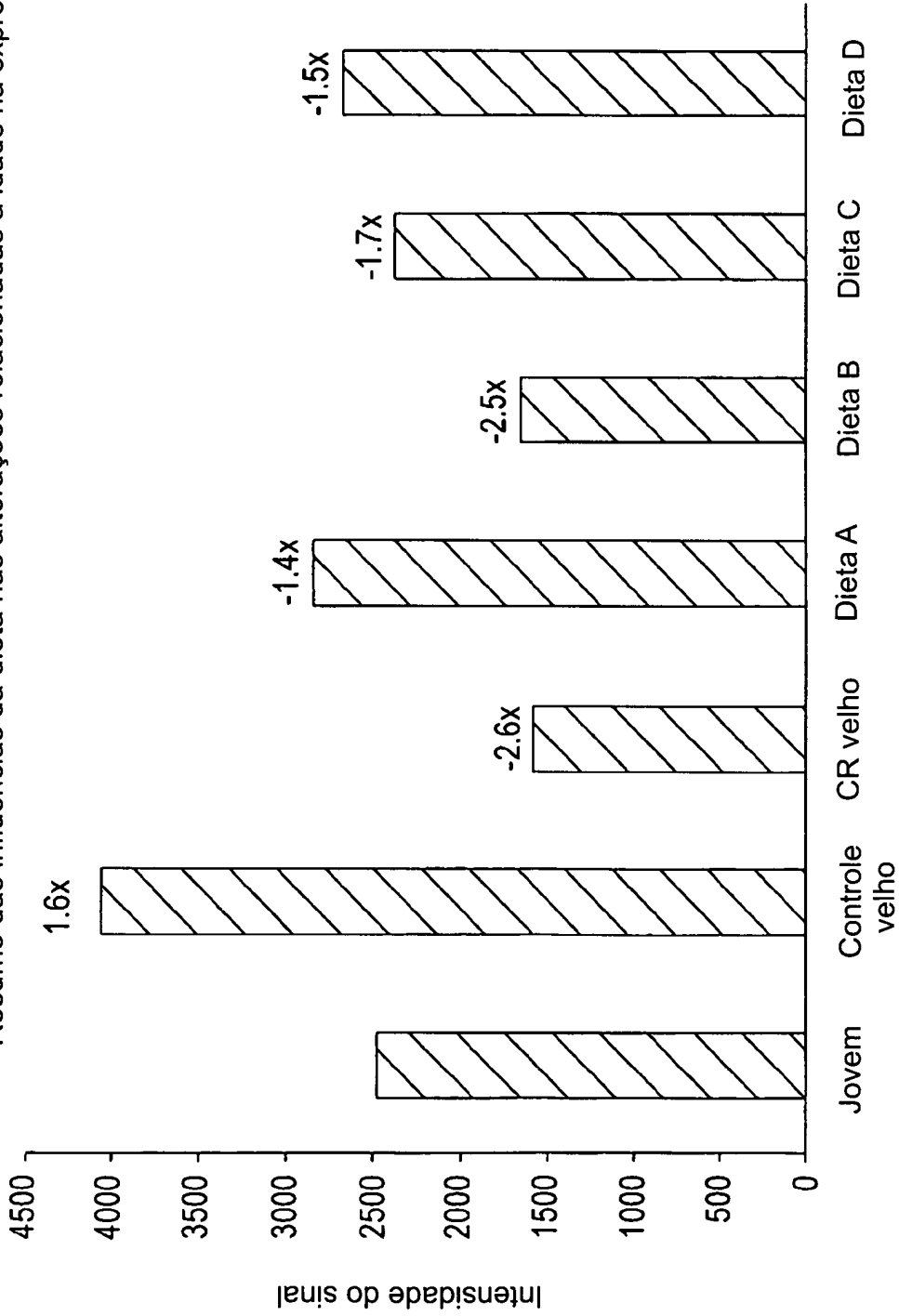


FIG 16

Resumo das influências da dieta nas alterações relacionadas à idade na expressão de CD59



Regulador do complexo de ataque da membrana (cascada complementar); aumentado com a idade e diminuído com cada dieta (versus controle velho)

FIG 17

RESUMO

Patente de Invenção: **"SISTEMA NUTRICIONAL E MÉTODOS PARA AUMENTAR A LONGEVIDADE"**.

A presente invenção refere-se às formulações de dieta e métodos para mimetizar os efeitos fisiológicos, bioquímicos e de expressão gênica de restrição de calorias sem alterar a ingestão da dieta. As formulações incluem combinações de nutrientes que possuem várias funções pretendidas no corpo, que se encontram em três ou mais das atividades que se seguem; (1) atividade antioxidante; (2) inibição da lesão por glicação; (3) redução do peso corpóreo e gordura; (4) promoção de alta sensibilidade à insulina e baixo teor de insulina/glicose no sangue; e (5) atividade antiinflamatória.