



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

NUNO ANDRÈ FERREIRA GOMES

***ENVELHECIMENTO E NUTRIÇÃO -
CONTRACÇÃO CALÓRICA E LONGEVIDADE***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE NUTRIÇÃO

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROF. DOUTOR FERNANDO JOSÉ LOPES DOS SANTOS**

MARÇO/2012

RESUMO

O processo de envelhecimento, que envolve a acumulação de diversas alterações ao nível genético e celular, e um desequilíbrio da balança homeostática, que conduz ao aparecimento de patologias crónicas e em último caso à morte, sempre foi alvo de interesse por partedo Homem. Existem diversas teorias sugeridas para o explicar. O objectivo deste trabalho passa por tentar entender os mecanismos deste processo e os factores que o influenciam, para a definição de uma possível estratégia de envelhecimento saudável. A metodologia passa por uma revisão da literatura mais recente sobre este assunto. A contracção calórica, a única estratégia não genética capaz deaumentar a longevidade em diversas espécies, é alvo de enorme investigação. Os mecanismos celulares e moleculares responsáveis pelos efeitos induzidos pela contracção calórica ainda não estão totalmente esclarecidos e requerem maior investigação. Estudos em humanos são de difícil realização e só agora começam a mostrar resultados mais conclusivos, embora, até ao momento, só tenha sido possível executar ensaios de curta duração, estando neste momento em andamento um estudo de longo termo. Os resultados são promissores na modificação de alguns biomarcadores relacionados com a idade, mas mais estudos são necessários para avaliar o real efeito sobre a longevidade e sobre a saúde. Os miméticos apresentam-se com boas perspectivas futuras para obviar alguns dos problemas da implementação de programas de longa duração de contracção calórica. A implementação de protocolos de longa duraçãoode contracção calórica não parece actualmente uma medida exequível pelas dificuldades inerentes, quer de motivação, culturais ou outras. É necessário comparar os efeitos benéficos desta intervenção nutricional, com aqueles relacionados com hábitos alimentares saudáveis, bem como maior investigação sobre esta intervenção dietética a longo prazo em humanos.

Palavras-chave: Contração calórica; processo de envelhecimento; longevidade; miméticos; doenças relacionadas com a idade;

ABSTRACT

The aging process, which involves the accumulation of several changes in genetic and cellular levels, and an unbalanced homeostasis, leading to the emergence of chronic diseases and ultimately death, always been the target of interest on the part of Humankind. There are various theories suggested to explain it. The aim of this work involves trying to understand the mechanisms of this process and the factors that influence it, to define a possible strategy for healthy aging. The methodology involves a review of recent literature on this subject. The caloric restriction, the only non-genetic strategy that seems to increase longevity in several species, is subject of huge research. The cellular and molecular mechanisms responsible for the effects induced by caloric restriction are not yet fully understood and require further investigation. Human studies are difficult to perform and only now beginning to show more conclusive results, although it has only been possible to perform short-term trials, and currently is in progress a long-term study. The results are promising for the modification of some age-related biomarkers, but more studies are needed to assess the real effect on the longevity and health. The mimetics are presented with good prospects to overcome some of the problems of implementing programs of long-term caloric contraction. The implementation of protocols of long-term caloric restriction does not seem to be achievable, by the difficulties inherent in either of motivation, cultural or other. Moreover, it is necessary to compare the beneficial effects of this nutritional intervention, with those related to healthy eating habits, and further research about this long-term dietary intervention in humans.

Keywords: caloric restriction; aging process; longevity; mimetics; age-related disease;

INTRODUÇÃO

Será possível parar ou adiar o envelhecimento?

O processo de envelhecimento foi desde sempre uma questão que motivou uma profunda reflexão por parte do Homem. É comumente definido como a acumulação de diversas alterações deletérias ao nível genético e celular, com uma diminuição da capacidade de resposta ao “stress” e um desequilíbrio da balança homeostática, que conduz ao aparecimento de patologias crónicas associadas á idade e em último caso à morte (1-3).

Diversas teorias são aventadas para explicar quais as modificações que acontecem durante o envelhecimento, entre as quais se podem destacar as teorias da acumulação dos radicais livres, da redução das telomerasese a teoria imune-neuroendocrina (2).

Muitas dúvidas se levantam sobre se se trata de um processo programado, embora Blagosklonny (2007) o considere um “quasi-programa”, que ao invés de um programa, não apresenta um propósito definido, qualificando-o assim como uma continuação “non-sence” do programa de desenvolvimento (4). Evidências sugerem que só 25% a 30% deste processo é dependente da herança genética (5).

Existem já na Historia da Humanidade diversos casos de alterações nutricionais impostas pela natureza ou então aplicadas empiricamente sob influências religiosas, que exerceram de alguma forma alterações quer na saúde quer na longevidade. Os praticantes da medicina tibetana adoptam uma dieta moderada, com alto teor em nutrientes e baixo valor de calorias, por forma a manter uma boa saúde e promover clarividência mental(5). A população de Okinawa, uma cidade do Japão, apresenta uma elevada taxa de centenários, facto relacionado com uma redução de 20% de calorias em relação ao praticado em outras sociedades modernas (6,7).

Neste contexto aparece o interesse sobre a contracção calórica, quando em 1953 McCay e o seu grupo de investigadores apresentaram um estudo em que, com sucesso, foi

possível prolongar a vida em ratos, através de uma redução calórica iniciada após a puberdade(8,9).

A contracção calórica (CC) é definida como uma redução na ingestão calórica em relação ao “*ad libitum*”, normalmente compreendida entre 30% a 40%, sem que para isso ocorra uma deficiente ingestão de macro e micro nutrientes, nem haja desnutrição (8-10).

Muita investigação tem sido realizada neste campo, sendo que os resultados, apesar de diversos e por vezes contraditórios (4,11), parecem indicar um aumento na longevidade em múltiplas espécies incluindo moscas, aranhas, ratos e outros pequenos mamíferos.

Os promissores resultados encontrados levantaram desde logo a questão de até que ponto serão reprodutíveis quando se avaliam espécies com ciclos de vida mais longo, e em especial no Homem. Estes estudos são difíceis e os resultados morosos. Para além disso a investigação em humanos reveste-se de inúmeras limitações logísticas e éticas (10). Normalmente estes estudos são de curta duração (6-12 meses) e baseiam-se não na longevidade em si, mas nas alterações em diversos biomarcadores correlacionados com a longevidade e com marcadores de risco de doenças crónicas.

A curiosidade e relevância da contracção calórica baseia-se não só no aumento expectável na longevidade, mas também no alcançar de uma vida mais saudável e no retardar ou mesmo na eliminação da incidência de doenças crónicas, que provocam um enorme custo, não só pessoal mas também social e até mesmo económico.

OBJECTIVOS

O objectivo do trabalho passa por procurar interpretar o processo de envelhecimento, identificando os mecanismos que lhe estão inerentes e os factores que o influenciam, de modo a poder conceber uma estratégia de intervenção para um envelhecimento saudável e um aumento sustentado da longevidade

METODOLOGIA

Revisão exaustiva da literatura recente (desde 2000 até hoje) de duas bases de dados reconhecidas (PubMed e Cochranedatabase), recorrendo a palavras chave adequadas á temática, entre as quais: “Contração calórica”, “processo de envelhecimento”, “longevidade”, “miméticos”, “doenças relacionadas com a idade”.

ENVELHECIMENTO E SUAS ALTERAÇÕES

O envelhecimento é um processo biologicamente complexo e que implica um conjunto de alterações metabólicas, estruturais e genéticas, bem como modificações nos mecanismos de sinalização celular, em resposta a estas alterações.

Xue et al (2007) no seu trabalho “A modular network model of aging” sugerem que um elevado número de genes apresentam modificações consentâneas com a idade em vários processos biológicos não relacionados. No entanto, é possível que, a um nível de organização modular, estes genes se agreguem em alguns módulos dinamicamente organizados e as suas expressões sejam alteradas concertadamente através do mesmo circuito regulador. Os seus resultados sugerem que o envelhecimento é caracterizado por uma alteração na estabilidade desta estrutura modular e especialmente da sua dinâmica (12).

Metabolismo da Glicose

Parece existir durante o processo de envelhecimento um “switch” genético, representado por um aumento da expressão de genes envolvidos na inflamação e resposta imune, concomitantemente com uma diminuição da transcrição de genes relacionados com o metabolismo energético, nomeadamente ao nível da mitocôndria e do seu sistema enzimático e de transporte transmembranar (13).

Contrariando o desenvolvimento deste processo, a CC deixa a sua marca, verificando-se um aumento coordenado da expressão desses mesmos genes, promovendo uma mudança na forma como a energia é gerada e qual o “combustível” utilizado, passando assim de um estágio de armazenamento de gorduras para uma utilização mais eficiente deste recurso, através de um aumento da β -oxidação dessas mesmas gorduras (14). Acompanhando esta modificação existe também uma diferente forma de metabolização da glucose, na qual a gluconeogénese é privilegiada em relação á glicólise. Esta alteração é evidenciada pelo aumento da expressão de enzimas como a *phospoenol-pyruvatocarboxilase* (PEPCK) e a *glucose-6-fosfatase*, importantes enzimas no processo de gluconeogénese, combinada com uma diminuição de enzimas como a *pyruvatocinase* e a *phosphofrutocinase-1* (15).

Segundo *Hipkins (2006)* a introdução da CC é uma medida capaz de proteger o ser humano do envelhecimento e das doenças relacionadas com este, pois, segundo a sua teoria, a glicólise leva a uma produção contínua de intermediários que podem ter o efeito de modificar macromoléculas e ter assim um potencial toxico para a célula. A molécula que mais atenção mereceu neste aspecto foi a *methylglyoxal*, argumentando-se que esta molécula teria efeitos deletérios. Assim era proposto que a CC, por ter um efeito inibitório sobre a glicólise, poderia ter uma acção protectora. Esta teoria foi muito contestada, pois não teria em conta outras

fontes de produção desta molécula como por exemplo através da metabolização da acetona (16,17).

A resistência á insulina é também um fenótipo bem reconhecido como marcador de envelhecimento, e aparece como um dos factores modificáveis pela CC, mantendo-se no entanto incerto qual o modo como a sensibilidade á insulina, o IGF e as vias de sinalização dependentes de insulina promovem um aumento na longevidade (18).

Em camundongos, CC induz um acentuado aumento da expressão de genes envolvidos no metabolismo energético no tecido adiposo, incluindo uma indução impressionante e coordenada dos genes nucleares que codificam componentes dos ETS mitocondriais, e aumento da actividade mitocondrial. *Fat-specificinsulin receptor knockout mice (FIRKO)* apresentam menos massa gorda, menos peso corporal, e longevidade aumentada (mas não tão longa como visto para os camundongos em CC). A análise de enriquecimento genético sugere que CC preserva as vias de sinalização relacionadas com IGF e mTOR, vias que são geralmente associados com a promoção do crescimento. A via de sinalização da insulina / IGF está presumivelmente envolvida em acções de CC em mamíferos, através de um “shift” do balanço celular a jusante, ao invés de uma simples diminuição da sinalização de um só receptor (14,19).

Tecido Adiposo

Outro fenótipo bem reconhecido da CC é a diminuição da massa corporal, mas essa perda não é proporcional em todos os tipos de tecidos. É mais marcada a perda de massa gorda, que se insere em valores de cerca de 70% de perdas neste tecido, quanto existe uma perda de cerca de 30% de massa total. A CC induz a síntese de ácidos gordos no fígado e a activação mitocondrial da β -oxidação pela PPAR- α , induzindo assim um estado metabólico mais eficiente (9,14).

O tecido adiposo não é um tecido estéril, mas antes um produtor activo de inúmeras substâncias conhecidas como adipocinas. Uma das principais é a adiponectina, que parece ter um importante papel nas acções da CC. Emergiu como uma adipocina protectora contra a resistência à insulina e doenças relacionadas com a esteatose hepática. Os seus valores séricos estão negativamente relacionados com a massa adiposa e apresentam-se elevados nos indivíduos sujeitos a CC. Exerce o seu efeito aumentando a expressão de SIRT-1 (9,20).

Outra hormona segregada pelo adipócito é a leptina, primariamente identificada como uma molécula que regulava o apetite e que estudos subsequentes revelaram o seu importante papel a nível do metabolismo e na resposta ao stress. A CC tem o efeito de reduzir a concentração da leptina, em cerca de 50% (9) o que pode ter como resultado uma diminuição da função gonadal, somatotrófica e tiroideia, e activação do sistema adrenal. Implica assim uma adaptação metabólica, com alteração da fonte de energia, com uma maior utilização do metabolismo baseado nas gorduras (6,21).

Grelina

A grelina, um peptídeo de 28 aminoácidos um membro da família da motilina, estimula a secreção da hormona de crescimento, aumenta a sensação de necessidade ingestão de alimentos, e produz ganho de peso. É produzida pelo estômago e aumenta durante períodos de jejum ou em condições associadas com balanço negativo de energia, tais como inanição ou anorexia. Em contraste, os níveis de grelina são baixos após a ingestão ou com a hiperglicemia, e ainda na obesidade (22).

Desempenha assim um papel central na regulação neuro-hormonal da ingestão de alimentos e homeostase de energia (23). Uma interessante conexão entre o sistema de sinalização e o metabolismo celular reside na dependência desta hormona e da proteína de acoplamento mitocondrial UCP-2, para a regulação do comportamento de fome. A sinalização celular induzida pela grelina vai aumentar o metabolismo dos ácidos gordos através de uma proteína cinase AMP-activada (AMPK), de um transportador de ácidos gordos, a *carnitina palmitoyltransferase-1* (CPT-1) e de um mecanismo dependente das proteínas de acoplamento UCP-2. Este processo parece ser similar com o que acontece nos indivíduos em CC onde também existe uma activação do sistema AMPK (14,22,23).

Outras alterações metabólicas

Alguns estudos apresentam a CC como um método com capacidade para diminuir quer o metabolismo basal quer consequentemente a taxa de produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS) (24), o que poderia explicar o seu modo de actuação, promovendo assim uma protecção da célula em relação ao stress oxidativo, ideia que se enquadra na teoria dos radicais livres, um dos modelos hipotéticos sobre processo de envelhecimento (1,3).

Contrariamente a esta ideia, Braekman et al (2006) defendem que a CC promove, não uma redução da taxa de produção de radicais livres, mas sim uma estabilização da concentração de ROS, pois uma simples redução da sua produção pode levar a uma desactivação de vias de sinalização celular que induzam efeitos disfuncionais na actividade metabólica. Esta teoria tem como base os estudos de Finkel and Holbrook (2000) e Dröge (2002) que revelam que a produção de ROS tem efeitos ao nível de diversas vias de sinalização. Assim, Braekman et al (2006), referem que a capacidade da célula em manter uma concentração estável de ROS se apresenta como um parâmetro crítico de maior valor na predição da longevidade que a taxa de produção de ROS (25,26).

CC tem também uma acção anti-inflamatória através da modulação de genes pró-inflamatórios como TNF α , IL1, IL6, entre outros (27).

A alteração metabólica induzida pela CC, baseia-se na resposta do organismo à redução do aporte calórico, que leva à indução de um estado metabólico alterado, que culmina numa utilização mais eficiente dos recursos disponíveis. Esta modificação é feita a diversos níveis que ainda não são completamente compreendidos, mas existem já alguns “pontos-chave”, reguladores deste processo que parecem ser bons candidatos para explicar como a CC produz os seus efeitos.

A enzima AMPK parece ter um papel importante nesta alteração metabólica. Diversos estudos indicam que o AMPK tem uma grande influência sobre diversos componentes intracelulares e actua a diferentes níveis promovendo um aumento da transcrição de genes relacionados com a β -oxidação de ácidos gordos, promovendo também uma biogénese mitocondrial e uma redução da produção de ROS. Exerce a sua acção directamente através da fosforilação de outra peça-chave deste processo: a PGC-1 α (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Coactivator 1*). A sua acção é também garantida pela indução da

actividade da SIRT1, pertencente a uma família de desacetilases NAD dependentes, que vai actuar sobre a PGC-1 α . A indução da SIRT1 é garantida pelo aumento do ratio NAD⁺/NADH a nível celular, promovido pelo AMPK em resposta à restrição de glucose (14,15,28).

A influência da AMPK não se esgota somente nos níveis descritos, parecendo ainda exercer uma inibição sobre o complexo mTOR. Em contraste com o AMPK, que responde à diminuição do componente energético disponível, o mTOR é activado pelo aumento da disponibilidade de nutrientes. O efeito do CC sobre o mTOR apresenta-se provavelmente como sendo tecido-específico pois apenas existem evidências da inibição da sinalização mTOR ao nível do fígado, enquanto no músculo-esquelético e no tecido adiposo, isso não parece acontecer. Neste último, parece haver, contrariamente ao esperado, um aumento da actividade do mTOR, onde tem um efeito regulador sobre a produção de adiponectina (4,14,15).

Membrana celular

A membrana plasmática também sofre alterações com a idade, com a diminuição da sua composição rica em enzimas redox, que permitem a reciclagem de agentes antioxidantes como o α -tocopherol e a coenzima Q. A CC efectua a sua acção através da manutenção da concentração destes e de outros agentes antioxidantes (24).

Também a peroxidação dos lípidos, que consiste num processo de oxidação de ácidos gordos instáveis, e que se acentua com a idade, como é demonstrada pela maior oxidação dos lípidos quando em comparação em estádios de vida mais jovens, apresenta-se inibida na CC, demonstrável com a diminuição da produção de pentano, marcador deste processo (29)

CC EM PRIMATAS

Antes de comprovar se a CC seria eficaz na produção de resultados em seres humanos e se seriam encontrados os benefícios evidenciados em espécies de ciclo de vida curto, foram iniciados estudos em animais com esperança média de vida mais prolongada como o são os primatas.

Estudos de longevidade em primatas apenas foram iniciados há cerca de 30 anos, utilizando uma espécie (*rhesus macaques*) que tem uma esperança média de vida de cerca de 40 anos, ainda não sendo possível apresentar resultados efectivos da CC sobre a longevidade. Ainda assim, as evidências em 2002 indicavam que a mortalidade até aquele momento era de 15% no grupo de intervenção da CC e de 24% no grupo alimentado *ad libitum*. Durante a conferência “Longevity and Frailty” organizada pela IPSEN Foudation (Paris, 11 Outubro 2004), Donald Ingram, que conduzia esses testes, reportou que a longevidade em ambos os grupos estudados poderiavir a ser similar (30). Contudo, os animais sobre CC apresentam menor decréscimo da função muscular com a idade, menos peso, menos massa gorda, temperatura corporal mais baixa, índices menos elevados de resistência à insulina (31), mantendo os níveis de actividade física. Foi também possível observar que a CC de longo termo, iniciada durante a adolescência (aos 3-5anos) consegue atrasar a senescência das células T, demonstrada pelo elevado número de células T *naive*, pela diminuição do número de citocinas secretadas por essas células e pela sua maior capacidade proliferativa (32).

Embora os estudos de comportamento ainda não estejam completos, a similitude de reacções encontradas entre primatas e roedores é promissora em termos de longevidade e pode travar certos aspectos do envelhecimento, sendo esperados resultados mais completos para poderem ser tiradas conclusões mais definitivas.

ESTUDOS EM HUMANOS

Os estudos em seres humanos não são fáceis de conduzir, pois enfrentam inúmeros obstáculos. Desde logo as questões éticas que lhe estão subjacentes, bem como as questões logísticas e de segurança, pois existem riscos como a malnutrição e deficiências em micronutrientes que têm de ser acauteladas. Outra questão prende-se com a necessidade de uma elevada motivação e compliance para suportar as exigências de um regime dietético que ronda os 25 a 40% do *ad libitum*, sem que os benefícios se façam sentir a curto prazo, isto é se estes existirem de todo. O próprio acto de comer proporciona prazer, e a sensação de fome é difícil de suportar, sendo por isso duas grandes barreiras a ultrapassar, o que nem sempre é fácil de combater (2). Além disso, mais que objectivar directamente a longevidade, os estudos em humanos apenas podem avaliar biomarcadores correlacionados com a longevidade e com riscos de doenças em múltiplos órgãos como coração, rins e órgãos endócrinos (10).

Em humanos, a informação proveniente de estudos controlados é muito escassa, sendo que as poucas evidências provêm de estudos observacionais, como o da população de Okinawa, e de estudos de indivíduos que se voluntariaram para seguir esta estratégia dietética, como no caso da Biosphere-2. Tratava-se de um sistema ecológico hermeticamente fechado, localizado no Arizona, e que pretendia recriar um complexo ecossistema (2,30), no qual quatro homens e quatro mulheres viveram durante um período de dois anos. Projectado para ser auto-suficiente e ecologicamente controlado, toda a comida era produzida em exclusivo dentro do sistema, não havendo trocas com o exterior. Durante o tempo do estudo, os participantes tiveram uma dieta com restrição da ingestão calórica, baixando para valores entre os 1800 e 2200 kcal, sendo vigiados regulamente através de exames médicos completos periódicos, realizados por um dos indivíduos em estudo, que era médico. Observou-se uma redução no índice de massa corporal, além da redução de factores de risco como por exemplo o perfil lipídico e a pressão sanguínea. De forma interessante constatou-se que após os

indivíduos saírem da Biosphere-2, estas variáveis regressaram gradualmente aos valores registados antes do início do estudo (8,30).

Mais recentemente foi iniciado um projecto de investigação, conhecido como CALERIE (Comprehensive Assessment of the Long-term Effects of Reducing Intake of Energy), que se propôs a realizar o primeiro ensaio clínico sobre os efeitos da CC nos biomarcadores relacionados com o envelhecimento e a longevidade em seres humanos não obesos. Dividido em 2 fases, integrou numa primeira fase estudos pilotos de curto termo (6 meses), que se debateram sobre os efeitos da CC de curta duração ao nível da taxa metabólica basal, efeitos cardiovasculares e na diabetes, factores de risco, composição corporal e função cognitiva (8,33).

Apresentando-se como um estudo multicêntrico (Pennington Biomedical Research Center, Washington University Medical Center e Tufts University) mas com ligeiras diferenças nos protocolos entre cada centro, este projecto permitiu avaliar diferentes biomarcadores de longevidade bem como alterações cognitivas passíveis de serem verificadas com a utilização da CC (anexo I) (33).

O desenho do estudo em Pennington consistia essencialmente na escolha de participantes que se enquadrassem em critérios de elegibilidade como IMC ($25-30\text{kg/m}^2$), a não existência de comorbilidades, entre outros. Os 48 participantes, homens e mulheres, foram divididos randomizadamente em diferentes grupos. O grupo de controlo, que tinha uma alimentação *ad libitum*, um grupo sobre os efeitos de 25% de CC, um grupo com 12,5% de CC + 12,5% de maior utilização de energia através do exercício (CREX), e ainda outro grupo com uma dieta baixa em calorias (LCD) (890 kcal/dia até reduzir 15% do peso seguida de manutenção de peso). Os parâmetros avaliados passaram por composição corporal, avaliação analítica de *dehydroepiandrosteronasulfate* (DHEAS), glicose, insulina, hormonas tiroideias e

temperatura corporal. Insulina, temperatura corporal e DHEAS, são propostos como biomarcadores de longevidade quer em roedores quer em primatas, sendo por isso alvos importantes neste estudo (34).

Dados da fase 1 do CALERIE indicam uma significativa redução de dois dos três biomarcadores reportados anteriormente como ligados à longevidade: a temperatura corporal e a insulina, nos grupos a realizar CC e naqueles a realizar CC + exercício (embora se evidencie uma maior redução no grupo CC), o que suporta a teoria que a taxa metabólica está diminuída para além dos níveis expectáveis tendo em conta a redução de volume corporal. Também a massa e composição corporais tiveram modificações, observando-se uma diminuição de cerca de 10% no peso, acompanhada de uma diminuição de $24 \pm 3\%$ de massa gorda. Evidências também de uma diminuição na concentração das hormonas tiroideias, bem como uma redução da fragmentação do DNA, resultante de um menor dano no DNA (34).

A não detecção de alterações ao nível do DHEAS é entendida pelos autores do estudo, como uma limitação devido à insuficiente duração do estudo. Os resultados demonstraram assim que a CC ou uma combinação de CC + exercício foram estratégias com sucesso na obtenção de redução de peso, massa gorda, níveis de insulina, dano no DNA e temperatura corporal, observando-se ainda uma adaptação metabólica, desenvolvida em resposta ao um défice de energia, levando a uma redução de consumo de oxigénio/unidade de massa “magra”, mesmo após a estabilização do peso (34).

Civitarese et al analisaram também o efeito da CC na biogénese mitocondrial, concluindo a existência de um aumento DNA mitocondrial ao nível da célula muscular, em associação com um decréscimo do consumo total de oxigénio e do dano no DNA. Conclusões fundamentadas nos dados que indicaram um aumento da eficiência metabólica, na diminuição

de marcadores de stress oxidativo (diminuição da produção de ROS), e na melhoria da função mitocondrial (aumento da expressão de genes como PGC-1 α , AMPK e SIRT1) (35).

A avaliação psicológica e de comportamento realizada, revelou que apesar da preocupação enunciada por Keys et al (1950), não se demonstrou um desenvolvimento de sintomas de desordem alimentar como compulsão alimentar, anorexia ou bulimia nervosa, em qualquer um dos grupos, verificando-se até um aumento da desinibição em todos os grupos excepto no controlo, avaliadas pelos testes “Multifactorial Assessment of Eating Disorder Symptoms”(MAEDS) e “Eating Inventory”(EI). Ao nível da sensação subjectiva de fome, os dados apontaram para um decréscimo no grupo CC aos 6 meses, avaliado pelo teste “Visual Analogue Scales”(VAS), tendo ocorrido outras alterações ao longo do estudo mas que se revelaram sem significância estatística. Relativamente ao humor e á qualidade de vida, os resultados indicaram que sintomas como humor depressivo não sofreram efeitos negativos pela CC, tendo ao invés, apresentando níveis reduzidos, quando avaliado pelo MEADS. Todos os tipos de dietas, mas não o grupo de controlo, melhoram os níveis de função física durante o estudo, sendo que não houve efeito significativo sobre a vitalidade(7,36).

Outra preocupação deste estudo foi o de estimar a função cognitiva dos participantes durante o ensaio, e o efeito da CC nesta variável. A este nível foram avaliados, através de testes neuropsicológicos e cognitivos, diferentes parâmetros como por exemplo: a atenção, impulsividade, tempo de reacção, memória e velocidade de processamento. Os resultados indicam que tanto a CC como as outras estratégias dietistas não foram associadas com um padrão consistente de comprometimento cognitivo(36).

Os níveis de aderência e de compliance foram bons, verificando-se apenas 2 desistências, uma no grupo de controlo (semana 4) e outra no grupo LCD (semana 5).(34)

O desenho do estudo na Tufts University teve uma estrutura ligeiramente distinta, com a inclusão de 46 participantes, com o IMC a variar entre os 25 e os 30 kg/m², com idades compreendidas entre os 20 e os 42 anos, divididos randomizadamente em quatro grupos. Primariamente foram subdivididos em 2 grandes grupos, sendo que num estariam sujeitos a um CC de cerca de 10% e no outro a redução atingiria os 30%. Posteriormente cada um dos grupos citados seria dividido em 2 grupos, um com uma dieta de alto valor glicémico e outro com baixo valor glicémico. Foram avaliados diferentes parâmetros como as modificações da composição corporal, avaliação quantitativa da actividade da *glutathione peroxidase*, da *catalase*, da *8-epi-PGF2α* (índice de peroxidação dos lípidos), proteínas com grupos carbonil (um marcador de stress oxidativo) e de *8-Hydroxydeoxyguanosine* (marcador de dano no DNA) (37).

Os resultados, ao fim de 6 meses, revelaram um aumento significativo na actividade da *glutathione peroxidase* bem como níveis mais baixos de proteínas carboxiladas em todos os grupos. A massa corporal foi também reduzida. Os outros valores não sofreram alterações estatisticamente significativas. Estes achados indicam que CC de curto termo (10% ou 30%) em indivíduos com moderado excesso de peso, modula alguns, mas não todos os parâmetros de stress oxidativo e de defesas antioxidantes (37).

A estrutura do estudo em Washington era um pouco diferente, incluindo como participantes homens e mulheres com idades compreendidas entre os 50 e os 60 anos de idade, com IMC a variar entre os 23.5 e os 29.9 kg/m², tendo sido divididos em 3 grupos: um grupo de controlo, um grupo submetido a CC (20%), e outro submetido a exercício físico capaz de aumentar em 20% a energia dispendida (EX). O tempo do estudo foi de 12 meses (8,38-40). Os resultados revelaram uma diminuição da massa corporal e da massa gorda ($\approx 25\%$), diminuição do risco cardiovascular, incluindo diminuição do colesterol LDL, do ratio colesterol total/colesterol HDL, de forma similar nos grupos CC e EX (38). Esta redução de

massa corporal foi acompanhada por uma perda de massa muscular, representadas por uma diminuição do tamanho e da força muscular e no $\dot{V}O_{2\max}$, no grupo CC, que não se verificou de todo no grupo EX, pelo menos nos músculos exercitados (39). Verificou-se ainda um aumento da sensibilidade á insulina, bem como um aumento da adiponectina e uma diminuição do ratio TNF- α /adiponectina nos grupos CC e EX (sem diferenças entre os 2 grupos) em relação ao grupo de controlo (40).

Após esta fase, e aprendendo com os erros encontrados, foi desenhada uma segunda fase de estudo, que se encontra ainda a decorrer, com um tempo de estudo maior (24 meses), constituída por um protocolo único para os três centros, randomizado e controlado para investigar os efeitos sustentados da CC neste período. O estudo propunha uma redução de 25% em relação ao *ad libitum*, e foi realizado integrando 225 participantes, entre os quais, homens saudáveis com idades compreendidas entre 21 e 50 anos de idade e mulheres saudáveis entre os 21 e 47 anos de idade. Além destes critérios, também IMC foi utilizado como critério de elegibilidade, variando entre os 22.0 e os 28kg/m². Os objectivos primários levantados eram os de avaliar a existência ou não de uma redução na taxa metabólica basal e na temperatura corporal, pois estes dois aspectos enquadram-se nos mecanismos teóricos nos quais a CC exerce o seu efeito no envelhecimento. Outros objectivos secundários centravam-se na avaliação quantitativa dos valores de *triiodotyronine (T3)* e de TNF- α , o primeiro por ser um potencial mediador da provável adaptação metabólica, e o segundo por poder sugerir que a diminuição da inflamação possa ser um dos mecanismos da CC. Este estudo tem também como objectivo avaliar a segurança deste método quando usado em humanos. A estratégia de intervenção global usa uma abordagem comportamental intensiva com modificações dietéticas antecipadas para melhorar a adesão à CC, usando ainda aconselhamento individual e de grupo como forma de manter altos níveis de motivação e de suporte (33).

MIMÉTICOS – O FUTURO?

A grande motivação para o esforço na procura de substâncias que possam replicar os efeitos positivos da CC foi o reconhecimento que a realização de longos períodos de CC exige um grande esforço de motivação e de empenho na sua manutenção, e que nem todas as pessoas conseguem ultrapassar esses obstáculos, criando assim muitos problemas para a sua implementação como estratégia contra o envelhecimento. Para além disso existem efeitos secundários indesejáveis como a redução de libido, e a possibilidade de haver uma diminuição da densidade óssea com a CC de longo termo, algo que terá ainda de ser confirmado com novos estudos (41).

Num sentido geral, todas as intervenções que evoquem efeitos similares em relação ao envelhecimento, saúde e longevidade, podem ser denominados como miméticos da CC. Pormenorizando, existem certos princípios que os definem, como os enunciados por Ingram et al (2006): 1) mimetizem os efeitos metabólico, hormonal e fisiológico da CC; 2) activem as vias de resposta ao stress observadas na CC; 3) produzirem efeitos similares na longevidade e na redução de doenças relacionadas com a idade; 4) não reduzirem significativamente o aporte de comida, pelo menos a curto prazo, salvaguardando o facto de estas estratégias ao poderem alterar a composição e a massa corporal, poder, a longo prazo, levar a uma redução de consumo de alimentos. Na lista de possíveis miméticos podem incluir-se assim diferentes tipos de substâncias como antioxidantes, hormonas, quelantes de metais, entre outros (41,42).

Organizando de uma forma estruturada os mais promissores miméticos, podemos subdividi-los em grupo segundo a seu mecanismo de actuação e sobre os alvos do processo de envelhecimento realizam os seus efeitos (anexo II).

Um dos grupos considerados é o dos activadores das sirtuinas, em especial do SIRT-1, de que é um bom exemplo o resveratrol. Uma grande variedade de estudos foi conduzida com

o intuito de avaliar o potencial deste composto quer ao nível da longevidade quer sobre os efeitos na saúde. Em ensaios com drasophilas e nematodos, a adição de resveratrol na dieta revelaram um aumento significativo na longevidade (43). Em ratos foram evidentes melhorias ao nível da forma física, e da incidência de patologia cardíaca e catarata, mas quando estes estudos foram expandidos aos primatas o sucesso foi muito mais limitado (41). Apesar do grande número de relatórios positivos, existiram também muitos estudos que relataram o fracasso desta estratégia, e ainda outros que colocaram em causa a activação directa do SIRT-1 pelo resveratrol (44). Mantém-se assim alguma controvérsia neste assunto que novos estudos podem definir melhor qual o real benefício da utilização destes compostos.

Outro grupo importante inclui os inibidores do m-TOR, um alvo central na regulação do metabolismo energético. A inibição genética do m-TOR revelou um aumento na longevidade em diferentes espécies. A inibição farmacológica do m-TOR pode ser feita pela rapamicina, uma substância conhecida pela sua utilização em tratamentos de diversos tumores e mais recentemente no tratamento de doenças neurodegenerativas. Estudos em ratos tiveram resultados prometedores, mas o seu efeito em tumores e nas doenças degenerativas continua a ter o maior foco(32,41,45).

A via de sinalização da insulina é também um alvo importante para a concretização dos efeitos da CC. Além disso, diversos estudos demonstram que a redução dessa via de sinalização tem efeitos benéficos na longevidade. O melhor biomarcador da diminuição dessa sinalização é a redução dos níveis plasmáticos de insulina, efeito que se observa nos estudos de CC. As biguanidas, pela sua robusta capacidade na diminuição dos valores de insulina, e de glicémia tornaram-se fantásticos candidatos à condição de miméticos, sendo actualmente utilizados no tratamento da diabetes. Um dos mais importantes membros desta classe é a metformina (41).

Outro alvo lógico para uma intervenção metabólica passa pela inibição da glicólise, baseando-se no princípio de que uma redução na energia na célula possa levar a uma estimulação celular no sentido de induzir uma resposta similar á CC. Podem ser vários os passos potencialmente inibidos na conversão de glucose em ATP. Desde logo a hexocinase II, o 1º passo neste processo, que pode ser inibida pelo 3-bromopiruvato, um derivado do piruvato. Alguns estudos demonstraram a sua eficiência, embora fossem relatados alguns efeitos adversos, como hepatotoxicidade, redução do metabolismo cerebral e efeitos inibitórios ao nível dos espermatozóides (41). A molécula 2-deoxy-d-glucose, um inibidor da phosphoglucose isomerase, 2º passo na glicólise, demonstrou ter efeitos positivos na inibição tumoral, apresentando características capazes de produzir um fenótipo semelhante à CC, em especial em termos de redução da temperatura corporal, da concentração de insulina e do aumento da protecção ao stress (5,41).

Muitos outros alvos existem para o desenvolvimento de miméticos, para além dos enunciados, podendo pensar-se até na possibilidade de fazer associações entre os diversos grupos, mas mais estudos são necessários para melhor avaliar o potencial destes compostos.

CONCLUSÕES

A contracção calórica continua a ser actualmente uma fonte de interesse, sendo alvo de muita investigação. O aumento de longevidade aparece como um atraente objectivo a alcançar, mas os dados em humanos existentes hoje em dia, são ainda muito escassos e tratam sobretudo da avaliação de biomarcadores, mais relacionados com patologias e factores de risco, do que propriamente com um aumento directo e mensurável da esperança média de vida.

Apesar de teoricamente, atrasando ou eliminando doenças como tumores, doenças cardiovasculares e degenerativas, seja de prever um aumento na longevidade, a aplicação de programas de CC de muito longa duração (≥ 10 anos) não se apresenta de momento uma hipótese viável, por tudo o que implica. Os dados disponíveis sobre os mecanismos da CC são já vastos, mas ainda não completamente compreendidos, devido à imensa complexidade das vias de sinalização que sofrem modificações durante o processo. Os efeitos benéficos encontrados em espécies de curto ciclo de vida ainda não foram completamente validados para espécies com ciclos de vida mais longos como os primatas e seres humanos. Neste momento encontra-se em execução um ensaio de CC de longa duração (2 anos), a fase dois do projecto CALERIE, que pode trazer novas conclusões sobre este tema e abrir novas perspectivas para o futuro.

Obviando os problemas inerentes à CC aparecem os miméticos, com perspectivas muito interessantes, embora sejam ainda alvos de alguma controvérsia, em especial pelos riscos na segurança da sua utilização.

Novos estudos são necessários para uma melhor compreensão quer dos mecanismos utilizados pela CC de forma a produzir os seus efeitos, quer da possibilidade de forma segura aventar que esses efeitos são reproduzíveis na nossa espécie. Além disso, é necessário

comparar os efeitos benéficos desta intervenção nutricional, com aqueles relacionados com bons hábitos alimentares e com dietas consideradas saudáveis, como a dieta mediterrânea. A investigação de miméticos é também necessária e de grande interesse, mesmo que a sua utilidade se revele, não num aumento de longevidade, mas num potencial curativo de algumas doenças relacionadas com a idade, como por exemplo em determinados carcinomas ou na Diabetes Mellitus tipo II.

. A implementação de protocolos de contracção calórica de longa duração não parece actualmente uma medida exequível pelas dificuldades inerentes, quer de motivação, culturais ou outras. Estratégias baseadas neste tipo de intervenção não podem ainda ser recomendadas como sendo capazes de estimular um envelhecimento saudável e uma maior longevidade, pela inexistência de conclusões definitivas sobre os seus reais benefícios e sobre possíveis questões de segurança. São assim necessários mais estudos de investigação sobre esta intervenção dietética a longo prazo em humanos.

REFERÊNCIAS

1. Harman D (2003) The free radical theory of aging. *Antioxid Redox Signal* 5: 557-561.
2. Tosato M, Zamboni V, Ferrini A, Cesari M (2007) The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clinical Interventions in Aging* 2(3): 401-412.
3. Vitetta L, Anton B (2007) Lifestyle and nutrition, caloric restriction, mitochondrial health and hormones: Scientific interventions for anti-aging. *Clinical Interventions in Aging* 2(4): 537-543;
4. Blagosklonny MV (2007) Paradoxes of aging. *Cell Cycle* 6: 2997-3003;
5. Mehta LM, Roth GS (2009) Caloric restriction and longevity: The science and the ascetic experience. *Ann NY AcadSci* 1172: 28-33;
6. Heinbronn LK, Ravussin E (2003) Caloric restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clin Nutr* 78: 361-369;
7. Redman LM, Martin CK, Williamson DA, Ravussin E (2008) Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Physiology & Behavior* 94: 643-648;
8. Genaro PS, Sarkis KS, Martini LA (2009) O efeito da restrição calórica na longevidade. *Arq Bras Endocrinol Metab* 53(5):667-672.
9. Xiang L, He G (2011) Caloric restriction and antiaging effects. *Ann Nutr Metab* 58: 42-48;
10. Trepanowski JF, Canale RE, Marshall KE, Kabir MM, Bloomer RJ (2011) Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: a summary of available findings. *Nutrition Journal* 10: 107;
11. Shanley DP, Kirkwood TB (2007) Caloric restriction does not enhance longevity in all species and is unlikely to do so in humans. *Biogerontology* 7: 165-168;

12. Xue H, Xian B, Dong D, Xia K, Zhu S, Zhang Z, Hou L, Zhang Q, Zhang Y, Han JJ (2007) A modular network model of aging. *Molecular Systems Biology* 3: 147
13. Anderson RM, Weindruch R (2007) Metabolic reprogramming in dietary restriction. *Interdiscip Top Gerontol* 35: 18-38
14. Anderson RM, Weindruch R (2010) Metabolic reprogramming, caloric restriction and aging. *Trends EndocrinolMetab* 21 (3): 134-141
15. Yamaza H, Chiba T, Higami Y, Shimokawa I (2002) Lifespan Extension by caloric restriction: An aspect of energy metabolism. *Microscopy research and technique* 59: 325-330
16. Hipkiss A (2006) On the mechanism of ageing suppression by dietary restriction: Is persistent glycolysis the problem?. *Mech Ageing Dev* 127: 8-15
17. Kalapos MP (2006) Can ageing be prevented by dietary restriction?. *Mech Ageing Dev* 128: 227-228
18. Chiba T, Yamaza ,Shimokawa I (2007) Role of insulin and growth hormone/insulin-like growth factor-I signaling in lifespan extension: rodent longevity models for studying aging and calorie restriction. *Curr. Genomics* 8: 423-428
19. Katic M, Kennedy AR, Leykin I, Norris A, McGettrick A, Gesta S, Russell SJ, Blucher M, Maratos-Flier E, Kahn CR (2007) Mitochondrial gene expression and increased oxidative metabolism: role in increased lifespan of fat-specific insulin receptor knock-out mice. *Agging Cell* 6: 827-839
20. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M (2010) Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver disease. *World J Gastroenterol* 17(23): 2801-2811
21. Shimokawa I, Higami Y (2001) Leptin signaling and aging: insight from caloric restriction. *Mech Ageing Dev* 122: 1511-1519

22. Korbonsits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB (2004) Ghrelin a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 25: 27-38.
23. Briggs DI, Andrews ZB (2011) Metabolic status regulates ghrelin function on energy homeostasis. *Neuroendocrinology* 93: 48-57
24. Hyun DH, Emerson SS, Jo DG, Mattson MP, Cabo R (2006) Calorie restriction up-regulates the plasma membrane redox system in brain cells and suppresses oxidative stress during age. *PNAS* 103: 19908-19912
25. Braeckman BP, Demetrius L, Vanfleteren JR (2006) The dietary restriction effect in *C. elegans* and humans: is the worm a one-milimeter human? *Biogerontology* 7: 127-133
26. Finkel T, Holbrook NJ (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239-247
27. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C (2009) Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews* 8: 18-30
28. Reznick RM, Zong H, Li J, Morino K, Moore IK, Yu HJ, Liu ZX, Dong J, Mustard KJ, Hawley SA, Befroy D, Pupaert M, Hardie DG, Young LH, Shulman GI (2007) Aging-associated reductions in AMP-activated protein kinase activity and mitochondrial biogenesis. *Cell Metab* 5: 151-156
29. Yu BP (2005) Membrane alteration as a basis of aging and the protective effects of calorie restriction. *Mech Ageing Dev* 126: 1003-1010
30. le Bourg E (2005) Calorie restriction to retard aging and increase longevity. *Presse Med* 33: 121-127.
31. Lane MA, Ingram DK, Roth GS (1999) Calorie restriction in nonhuman primates: effects on diabetes and cardiovascular risk. *Toxico Sci* 52 (suppl.): 41-48.

32. Katewa SD, Kapahi P (2010) Dietary restriction and aging. *Aging cell* 9: 105-112
33. Rochon J, Bales CW, Ravussin E, Redman LM, Holloszy JO, Racette SB, Roberts SB, Das SK, Romashkan S, Galan KM, Hadley EC, Kraus WE (2011) Design and conduct of the CALERIE study: comprehensive assessment of the long-term effects of reducing intake of energy. *J GerontolA BiolSci Med Sci* 66A(1): 97-108
34. Heilbronn LK, Jonge L, Frisard MI, DeLany JP, Meyer DEL, Rood J, Nguyen T, Martin C, Volaufova J, Most MM, Greenway FL, Smith SR, Williamson DA, Deutsch WA, Ravussin E (2006) Effect of 6-mo. calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation and oxidative stress in overweight subjects. *JAMA* 295(13): 1539-1548
35. Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, Smith SR, Ravussin E (2007) Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Med* 4(3): e76
36. Martin CK, Anton SD, Han H, York-Crowe E, Redman LM, Ravussin E (2007) Examination of cognitive function during six months of calorie restriction: results of a randomized controlled trial. *Rejuvenation Res* 10(2): 179-190
37. Meydani M, Das S, Band M, Epstein S, Roberts S (2011) The effect of calorie restriction and glycemic load on measures of oxidative stress and antioxidants in humans: results from the CALERIE trial of human caloric restriction. *J Nutr Health Aging* 15(6): 456-460
38. Fontana L, Villareal DT, Weiss EP, Racette SB, Steger-May K, Klein S, Holloszy JO (2007) Calorie restriction or exercise: effects on coronary heart disease risk factors. A randomized, controlled trial. *AJP* 293: 197-202
39. Weiss EP, Racette SB, Villareal DT, Fontana L, Steger-May K, Schechtman KB, Klein S, Ehsani A, Holloszy JO (2006) Lower extremity muscle size and strength and

- aerobic capacity decrease with caloric restriction but not with exercise- induced weight loss. *AJP* 102: 634-640
40. Weiss EP, Racette SB, Villareal DT, Fontana L, Steger-May K, Schechtman KB, Klein S, Ehsani A, Holloszy JO (2006) Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. *AJP* 84: 1033-1042
 41. Ingram DK, Roth GS (2011) Glycolytic inhibition as a strategy for developing calorie mimetics. *Experimental Gerontology* 46: 148-154
 42. Ingram DK, Zhu M, Mamczarz J, Zou S, Lane MA, Roth GS (2006) Calorie restriction mimetics: an emerging research field. *Aging Cell* 5: 97-108
 43. Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D (2004) Sirtuins activators mimic caloric restriction and delay aging in metazoans. *Nature* 430: 686-689
 44. Pacholec M, Bleasdale JE, Chrunyk B, Cunningham D, Flynn D, Garofalo RS, Griffith D, Griffor M, Loulakis P, Pabst B, Qiu X, Stockman B, Thanabal V, Varghese A, Ward J, Withka J, Ahn K (2010) SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem* 285: 8340-8351
 45. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, Nadon NL, Wilkinson JE, Frenkel K, Carter CS, Pahor M, Javors MA, Fernandez E, Miller RA (2009) Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460: 392-395

ANEXO I

	Pennington	Tufts	Washington
Protocolo	<ul style="list-style-type: none"> • 48 participantes; • Duração de 6 meses; • IMC (25-30kg/m²); • Idades entre 25 e os 50 anos; • Sem comorbilidades; • 4 grupos: -Controlo: <i>Ad libitum</i>; - CC: - 25% de calorias; <li style="padding-left: 20px;">- CREX: CC de 12.5% + 12.5 de exercício; <li style="padding-left: 20px;">- LCD: 890 kcal/dia até reduzir 15% do peso seguida de manutenção de peso. 	<ul style="list-style-type: none"> • 46 participantes; • Duração de 6 meses; • IMC (25-30kg/m²); • Idades entre 20 e os 42 anos; • 4 grupos: <li style="padding-left: 20px;">- <u>CC 10%</u>: <li style="padding-left: 40px;">- alto valor glicémico; <li style="padding-left: 40px;">- baixo valor glicémico; <li style="padding-left: 20px;">- <u>CC 30%</u>: <li style="padding-left: 40px;">- alto valor glicémico; <li style="padding-left: 40px;">-baixo valor glicémico. 	<ul style="list-style-type: none"> • 46 participantes; • Duração de 12 meses; • IMC (23.5-29.9kg/m²); • Idades entre 50 e os 60 anos; • 3 grupos: -Controlo: <i>Ad libitum</i>; - CC: - 20% de calorias; - EX: 20%.
Parâmetros avaliados	<ul style="list-style-type: none"> • Composição corporal; • Temperatura corporal; • DHEAS; • Glicose; • Insulina; • Hormonas tiroideias; • Dano no DNA; • Biogénese mitocondrial: <li style="padding-left: 20px;">- DNA mitocondrial; <li style="padding-left: 20px;">- consumo total de oxigénio; <li style="padding-left: 20px;">- expressão de genes como PGC-1α, AMPK e SIRT1; • Avaliação Psicológica e cognitiva. 	<ul style="list-style-type: none"> • Composição corporal; • Actividade: <li style="padding-left: 20px;">- <i>glutathione peroxidase</i>; <li style="padding-left: 20px;">- <i>catalase</i>; <li style="padding-left: 20px;">- <i>8-epi-PGF2α</i>; • Proteínascarboniladas; • Dano no DNA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Composição corporal; • Risco cardiovascular: <li style="padding-left: 20px;">- LDL; <li style="padding-left: 20px;">- Colesterol total/HDL; • Massa muscular: <li style="padding-left: 20px;">- $\dot{V}O_2$ max; <li style="padding-left: 20px;">- Força muscular.
Resultados	<ul style="list-style-type: none"> • Grupos CC e CREX: <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Insulina; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Temperatura corporal; <li style="padding-left: 40px;">- ↓ Peso (10%); <li style="padding-left: 40px;">- ↓ 24% Massa gorda; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Dano no DNA; <li style="padding-left: 20px;">- ↑ Biogénese mitocondrial; <li style="padding-left: 40px;">- Sem alterações significativas sobre a vitalidade, humor ou outras variáveis psicológicas; <li style="padding-left: 40px;">- Sem comprometimento cognitivo; <li style="padding-left: 20px;">- Sem diferenças significativamente estatísticas entre CC e CREX. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grupos CC 10% e 30%: <li style="padding-left: 20px;">- ↑ <i>glutathione peroxidase</i>; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Proteínascarboniladas; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Peso; <li style="padding-left: 40px;">- Sem alterações significativas nos outros parâmetros; <li style="padding-left: 40px;">- Sem diferenças significativamente estatísticas entre CC 10% e CC 30%. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grupos CC e EX: <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Peso; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ LDL; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Colesterol total/HDL <li style="padding-left: 20px;">- ↓ $\dot{V}O_2$ max; <li style="padding-left: 20px;">- ↓ Força muscular; • Grupos CC: <li style="padding-left: 20px;">-> perda de massa muscular em relação ao grupo EX.

Tabela 1 – Fase I do projecto CALERIE: métodos e resultados dos 3 centros envolvidos no programa.

ANEXO II

	Acção	Resultados	Problemas
<u>Resveratrol</u>	Activador das sirtuinas	<ul style="list-style-type: none"> • Drasophilas e nematodos: ↑ longevidade; • Ratos: ↓ incidência de patologia cardíaca e catarata; • Sucesso limitado nos primatas. 	Dúvidas sobre activação directa do SIRT1
<u>Rapamicina</u>	Inibidor do m-TOR	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ longevidade em diferentes espécies; • Efeitos positivos no tratamento de tumores e doenças neurodegenerativas. 	- Alguns estudos relatam efeito contrário sobre a β-amiloide;
<u>Metformina</u>	Via de Sinalização da insulina	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ dos valores de insulina, e de glicemia; • Utilizada no tratamento da diabetes. 	- Alguns efeitos secundários;
<u>3-bromopiruvato</u>	Inibidor da Hexocinase II	<ul style="list-style-type: none"> • Alguns resultados positivos 	<ul style="list-style-type: none"> - Hepatotoxicidade; - Redução do metabolismo cerebral; - Efeitos inibitórios ao nível dos espermatozóides;
<u>2-deoxy-d-glucose</u>	Inibidor da phosphoglucose isomerase	<ul style="list-style-type: none"> • Efeitos positivos na inibição tumoral; • ↓ temperatura corporal; • ↓ concentração de insulina; • ↑ protecção ao stress. 	- Toxicidade em doses alta.

Tabela 2 – Miméticos da CC: tipos de acção, resultados dos estudos e possíveis problemas.