UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

**Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do
leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um
programa de treinamento de força**

Alan Lins Fernandes

São Paulo
2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

**Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do
leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um
programa de treinamento de força**

Alan Lins Fernandes

São Paulo
2017

ALAN LINS FERNANDES

**Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do
leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um
programa de treinamento de força**

VERSÃO CORRIGIDA

Tese apresentada à Escola de Educação Física
e Esporte da Universidade de São Paulo, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Área de Concentração:
Biodinâmica do Movimento Humano

Departamento de Biodinâmica do Movimento
do Corpo Humano

Orientador:
Prof. Dr. Bruno Gualano

São Paulo

2017

Fernandes, Alan Lins

Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um programa de treinamento de força /Alan Lins Fernandes -- São Paulo: [s.n.], 2017. i, 124p.

Tese de Doutorado - Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gualano

1. Treinamento de força 2. Proteína de origem animal 3. Proteína de origem vegetal 4. Sarcopenia 5. Efeitos terapêuticos. Diferentes fontes de proteína: “*Pro-Elderly*” Study.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FERNANDES, Alan Lins

Título: Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um programa de treinamento de força.

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos que me fizeram e aos que me ressignificaram, dedico este momento

Agradecimentos

À Deus em sua infinita Onipotência, Onipresença e Onisciência, o qual me concedeu o privilégio da vida e tudo o quanto me acrescentou até aqui.

Aos meus pais (Eliane e Amaro) que me presentearam com um legado de valores e princípios inegociáveis, sem os quais não teria persistido no propósito e, portanto, alcançado o êxito.

Aos meus irmãos (Sandra e Alex) e demais familiares (representados pela minha sobrinha Emily), os quais me fortaleceram com suas expectativas e incentivos.

À FAPESP pelo auxílio financeiro que consentiu a realização da minha pesquisa ora representada pela presente tese.

À Escola de Educação Física e Esporte da USP que concedeu a estrutura necessária para o andamento da pesquisa.

Ao meu orientador - Professor Dr. Bruno Gualano-, o qual me confiou a oportunidade de realizar o presente trabalho e, conseqüentemente, obter múltiplas experiências que nortearão minha carreira acadêmica.

Aos meus amigos que se gastaram em me ajudar, fortalecer e tolerar. Foram inúmeros os momentos em que precisei contar com seus ouvidos e, em todos eles, encontrei amparo e motivação.

Aos voluntários que participaram deste projeto sem os quais não teríamos pesquisa.

Aos funcionários de inúmeros departamentos da USP que contribuíram - dentro de suas possibilidades- para a conclusão desta etapa de formação.

“As rugas deviam indicar apenas onde os sorrisos estiveram”

MarkTwain

(Samuel Langhorne Clemens, 1835-1910).

RESUMO

FERNANDES, A.L. **Efeitos da suplementação de proteína de soja versus proteína do soro do leite em idosos com pré-fragilidade e fragilidade submetidos a um programa de treinamento de força.** 2017. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

A fragilidade cursa com importantes alterações biológicas, dentre as quais destacam-se uma considerável perda de massa, força e função muscular. O consumo de proteínas aliado ao treinamento de força, parece atuar como uma estratégia promissora para atenuar alguns danos morfofuncionais decorrentes do envelhecimento. Portanto, a presente tese tem como objetivo central investigar os efeitos de diferentes fontes de suplementação de proteínas (Soja versus *whey*) combinadas ao treinamento de força sobre a massa e força muscular em idosos com pré-fragilidade e fragilidade. Esta tese faz parte de um grande ensaio clínico registrado na plataforma *clinicaltrial.gov* (NCT01890382), intitulado “*Protein Intake and Resistance Training in Aging: The Pro Elderly Study*”, com desenho aleatorizado, duplo-cego, controlado por placebo e de grupos paralelos. Os voluntários foram randomicamente alocados para compor os três grupos experimentais, placebo (PLA, n = 21), *Whey* (n = 22) e Soja (n = 22). Todas as análises seguiram o princípio de intenção de tratamento (ITT) através do *Mixed Model* (SAS) para análises de medidas repetidas e, quando pertinente, post hoc de Tukey para comparações múltiplas. Os resultados demonstraram que a média de ingestão proteica total (1,2 e 1,3 g · kg⁻¹ PC · d⁻¹ nos grupos *whey* e soja, respectivamente) não foi capaz de gerar diferenças entre as fontes ou superioridade ao placebo no tocante a massa, força e função muscular dos idosos com pré-fragilidade e fragilidade. Todos os grupos apresentaram aumento na massa magra (+ 0,4 kg), massa apendicular (+ 0,3 kg), ganhos de força muscular nos testes de 1RM no *Leg-Press* (+ 13 kg) e no supino (+ 5,0 kg), aumento do PT (+ 8,5 N.m) e da TDF geral (+ 60 N.m.s⁻¹), aumento na AST dos músculos reto femoral (+ 0,04 cm²) e vasto lateral (+1,3 cm²), melhora da resistência muscular de membros inferiores (+ 1,1 u.a) e melhora na qualidade de vida, sem distinção entre PLA, *whey* e soja. Portanto, não foram observadas diferenças entre as fontes proteicas em resposta ao TF sobre a massa, força ou função muscular de idosos pré-frágeis e frágeis.

Palavras-chave: Proteínas; Idosos; Treinamento de Força; Fragilidade; Pré-Fragilidade.

ABSTRACT

FERNANDES, A.L. **Effects of soy protein supplementation versus whey protein in pre-frail and frail elderly submitted to a resistance training program.** 2017. Thesis (PhD in Science) - School of Physical Education and Sport, University of Sao Paulo, Sao Paulo. 2017.

Frailty is a geriatric syndrome characterized by progressive biological decline and associated with decreased muscle mass, strength, and functional capacity. Protein consumption in ideal amounts and of high biological value, combined with resistance training, has been shown promising to attenuate age-related damages. Although, the present research aimed to investigate the chronic effects of different sources of protein supplementation (Soy *versus* whey) combined with resistance training in pre-frail and frail elderly. This thesis is part of a large clinical trial enrolled on the clinicaltrial.gov platform (NCT01890382) entitled Protein Intake and Resistance Training in Aging: “The Pro Elderly Study”, in a randomized, double-blind, placebo-controlled and parallel-group design. Experimental design were randomly composed of three groups, placebo (PLA, n = 21), Whey (n = 22) and Soy (n = 22). All analyzes were evaluated in intention to treat procedure throughout Mixed Model (SAS), was used for analysis of repeated measures and, when appropriate, post hoc Tukey for multiple comparisons. The mean total protein intake (1.2 and $1.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ in the whey and soy groups, respectively) was not able to induce different responses between protein sources and superiority to placebo in muscle mass, strength and function in pre-frail and frail elderly. All groups increased lean mass (+ 0.4 kg), appendicular mass (+ 0.3 kg), muscle strength gains during 1-RM test in Leg-Press (+ 13 kg) and chest-press (+5,0 kg), increased peak torque (+ 8.5 Nm) and general PTO (+ 60 Nms⁻¹), CSA of rectus femoris (+ 0.04 cm²) and vastus lateralis (+1.3 cm²), timed-stands (+ 1.1 a.u) and improved quality of life for PLA, whey and soy. Therefore, no differences were observed between protein sources in response to ST on muscle mass, strength or function in pre-frail and frail elderly.

Keywords: Protein; Elderly; Resistance Training, Pre-frail; Frail.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. BREVE REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1. Incapacidade <i>versus</i> Fragilidade	24
2.2. Complexidade multifatorial da Fragilidade	25
2.3. Manifestações clínicas essenciais da fragilidade	26
2.4. Massa e força muscular como componentes centrais na Fragilidade	29
2.5. Resistência anabólica e balanço protéico no envelhecimento e na fragilidade	30
2.6. Exercício de força e suplementação de proteína na fragilidade	34
2.7. Diferentes fontes de proteína e exercício de força: animal e vegetal nas respostas morfofuncionais	36
3. OBJETIVOS.....	43
3.1. Objetivo Geral	43
3.2. Objetivos Específicos	43
4. DELINEAMENTO GERAL.....	44
5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	45
5.1. Seleção e Recrutamento dos Voluntários.....	47
5.2. Protocolo de Fragilidade.....	50
5.3. Variáveis de Controle Experimental.....	51
5.3.1. Teste Ergométrico.....	51
5.3.2. Suplementação de proteínas e vendamento do estudo.....	52
5.3.3. Avaliação do consumo alimentar.....	54
5.4 Protocolo de treinamento.....	55
5.5 Desfechos Primários.....	56
5.5.1 Composição corporal.....	56
5.5.2 Força muscular dinâmica máxima.....	56
5.5.3 Pico de torque e taxa de desenvolvimento de força	57
5.5.4 Área de secção transversal muscular	58
5.6 Desfechos Secundários.....	59
5.6.1 Avaliações da Funcionalidade.....	59
5.6.1.1 Risco de quedas, equilíbrio estático e dinâmico	59
5.6.2 Resistência muscular de membros inferiores.....	60
5.6.3 Mobilidade funcional.....	60

5.6.4	Avaliações sanguíneas.....	61
5.6.4.1	Dosagem glicêmica e insulinêmica.....	61
5.6.4.2	Perfil lipídico.....	62
5.6.4.3	Outras análises.....	62
5.6.5	Mini avaliação nutricional.....	62
5.6.6	Avaliação da qualidade de vida.....	63
5.7	Análise estatística.....	63
6.	RESULTADOS.....	65
6.1.	Participantes.....	65
6.2.	Variáveis de Controle Experimental.....	67
6.2.1.	Consumo alimentar.....	67
6.2.2.	Adesão à suplementação e ao treinamento e Vendamento	71
6.2.3.	Efeitos Adversos.....	73
6.3	Desfechos Primários.....	73
6.3.1	Composição Corporal.....	73
6.3.2	Força muscular dinâmica máxima.....	76
6.3.3	Pico de torque e taxa de desenvolvimento de força.....	78
6.3.4	Área de secção transversal muscular.....	81
6.4	Desfechos Secundários.....	83
6.4.1	Funcionalidade.....	83
6.4.2	Avaliações sanguíneas.....	86
6.4.3	Mini avaliação nutricional.....	91
6.4.4	Avaliação da qualidade de vida.....	91
6.4.5	Análises de correlação	93
7.	DISCUSSÃO.....	95
8.	CONCLUSÃO.....	101
9.	REFERÊNCIAS.....	101
10.	SUPORTE FINANCEIRO E CONFLITOS DE INTERESSE.....	124

1. INTRODUÇÃO

A fragilidade é uma síndrome geriátrica, caracterizada por declínio das reservas biológicas e das capacidades funcionais (Fried, Tangen et al. 2001). Esta síndrome cursa com a diminuição da resistência do indivíduo aos fatores estressores, tornando-o mais vulnerável às fraturas, quedas, institucionalizações e até a mesmo a morte (Campbell and Buchner 1997, Fried, Tangen et al. 2001).

De etiologia multifatorial, a fragilidade pode ser melhor predita a partir de seus efeitos adversos em comparação ao seu diagnóstico *per se* (Winograd, Gerety et al. 1991). Neste sentido, um importante estudo de Campbell e Buchner (1997) apresentou elementos que diferem conceitualmente a fragilidade da incapacidade. A fragilidade indica instabilidade do sistema biológico que predispõe ao risco de perda (ou perda adicional) da função, ao passo que a incapacidade indica a própria perda de função (Campbell and Buchner 1997). Ainda, a incapacidade pode apresentar-se de maneira estável (i.e., quando o dano funcional se mantém constante) ou instável (i.e., quando ocorre uma flutuação da função por um curto período), sendo, esta última, decorrente do impacto da fragilidade sobre os múltiplos sistemas biológicos (Campbell and Buchner 1997).

Do ponto de vista musculoesquelético, a fragilidade tende a ser acompanhar por uma considerável perda de massa e/ou força muscular, que corrobora de maneira *sine qua non* a incapacidade física (Frontera, Hughes et al. 1991, Fried, Tangen et al. 2001, Binder, Schechtman et al. 2002, Morley 2008, Breen and Phillips 2011, Wall and van Loon 2013).

Um dos primeiros relatos de perda de massa muscular induzida pelo envelhecimento (na ocasião denominada como miotrofia), particularmente notada nas mãos e pés, datam de 1931 (Critchley 1931). Na década de 70 (Novak 1972, Parizkova 1974) a perda de massa muscular já era tida como um importante marcador dos danos causados pelo envelhecimento, embora, somente

em 1993 fora denominada como sarcopenia com base na tradução grega “pobreza de carne” (Evans and Campbell 1993).

Em 1997, um elegante trabalho de Roubenoff et al., (Roubenoff, Heymsfield et al. 1997) sugere fatores aceitos e hipotetizados que estariam relacionados à sarcopenia (Figura 1). Dentre eles, destacam-se a diminuição na secreção do hormônio do crescimento (GH) e a inatividade física como as propostas aceitas na época, ao passo que as perdas de motoneurônio alfa, alterações nos processos de ubiquitinação, baixo consumo calórico, perda de estrógeno/andrógeno e concentrações elevadas de interleucina 6 (IL-6) seriam fatores hipoteticamente relacionados aos mecanismos da sarcopenia.

Figura 1. Possíveis mecanismos para a Sarcopenia. Abreviações: GH = hormônio do crescimento; IL-6 = interleucina 6. Adaptado de Roubenoff et al., (Roubenoff, Heymsfield et al. 1997)

A sarcopenia tem sido clinicamente definida como a perda de massa muscular no idoso, cujos níveis se mostram pelo menos dois desvios-padrão abaixo da média da população jovem de mesmo sexo e etnia (Morley 2008, Santilli, Bernetti et al. 2014). Alguns estudos (Tanko, Movsesyan et al. 2002, Rolland, Perry et al. 2007, Morley 2008) optaram por avaliar a perda de massa muscular a partir do cálculo da massa apendicular (i.e. massa magra dos braços + pernas [g]/ altura² [m]) em detrimento da estimativa feita a partir da massa magra total, particularmente porque há uma maior representação da massa muscular na massa apendicular (aproximadamente 75%) em comparação a massa magra total (aproximadamente 60% composta por massa muscular) (Morley 2008).

Adicionalmente, a sarcopenia acompanha importantes alterações de âmbito muscular que podem variar desde a redução no número de células satélites, diminuição no conteúdo total de proteínas contrácteis, atrofia das fibras musculares (especialmente as do tipo II), redução do número de unidades motoras funcionais, até um elevado acúmulo de gordura e/ou tecidos conectivos intramusculares que podem resultar na manifestação de quadros inflamatórios patológicos (Evans and Campbell 1993, Roubenoff, Heymsfield et al. 1997, Baumgartner, Koehler et al. 1998, Bauer and Sieber 2008, Cooper, Dere et al. 2012, Morley 2012, Nilwik, Snijders et al. 2013). Estas alterações tendem a refletir em prejuízos sobre inúmeras capacidades físicas, dentre as quais destaca-se a perda de força muscular como uma das mais expressivas (Hughes, Frontera et al. 2001, Rolland, Perry et al. 2007).

A perda de força muscular que ocorre no envelhecimento denomina-se dinapenia, e este termo foi estabelecido pela primeira vez por Clark e Manini (2008) em alusão ao conceito de sarcopenia. Contudo, os relatos das investigações no tocante ao impacto desta perda sobre a capacidade funcional de idosos antecedem a adoção do supracitado termo (Hughes, Frontera et al. 2001).

Estudos a partir da década de 80 (Frontera, Meredith et al. 1988, Rogers and Evans 1993, Hughes, Frontera et al. 2001) já apontavam a força como um importante indicador da qualidade muscular e preditor de mortalidade (Goodpaster, Park et al. 2006, Newman, Kupelian et al. 2006). Estas evidências reiteraram a necessidade de se investigar a dinapenia – em adição a bem estabelecida influência da sarcopenia - como um fator adicional indispensável a compreensão da fragilidade (Clark and Manini 2008, Morley 2008).

Similarmente, ainda não se sabe a natureza etiológica da sarcopenia e dinapenia, embora seja possível conjecturar que estas perdas estariam amplamente relacionadas às alterações dos componentes regulatórios da massa muscular esquelética, isto é, a interação dinâmica entre síntese (Winograd) e degradação [DPM] proteica muscular (Figura 2). Em indivíduos jovens saudáveis, a área sobre a curva (ASC) do balanço proteico positivo (i.e., área em preto na figura XX) e negativo (i.e., área em branco) são equivalentes ao longo do dia (SPM = DPM), resultando em manutenção da massa muscular (Tang and Phillips 2009).

FIGURA 2. Taxa de flutuação de síntese (SPM) e degradação (DPM) proteica muscular ao longo do dia em jovens saudáveis. Balanço protéico constante. ↑ = ingestão de proteínas. Adaptado de Devries e Phillips (Devries and Phillips 2015).

Ainda sobre o aspecto muscular, reiteramos que a perda de massa é uma das manifestações mais visíveis no idoso (Morley 2008, Santilli, Bernetti et al. 2014). Contudo, esta manifestação parece não ser induzida por uma elevada taxa de DPM. Ao contrário, alguns autores sugerem que as vias de DPM não apresentam importantes mudanças decorrentes do envelhecimento (Breen and Phillips 2013, Devries and Phillips 2015), e que o balanço proteico negativo demonstrado nesta população, seria, portanto, induzido por uma baixa eficiência na promoção de SPM (Bauer, Biolo et al. 2013, Phillips 2015, Bell, von Allmen et al. 2016). Além disso, alguns fatores como o reduzido consumo habitual de proteínas e a pouca ou ausente prática regular de exercício físico potencializaria esta redução na eficiência da SPM (Bauer, Biolo et al. 2013, Phillips 2015, Bell, von Allmen et al. 2016).

Em comparação aos jovens, a população idosa naturalmente apresenta uma resposta de SPM atenuada diante do mesmo estímulo anabólico (Figura 3) (Dardevet, Remond et al. 2012). Este fenômeno é conhecido como resistência anabólica (Cuthbertson, Smith et al. 2005, Katsanos, Kobayashi et al. 2005, Burd, Gorissen et al. 2013), e tende a gerar impacto sobre a resposta muscular dos idosos, mesmo diante de estímulos genuinamente anabólicos (e.g., a ingestão de proteínas e o exercício de força) (Wall, Gorissen et al. 2015). Deste modo, é sensato considerar que o idoso necessitaria de um maior estímulo anabólico - por exemplo, um maior consumo de proteína em associação ao exercício de força -, a fim de “reestabelecer” a magnitude de resposta ideal em comparação aos jovens saudáveis (Yang, Churchward-Venne et al. 2012).

FIGURA 3. A figura [a] representa a resposta de SPM após uma dada quantidade de aminoácidos que gerariam uma boa resposta muscular anabólica em indivíduos jovens saudáveis. A figura [b] também ilustra a resposta de SPM após a mesma quantidade de aminoácidos administradas aos jovens, representando a menor magnitude de resposta muscular anabólica demonstrada pelos idosos. Adaptado de Dardevet et al., (Dardevet, Remond et al. 2012).

O emprego do exercício de força tem sido fortemente sugerido por sua capacidade de sensibilizar o músculo esquelético para uma melhor resposta de SPM (Breen and Phillips 2011) na presença de proteínas e/ou aminoácidos (Biolo, Tipton et al. 1997, Dideriksen, Reitelseder et al. 2011, Pennings, Boirie et al. 2011, Pennings, Koopman et al. 2011, Symons, Sheffield-Moore et al. 2011, Tieland, van de Rest et al. 2012). Os estudos, de natureza predominantemente aguda, têm demonstrado na população idosa a importância de ingerir quantidades suficientes de proteína - sobretudo de alto valor biológico -, de modo a promover um bom estímulo anabólico, obviamente,

em associação à prática regular de exercícios de força (Yarasheski, Zachwieja et al. 1993, Biolo, Tipton et al. 1997, Tipton, Rasmussen et al. 2001, Dreyer, Drummond et al. 2008, Drummond, Dreyer et al. 2008, Witard, Tieland et al. 2009, Yang, Breen et al. 2012).

Na perspectiva de uma quantidade ideal, alguns autores (Paddon-Jones and Rasmussen 2009) sugerem que a dose entre 25 – 30g por refeição (considerando um idoso de aproximadamente 75 Kg) seria necessária para gerar, maximamente, a SPM. Outros (Yang, Breen et al. 2012), sugerem que algo em torno de 40g seria capaz de promover de maneira ótima a resposta anabólica nesta população. Se considerarmos a quantidade relativa ao peso corporal, uma recente análise retrospectiva (Moore, Churchward-Venne et al. 2015) sugere o consumo de $0,4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de proteína para estimular a SPM em idosos.

Até o presente momento, a recomendação (*recommended dietary allowance* - RDA) para o consumo de proteína é de $0,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, tanto para homens como para mulheres, a partir de 19 anos. Esta recomendação foi estabelecida pelo Instituto de Medicina e baseia-se em estudos de curta-duração que avaliaram o balanço nitrogenado em adultos jovens (Trumbo, Schlicker et al. 2002, Rand, Pellett et al. 2003). Todavia, o consumo de proteína conforme a RDA se mostra insuficiente para promover ganhos de massa e força muscular com o treinamento de força (TF), especialmente em idosos (Tang, McCabe et al. 2014, Rafii, Chapman et al. 2015, Rafii, Chapman et al. 2016). Além disso, a corrente recomendação não é capaz de promover uma saúde ideal ou mesmo prevenir a perda de massa muscular induzida pela sarcopenia (Campbell, Crim et al. 1995, Daly, O'Connell et al. 2014). Por esta razões, a adequabilidade da RDA tem sido alvo de debates ao longo das duas ultimas décadas (Campbell, Trappe et al. 2001, Thalacker-Mercer, Fleet et al. 2007, Wolfe and Miller 2008, Paddon-Jones and Rasmussen 2009, Morton, Murphy et al. 2017).

Outro ponto importante trata-se do valor biológico da proteína. De um modo geral, ele é baseado no conteúdo de aminoácidos, na digestibilidade e utilização em diversas funções do organismo (i.e., biodisponibilidade) (Eggum 1991). O conteúdo de aminoácidos, particularmente

os aminoácidos essenciais (AAE), e a quantidade de leucina presente na proteína paracem ser os principais fatores de influência sobre a magnitude do estímulo anabólico (Breen and Phillips 2011, Pennings, Boirie et al. 2011, Pennings, Koopman et al. 2011, Dardevet, Remond et al. 2012, Yang, Breen et al. 2012, Yang, Churchward-Venne et al. 2012, Phillips 2015), especialmente na comparação entre diferentes fontes proteicas (Schaafsma 2000, Yang, Churchward-Venne et al. 2012, van Vliet, Burd et al. 2015).

O *whey protein* tem sido apontado por sua alta capacidade de estimular a SPM em repouso ou após exercício, em jovens ou idosos, comparado aos efeitos promovidos por outras proteínas como a caseína e a soja (Tang, Moore et al. 2009, Pennings, Boirie et al. 2011, Yang, Churchward-Venne et al. 2012). O *whey protein* é solúvel em ácido, facilitando sua digestão no estômago e a chegada de seus AA na corrente sanguínea, que, por sua vez tem o papel de estimular a SPM (Katsanos, Kobayashi et al. 2006, Dreyer, Drummond et al. 2008, Tang and Phillips 2009). Contudo, a proteína de soja também é considerada completa, de rápida digestão e absorção (Boirie, Dangin et al. 1997, Bos, Metges et al. 2003), embora, o que de fato as diferem, é a quantidade de AAE, de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) e de leucina (Anthony, Anthony et al. 2001, Devries and Phillips 2015).

Um interessante estudo de Yang et al., (2012) se propôs comparar as mudanças na SPM de idosos em repouso e após o exercício de força a partir da ingestão de diferentes doses de proteína de soja *versus whey protein*. Os resultados demonstraram que a SPM foi maior aos que suplementaram com *whey protein*, ao passo que os voluntários suplementados com a proteína de soja demonstraram maiores taxas de oxidação de leucina corporal total. Os autores sugerem que estas diferenças podem estar relacionadas a menor capacidade de leucinemia pós-prandial e as maiores taxas de oxidação após a ingestão da proteína de soja em comparação ao *whey protein*.

Pouco se sabe acerca dos mecanismos sinalizadores de direcionamento protéico às funções muscular ou esplênicas. Além disso, há um reduzido número de estudos na população idosa no

tocante as diferentes fontes de proteína em associação ao exercício de força, e estes, predominantemente, com delineamento agudo (Haub, Wells et al. 2002, Haub, Wells et al. 2005, Yang, Churchward-Venne et al. 2012, Maltais, Ladouceur et al. 2016, Thomson, Brinkworth et al. 2016).

Crônicamente, a maioria dos estudos utilizaram-se das estratégias de suplementação com apenas umas das fontes de proteína em associação ao treinamento de força (TF) em idosos saudáveis (Campbell, Crim et al. 1995, Candow, Little et al. 2008, Holm, Olesen et al. 2008, Iglay, Apolzan et al. 2009, Kukuljan, Nowson et al. 2009, Verdijk, Jonkers et al. 2009, Bemben, Witten et al. 2010) ou com fragilidade (Fiatarone, O'Neill et al. 1994, Bonnefoy, Cornu et al. 2003, Tieland, Dirks et al. 2012, Tieland, van de Rest et al. 2012, Dirks, Tieland et al. 2017).

Os achados se mostraram controversos, e apenas os estudos de Kukuljan et al., (2009) e Candow et al., (2008) demonstraram aumento da massa e força muscular nos idosos saudáveis. Já nos idosos com fragilidade, foram observadas melhoras na massa e força muscular (Tieland, Dirks et al. 2012, Dirks, Tieland et al. 2017), e função (Bonnefoy, Cornu et al. 2003, Tieland, van de Rest et al. 2012) em favor da suplementação proteica.

Semelhantemente, o supracitado comportamento foi observado em recentes metanálises (Cermak, Res et al. 2012, Finger, Goltz et al. 2015, Liao, Tsauo et al. 2017, Morton, Murphy et al. 2017) que reuniram os melhores ensaios clínicos randomizados (ECR) na população idosa. No geral, o efeito agrupado (*pooled effect*) apresentou melhora na massa e força muscular dos avaliados. Entretanto, ao observar os estudos individualmente, todas as metanálises demonstraram um expressivo número de estudos que não apresentaram efeitos estatisticamente significantes em seus resultados para as mesmas variáveis.

No estudo de Finger et al., (Finger, Goltz et al. 2015), nem mesmo o efeito agrupado foi capaz de demonstrar significância estatística para a massa muscular ou força em favor da suplementação proteica e TF. Já Liao et al., (Liao, Tsauo et al. 2017), ao avaliar os ensaios com

duração inferior a 12 semanas, não demonstrou significância estatística no efeito agrupado para a massa magra total ou apendicular de homens e/ou mulheres idosas, sugerindo ausência de efeito na suplementação protéica em associação ao TF.

Um dos fatores de maior contribuição para tamanha divergência compreende os diferentes aspectos metodológicos aplicados entre os estudos, os quais variaram desde o protocolo de treinamento (i.e, que variou de 12 a 72 sessões de treino), duração da intervenção (i.e., entre 10 - 24 semanas), frequência de treinamento (i.e, de 2-7 vezes/semana), até a ingestão proteica média assumida (i.e., variação de 10 – 42 g/dia de fontes/tipos variados) pela dieta ou suplemento.

Quando se trata da comparação entre as fontes animal e vegetal em resposta ao TF, percebe-se, novamente, a ausência de efeitos significantes sobre a massa, força e função muscular nos quatro ECR que avaliaram idosos (Haub, Wells et al. 2002, Haub, Wells et al. 2005, Maltais, Ladouceur et al. 2016, Thomson, Brinkworth et al. 2016). Além disto, não há até o presente momento um ECR que se propôs avaliar os efeitos das diferentes fontes de proteína em idosos com fragilidade. Dada a natureza multifatorial desta síndrome e o referido impacto sobre os diferentes órgãos e sistemas biológicos, reitera-se a necessidade de obtermos inferências robustas acerca do real efeito destas fontes sobre os aspectos morfofuncionais do idosos com fragilidade. Portanto, o presente ECR é o primeiro estudo cujo o objetivo foi investigar os efeitos de diferentes fontes de suplementação de proteínas (Soja versus *whey protein*) combinadas ao TF sobre a massa e força muscular de idosos com pré-fragilidade e fragilidade. Acredita-se que cronicamente o grupo suplementado com *whey* demonstre efeitos superiores ao grupo suplementado com proteína de soja, e que ambos os grupos se mostrem superiores aos efeitos encontrados no grupo placebo.

2. BREVE REVISÃO DE LITERATURA

A idéia da presente revisão consiste em abordar de maneira pontual os aspectos do envelhecimento que se relacionam com o fenômeno multifatorial da fragilidade, os efeitos do exercício de força em associação a ingestão de proteínas como recurso terapêutico não farmacológico e, por fim, os possíveis fatores de diferenciação entre fontes de proteína animal e vegetal.

2.1. Incapacidade *versus* Fragilidade

A incapacidade e fragilidade são termos conceitualmente distintos, embora possam co-existir em um mesmo organismo. Enquanto a fragilidade manifesta-se por meio das inúmeras implicações clínicas, em virtude de sua natureza multifatorial (Fried, Tangen et al. 2001), a incapacidade é percebida como a perda da função (Campbell and Buchner 1997). A incapacidade está intrinsecamente relacionada ao seu agente causador e pode apresentar-se de maneira estável ou instável (Campbell and Buchner 1997).

A incapacidade estável pode acontecer a partir de um único evento (e.g., um acidente vascular cerebral ou uma amputação) mesmo em indivíduos hígidos, onde, o prejuízo funcional é estável após a fase inicial de recuperação e, ainda assim, o indivíduo pode considerado em bom estado de saúde (Campbell and Buchner 1997). Já a incapacidade instável ocorre quando há uma notória flutuação na função a partir de pequenos eventos externos – como alteração na terapia medicamentosa, mudanças no tempo (e.g., em dias frios) ou por um ataque de bronquite -, os quais geram uma deterioração no desempenho e ameaçam à independência (Campbell and Buchner 1997).

A principal causa da incapacidade instável decorre do impacto da fragilidade sobre os múltiplos sistemas biológicos (Campbell and Buchner 1997). Este cenário implica no mapeamento de inúmeras manifestações clínicas sintomáticas relacionadas à geriatria, na

intenção de identificar os prováveis marcadores da fragilidade. Por isso, ao tentar estabelecer componenetes centrais da fragilidade, faz-se imprescindível considerar aspectos que variam desde a redução das capacidades sensoriais com consequente impacto na mobilidade e/ou atividades de vida diária, até a instalação e/ou agravamento de quadros depressivos, desordens familiares e problemas socioeconômicos (Winograd, Gerety et al. 1988, Winograd, Gerety et al. 1991).

2.2. Complexidade multifatorial da Fragilidade

É difícil estabelecer através de um único parâmetro uma ferramenta de avaliação capaz de mensurar a fragilidade de forma sensível e acurada, haja vista sua natureza etiológica (Galanos, Fillenbaum et al. 1994). Neste sentido, quaisquer aspectos considerados essenciais na anamnese da fragilidade precisam obedecer um caráter de avaliação pluralista.

Ao mensurar o desempenho físico, como por exemplo no *Timed-Walk Test* (i.e., menor tempo para percorrer uma distância fixa) ou *Chair Stand Test* (i.e., número máximo de vezes que é possível sentar e levantar de uma cadeira no tempo estabelecido), é possível avaliar objetivamente a função e a capacidade de interação deste indivíduo com o ambiente e, portanto, predizer acerca da sua incapacidade (Guralnik, Branch et al. 1989, Podsiadlo and Richardson 1991, Newcomer, Krug et al. 1993, Guralnik, Ferrucci et al. 1995, Campbell and Buchner 1997). Todavia, estes testes se mostram pouco objetivos no que tange o direcionamento terapêutico, e podem ser facilmente influenciados por momentâneas condições patológicas, inclusive em indivíduos hígidos (Campbell and Buchner 1997).

Quando se pensa em estabelecer a presença de fragilidade a partir dos múltiplos sistemas fisiológicos – atribuindo-lhes pontuações -, o aspecto se torna ainda mais complexo. Dada a variedade de sistemas biológicos envolvidos nas inúmeras tarefas que um indivíduo independente é capaz de realizar, nomeá-los, imputando-lhes notas com base em sua

importância, consistiria em uma limitação metodológica imensurável (Campbell and Buchner 1997), ao ponto, inclusive, de comprometer a finalidade para qual a ferramenta fora criada.

Em contrapartida, estabelecer critérios de fragilidade apenas com base em consequências clínicas particulares ou manifestadas – por exemplo quedas, incontinências ou dependência funcional -, apesar de possuírem fatores de risco incomum (Winograd, Gerety et al. 1991, Tinetti, Inouye et al. 1995), desconsidera-se a possibilidade desta fragilidade já estar instalada antes mesmo da manifestação clínica dos parâmetros adotados. Além disso, uma avaliação de fragilidade apenas baseada em manifestações patológicas desconsidera a possibilidade de algumas pessoas não manifestarem o quadro, mas, ainda assim, estarem expostas aos riscos inerentes à fragilidade (Campbell and Buchner 1997). Portanto, faz-se indispensável que a fragilidade seja estabelecida, operacionalmente, dentro de aspectos individuais considerados essenciais à manutenção de uma boa função biológica e, sobretudo, que sejam passíveis de mensuração (Bortz 1993).

2.3. Manifestações clínicas essenciais da fragilidade

A fragilidade, em seu próprio conceito, já expõe a baixa capacidade de resistência do indivíduo aos fatores estressores ambientais (Campbell and Buchner 1997, Fried, Tangen et al. 2001), denotando o ambiente como uma questão central. Em contrapartida, este mesmo ambiente e seus fatores estressores também se mostram importantes para a manutenção da funcionalidade de um indivíduo (Bortz 1993). Deste modo, torna-se imprescindível identificar as capacidades essenciais que interagem com o ambiente, possíveis de serem mensuradas e, potencialmente melhoradas, a fim de estabelecer intervenções eficazes sobre a fragilidade (Buchner and Wagner 1992, Bortz 1993, Campbell and Buchner 1997).

No tocante às capacidades essenciais, em 1992 um interessante trabalho de Buchner et al., (Buchner and Wagner 1992) elege cinco âmbitos que estariam relacionados à uma boa

função biológica, e também seriam sensíveis às influências patológicas, fraqueza e envelhecimento, a saber: *i*) os aspectos funcionais músculo-esqueléticos, *ii*) as capacidades aeróbias, *iii*) as funções neurológicas cognitivas e integrativas, e *iv*) reservas nutricionais. Posteriormente, estas capacidades também se revelaram como boas preditoras de prejuízos funcionais e morte (Salive, Satterfield et al. 1993, Galanos, Pieper et al. 1994, Wallace, Schwartz et al. 1995), e demonstraram boa responsividade ao treinamento físico (Hu and Woollacott 1994, Hu and Woollacott 1994, Tinetti, Baker et al. 1994).

A partir da combinação das referidas capacidades, pôde-se iniciar a construção de ferramenta de avaliação mais objetiva e consistente com o modelo de fragilidade. A Figura 4 ilustra uma das primeiras idéias de fragilidade apresentada no ano de 1993, ainda sob uma perspectiva rudimentar (Bortz 1993). Tratava-se de uma compreensão dicotômica entre vitalidade e seu lado antagônico, representado pela fragilidade, onde os indivíduos eram diferentemente afetados por três importantes elementos, a saber: o envelhecimento, o desuso (i.e., redução do movimento ou inatividade física) e a doença. Estes elementos conduziram, em diferentes magnitudes e velocidades, à perda de vitalidade e, conseqüentemente, ao aumento da fragilidade.

FIGURA 4. Envelhecimento, doença e desuso como contribuidores da fragilidade. Adaptado de Bortz (Bortz 1993).

Segundo o autor (Bortz 1993), o mecanismo patogênico principal que conduziria à fragilidade humana seria ocasionado pela redução do movimento, mesmo nos tecidos e sistemas biológicos que não estivessem diretamente envolvidos com ele. Além disso, durante o envelhecimento o efeito da redução do movimento se tornaria ainda mais perceptível, contribuindo sobremaneira para condições patológicas decorrente da inatividade física. Estas condições consistiriam na vulnerabilidade cardiovascular, fragilidade músculoesquelética, obesidade, depressão e envelhecimento precoce (Bortz 1984, Bortz 1993).

Com o avanço das pesquisas científicas, a compreensão do fenômeno foi se tornando mais factível e a fragilidade passa a ser compreendida como uma síndrome (Fried, Tangen et

al. 2001). O termo síndrome significa um conjunto de sinais e sintomas que definem uma ou várias patologias, independente da etiologia que as diferenciam (Dorland 1981). Nesta perspectiva, um importante trabalho de Fried et al., (Fried, Tangen et al. 2001) propôs a classificação da fragilidade a partir de critérios preditores que se baseiam na perda de peso não intencional, baixo nível de atividade física, redução na velocidade de caminhada, fraqueza muscular e exaustão referida (Fried, Tangen et al. 2001).

Notoriamente, a manifestação clínica dos referidos critérios testemunham acerca de um estado crônico de massa e força muscular no idoso.

2.4. Massa e força muscular como componentes centrais na Fragilidade

A perda de massa muscular, embora seja um importante marcador, *per se* parece não ser capaz de justificar o declínio progressivo da força muscular durante o envelhecimento (Hughes, Frontera et al. 2001, Rolland, Perry et al. 2007). Corroborando, Huges et al., (2001) demonstraram que as mudanças ocorridas na massa muscular explicaram apenas 5% da variação de mudança ocorrida na força, apesar da significativa ($p < 0.05$) correlação entre massa e força muscular. Neste sentido, os estudos têm sugerido que os fatores etiológicos da perda de força e massa muscular são diferentes entre si (Newman, Kupelian et al. 2006, Rolland, Perry et al. 2007).

Semelhantemente, ainda não está bem estabelecida a natureza etiológica da sarcopenia e dinapenia, embora elas sejam consideradas componentes centrais da fragilidade e corroboram a incapacidade física (Frontera, Hughes et al. 1991, Fried, Tangen et al. 2001, Binder, Schechtman et al. 2002, Morley 2008, Breen and Phillips 2011, Wall and van Loon 2013).

Do ponto de vista musculoesquelético, é possível conjecturar que estas perdas estão relacionadas às alterações na interação dinâmica entre síntese [SPM] e degradação [DPM]

proteica muscular mencionadas anteriormente (Figura 2). Neste sentido, ao contrário do que se imaginava no idoso acerca da DPM (Nair 1995), o principal fator indutor da perda de massa parece ser gerado pela baixa capacidade em promover SPM (Breen and Phillips 2013, Devries and Phillips 2015).

2.5. Resistência anabólica e balanço protéico no envelhecimento e na fragilidade

Um dos possíveis mecanismo relacionados à resistência anabólica estaria associado ao aumento no limiar anabólico muscular pós-prandial, sugerido por Dardevet et al., (Dardevet, Remond et al. 2012) (Figura 5), e alterações na cascata de sinalização para SPM (O'Connor, Tobin et al. 1998).

FIGURA 5. A figura [a] representa a ingestão de uma dada quantidade de aminoácidos que gerariam uma boa resposta muscular anabólica (área destacada em cinza) em indivíduos jovens. A figura [b] também representa a ingestão da mesma quantidade de aminoácidos ofertada aos jovens (figura a) mas que gerou uma pequena resposta muscular anabólica (área destacada em cinza) em decorrência do aumento do limiar anabólico. Na figura [c] foi

ofertada uma maior quantidade de amonoácidos aos idosos, de modo a promover uma resposta muscular anabólica ótima (próximo ou equivalente aos jovens). Adaptado de Dardevet et al., (Dardevet, Remond et al. 2012).

Além disso, a resistência anabólica também estaria relacionada com outras importantes limitações decorrentes do envelhecimento, tais como uma menor ingestão e digestão de proteínas (Boirie, Gachon et al. 1997), redução na capacidade de absorção intestinal (Boirie, Gachon et al. 1997), menor captação de aminoácidos circulantes para o interior do músculo esquelético (Dickinson, Drummond et al. 2013), em sinergia à baixa sensibilidade muscular ao estímulo anabólica (Breen and Phillips 2011) e, finalmente, uma menor ativação das proteínas sinalizadoras para síntese (Cuthbertson, Smith et al. 2005, Fry, Drummond et al. 2011).

Do ponto de vista molecular, o idoso apresenta menores níveis circulantes do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (O'Connor, Tobin et al. 1998), menor fosforilação muscular da proteína quinase B (PKB ou Akt) (Leger, Derave et al. 2008) e ausência na ativação da p70S6K mesmo após o aumento da ativação de Akt, da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e da 4EBP1 (Guillet, Prod'homme et al. 2004). É importante considerar que uma das principais vias de SPM dar-se por meio da ativação de mTOR, a qual é altamente responsiva ao aumento circulante ou intracelular de AAE, particularmente de leucina (Burd *et al.*, 2009; Burd *et al.*, 2013).

No que tange o anabolismo, o IGF-1 tem sido um dos ativadores mais estudados por sua relação com os exercícios de força e hipertrofia muscular (Phillips 2009, Mavalli, DiGirolamo et al. 2010). Cronicamente, uma das principais respostas ao estímulo sucessivo do IGF-1 tende a ser o aumento da área de secção transversa (AST), através das vias da Akt

(PKB) e mTOR (Figura 6) (Phillips 2009, Mavalli, DiGirolamo et al. 2010, Gumucio and Mendias 2013).

Figura 6. Panorama resumido dos processos moleculares de síntese e degradação proteica muscular. Adaptado de Gumucio e Mendias (Gumucio and Mendias 2013).

Este reduzidos níveis circulantes de IGF-1 comprometem a ligação com os receptores de insulina do substrato 1 (IRS-1), prejudicando a conversão intramembranar da PIP2 em PIP3 – através da enzima fosfatidilinosol 3 quinase (PI3K)-, impedindo a translocação da Akt para a membrana muscular e, posteriormente, para o citosol (Mavalli, DiGirolamo et al. 2010, Gumucio and Mendias 2013).

Corroborando, um importante estudo de Leger et al., (Leger, Derave et al. 2008) demonstrou que o músculo idoso apresenta uma menor capacidade de fosforilar Akt, comprometendo uma cascata de reações subsequentes à fosforilação nos resíduos threonina (Thr 308)/serina (Ser 473) e a atividade da mTOR no citosol. Um dos sítios de ativação em que a mTOR promove a SPM dar-se por meio da p70S6K e da fosforilação da 4E-BP1, sendo, esta última, responsável por bloquear a atividade da eIF4E e desta forma potencializar o estímulo de síntese (Mavalli, DiGirolamo et al. 2010, Gumucio and Mendias 2013).

No tocante a fragilidade, os efeitos sobre o balanço protéico no idoso parecem ser ainda maiores (Chevalier, Gougeon et al. 2003). O estudo de Chevalier et al., (Chevalier, Gougeon et al. 2003) avaliou os efeitos da fragilidade sobre o metabolismo protéico de idosas frágeis e o possível papel atenuante de uma suplementação protéica de curta duração (i.e. ingestão total de 0.8 para 1.2 – 1.3 g•kg•d⁻¹ ao longo de 12 dias). Os resultados demonstraram importantes considerações a serem discutidas: *i*) a fragilidade exacerba os efeitos do envelhecimento no metabolismo protéico através da uma ação combinada entre menor massa muscular e maior taxa de DPM (medida pela excreção urinária de N⁺-metilhistidina); *ii*) as mulheres frágeis mantiveram a capacidade de reter nitrogênio após o consumo aumentado de proteínas, embora, a suplementação protéica de curta duração se mostrou incapaz de promover aumento na massa muscular.

Os autores sugerem que a maior taxa de DPM pode ser a resultante de uma estratégia do organismo em manter outras massa e funções dos tecidos não musculoesqueléticos em detrimento da elevada demanda que a massa muscular dispense (Chevalier, Gougeon et al. 2003). Além disso, apesar da demonstrada capacidade em reter nitrogênio, algumas evidências sugerem que o aumento da SPM decorrente da suplementação *per se* também seria capaz de potencializar a sinalização das vias de degradação proteica - como forma de adaptação endógena (Dardevet, Remond et al. 2012, Magne, Savary-Auzeloux et al. 2012)-,

gerando uma equivalência no balanço proteico e provável ausência de ganho de massa muscular em função do tempo (Verhoeven, Vanschoonbeek et al. 2009, Leenders, Verdijk et al. 2011, Ham, Caldow et al. 2014).

Não é uma tarefa fácil contrapor os efeitos nocivos da fragilidade, especialmente no que cerne os danos na musculatura esquelética. Todavia, as evidências têm apontado a estratégia combinada do exercício de força e ingestão adequada de proteínas como uma importante terapêutica não farmacológico na atenuação dos danos decorrentes do envelhecimento (Biolo, Tipton et al. 1997, Dideriksen, Reitelseder et al. 2011, Pennings, Boirie et al. 2011, Pennings, Koopman et al. 2011, Symons, Sheffield-Moore et al. 2011), especialmente para os idosos com fragilidade (Tieland, Dirks et al. 2012).

2.6. Exercício de força e suplementação de proteína na fragilidade

A depender da natureza do exercício, o músculo esquelético apresenta um fenótipo correlato, de modo que, quando se adota uma prática regular de exercícios de força, cronicamente, a bem estabelecida resposta esperada é o aumento da área das fibras musculares (e consequente aumento da área de secção transversa - AST) e maior capacidade de geração de força (Staron, Karapondo et al. 1994, Tang, Hartman et al. 2006, Phillips 2009). Além disso, o exercício de força apresenta uma maior “capacidade de elevar” a resposta anabólica e, particularmente, de mantê-la elevada por uma duração superior a promovida pela alimentação (Tang, Manolagos et al. 2007, Tang, Perco et al. 2008, Phillips 2009).

O exercício de força também é apontado por sua capacidade em promover benefícios na qualidade de vida de idosos, contribuindo desde uma menor dependência nas atividades de vida diária (Arai, Obuchi et al. 2007), diminuição do risco de quedas (Olney, Nymark et al. 2006), e melhora da função cognitiva (Cassilhas, Viana et al. 2007, Kimura, Obuchi et al.

2010), até benefícios no humor, melhora de sintomas de ansiedade, autoconfiança e aspectos psicológicos adicionais (Tsutsumi, Don et al. 1997, Kimura, Obuchi et al. 2010).

Do ponto de vista músculoesquelético, a estratégia combinada do exercício de força e ingestão adequada de proteínas tem se mostrado capaz de promover uma atenuação nos danos dos componentes regulatórios da massa muscular esquelética decorrente do envelhecimento (Bauer, Biolo et al. 2013, Wall and van Loon 2013, Phillips 2015, Bell, von Allmen et al. 2016).

De fato, o exercício de força teria a importante função de sensibilizar o músculo esquelético para uma melhor resposta anabólica na presença de proteínas e/ou aminoácidos (Breen and Phillips 2011). A estimulação da SPM parece ser, quase exclusivamente, dirigida pela elevada concentração sanguínea de aminoácidos (i.e, hiperaminoacidemia) e não pelo sistêmico aumento da insulina na corrente sanguínea (i.e, hiperinsulinemia), apesar desta última contribuir permissivamente à SPM (Bell, Fujita et al. 2005, Fujita, Rasmussen et al. 2006, Greenhaff, Karagounis et al. 2008, Phillips 2009).

Dada a alta responsividade da via mTOR ao aumento circulante ou intra-celular de aminoácidos, particularmente a leucina (Burd et al., 2009; Burd et al., 2013), tal reação geraria um estímulo fundamentalmente anabólico que poder-se-ia traduzir em SPM, com consequente acréscimo de massa muscular em função do tempo nos idosos com (Tieland, Dirks et al. 2012) ou sem fragilidade (Biolo, Tipton et al. 1997, Dideriksen, Reitelseder et al. 2011, Pennings, Boirie et al. 2011, Pennings, Koopman et al. 2011, Symons, Sheffield-Moore et al. 2011).

Os poucos estudos crônicos na população idosa com fragilidade que avaliaram a estratégia combinada da ingestão de proteínas e do TF apontaram para melhora na massa e força muscular (Tieland, Dirks et al. 2012, Dirks, Tieland et al. 2017), e melhora da função

(Bonnefoy, Cornu et al. 2003, Tieland, van de Rest et al. 2012) em favor da suplementação protéica, ou ausência de efeitos significantes (Fiatarone, O'Neill et al. 1994).

2.7 Diferentes fontes de proteína e exercício de força: animal e vegetal nas respostas morfofuncionais

A proteína de soja e o *whey protein* são considerados de alto valor biológico e apresentam semelhanças quanto a digestibilidade e a presença de todos os AAE. Uma recente revisão de Devries e Phillips (2015) aponta resumidamente as principais características no que tange a qualidade proteica entre as fontes animal (representada pelo *whey protein*) e vegetal (representada pela proteína de soja) (Tabela 1).

Tabela 1. Principais características da qualidade proteica do *whey protein* e da proteína de soja

	<i>Whey protein</i>	Proteína de Soja
Proteína Completa?	Sim	Sim
Digestibilidade	Rápida	Rápida
Conteúdo de AA (g/ 25g de PTN)		
Leucina	3.0	1.5
Σ AAE	12.4	9.0
Σ BCAA	5.6	3.4
Extração esplênica de AA	Baixa	Alta
PDCAAS	1.0	1.0

Dados expressos em média. Abreviações: AA, aminoácidos; BCAA, aminoácidos de cadeia ramificada; EAA, aminoácidos essenciais; PDCAAS, digestibilidade da proteína corrigido pelo escore de aminoácido. Se a proteína é considerada completa e seu conteúdo de

aminoácidos pode ser encontrado no banco de dados americano [USDA National Nutrient Database for Standard Reference—<http://ndb.nal.usda.gov/> (United States Dept. of Agriculture)]; $\sum$ AAE, soma de AAE; $\sum$ BCAA, soma de BCAA. A extração esplênica da proteína é baseada no seu conteúdo de AA. O PDCAAS foi estabelecido com base no FAO/WHO (Eggum 1991), sendo estipulado o escore a partir de 0.0 para as proteínas consideradas completas e, as proteínas com escore > 1.0 foram arredondadas para o escore 1.0.

É possível perceber uma menor quantidade de AAE, BCAA e leucina na proteína de soja. De acordo com o estudo de Fouillet et al., (2002), a quantidade de BCAA presente na proteína parece ser o fator norteador de sua participação nos muitos papéis metabólicos. Ainda nesta perspectiva, o estudo de Luiking et al., (Luiking, Deutz et al. 2005) sugere que, em virtude do seu conteúdo de BCAA, as proteínas de origem vegetal teriam uma maior participação nos processos catabólicos dos órgãos esplênicos (i.e., fígado, baço, intestino e pâncreas), ao passo que as proteínas com maiores concentrações de BCAA - comumente vistas em origem animal -, seriam indicadas para suportar a elevada demanda proveniente da SPM, possivelmente, em virtude da capacidade destas proteínas em promover uma maior oferta de aminoácidos.

Corroborando, um elegante estudo de Yang et al., (2012), após suplementar idosos com diferentes fontes proteicas de alto valor biológico (Soja e *Whey protein*), demonstrou que a proteína de soja promoveu uma maior oxidação de aminoácido, ao passo que a SPM foi maior nos que suplementaram com *whey protein*. Cumpre destacar que ambos os grupos receberam seus suplementos de maneira isonitrogenada e que a taxa de digestão destas proteínas são equivalentes (ver Tabela 1). Estes fatos reforçam a hipótese de que uma grande proporção dos aminoácidos derivados da soja teria sido desviada para outras funções no

organismo e que, portanto, estiveram indisponíveis para participar da SPM. Em estudo proposto por Tang et al., (2009), o conteúdo de AAE de uma proteína parece ser a principal justificativa para as diferentes funções (esplênicas e periféricas) por elas assumida.

Ainda não estão evidenciados os mecanismos de sinalização responsáveis por esta distinção entre os processos regulatórios. Até o presente, a hipótese que mais predomina consiste na elevada participação das proteínas de origem vegetal nas funções de desaminação e no ciclo da ureia (Fouillet, Mariotti et al. 2002, Bos, Metges et al. 2003). Um das principais razões para este postulado, decorre da carência de estudos mecanicistas nesta temática.

Na literatura, a maior parte das evidências sobre diferentes fontes de proteínas em associação ao exercício de força nos idosos são de respostas agudas em favor da proteína animal, principalmente *whey protein* (Haub, Wells et al. 2002, Haub, Wells et al. 2005, Yang, Churchward-Venne et al. 2012, Maltais, Ladouceur et al. 2016, Thomson, Brinkworth et al. 2016).

Apesar do supracitado, os achados com base em estudos crônicos ainda são bastante controversos e limitados às estratégias de suplementação com apenas umas das fontes de proteína em resposta ao TF em idosos saudáveis (Campbell, Crim et al. 1995, Candow, Little et al. 2008, Holm, Olesen et al. 2008, Iglay, Apolzan et al. 2009, Kukuljan, Nowson et al. 2009, Verdijk, Jonkers et al. 2009, Bembien, Witten et al. 2010) e com fragilidade (Fiatarone, O'Neill et al. 1994, Bonnefoy, Cornu et al. 2003, Tieland, Dirks et al. 2012, Tieland, van de Rest et al. 2012, Dirks, Tieland et al. 2017).

Na população saudável, apenas os estudos de Kukuljan et al., (2009) e Candow et al., (2008) demonstraram aumento da massa e força muscular. Já nos frágeis, houve melhora na massa e força (Tieland, Dirks et al. 2012, Dirks, Tieland et al. 2017), e função muscular (Bonnefoy, Cornu et al. 2003, Tieland, van de Rest et al. 2012) em favor da suplementação com proteína.

Em decorrência das aludidas peculiaridades do envelhecimento e divergências dispostas na literatura, torna-se pouco sensato inferir de maneira robusta que os achados agudos traduzem-se em respostas crônicas de semelhante magnitude, ou que tais estratégias terapêuticas (i.e., TF e suplementação de proteína) de fato promove ganhos na qualidade e quantidade muscular.

Como mencionado anteriormente, quatro importantes metanálises (Cermak, Res et al. 2012, Finger, Goltz et al. 2015, Liao, Tsauo et al. 2017, Morton, Murphy et al. 2017), que reuniram os principais ECR desta temática na população idosa, somente encontraram efeitos em favor do TF e suplementação protéica sobre a massa, força ou função muscular quando a análise ocorreu de forma agrupada, exceto pelo estudo de Finger et al., (Finger, Goltz et al. 2015) que não observou diferenças.

Os ECR dispostos nestas metanálises apresentam importantes diferenças experimentais que, certamente, dificultam a clara compreensão sobre a eficácia do protocolo proposto nesta população. Apesar disso, a análise reunida destes ensaios sugerem o aumento da força muscular (0,69 – 13,5 Kg) (Cermak, Res et al. 2012, Liao, Tsauo et al. 2017, Morton, Murphy et al. 2017) e da massa magra (0,23 – 0,70 Kg) (Cermak, Res et al. 2012, Finger, Goltz et al. 2015, Liao, Tsauo et al. 2017), mas não da massa muscular (Finger, Goltz et al. 2015) a partir das estratégias combinadas do TF e suplementação protéica.

Uma recente e elegante metanálise (Morton, Murphy et al. 2017), com o maior tamanho amostral (49 RCTs, totalizando $n = 1863$ participantes) em intervenções com suplementação proteica e TF até o presente momento, demonstrou que a suplementação (20 ± 18 g de proteína/dia) durante o TF foi menos efetiva para os idosos, resultando até em perda de massa magra após os períodos avaliados (i.e, média do Δ de massa magra = -0,01 Kg (95% IC -0,02 – 0,00), $p = 0,02$).

No tocante as diferentes fontes de proteínas em resposta ao TF em idosos, o cenário se torna um pouco menos elucidativo. Até o momento, apenas quatro ECRs (Haub, Wells et al. 2002, Haub, Wells et al. 2005, Maltais, Ladouceur et al. 2016, Thomson, Brinkworth et al. 2016) se propõem avaliar tais efeitos na população idosa. A Tabela 2 apresenta, resumidamente, seus principais achados.

Table 2 – Resumo dos estudos crônicos sobre o impacto de diferentes fontes de proteínas associado ao treino de força em idosos.

Referência (Idade)	Amostra por grupo	Condições físicas	Duração (semanas)	Protocolo de Treino	Protocolo de Ingestão de Proteínas	Vendamento?	Isonitrogenado?	Resultados entre fontes Animal vs. Vegetal
Haub et al., (2002) (65 ± 5 anos)	Carne (n = 10) Soja (n = 11)	Não treinado	14	3 d/sem, 80% de 1- RM	Carne vs. Soja (0.6 g proteína.kg ⁻¹ .d ⁻¹) + Dieta Ovolactovegetariano	No	Sim	↔ Area de Seccão Transversa ↔ Força Muscular ↔ Massa Magra
Haub et al., (2005) (65 ± 5 anos)	Carne (n = 10) Soja (n = 11)	Não treinado	14	3 d/sem, 80% de 1- RM	Carne vs. Soja (0.6 g proteína.kg ⁻¹ .d ⁻¹) + Dieta Ovolactovegetariano	No	Sim	↔ Força Muscular ↔ Potência Muscular
Maltais et al., (2016) (65.3 ± 4.9 anos)	Leite (n = 8) Soja (n = 8) Arroz (n = 10)	Sedentário / Sarcopênico	16	3 d/sem, 80% de 1- RM	12g de Soja ou Leite de vaca + 7 g de Leite de arroz (0.6 g proteína)	Sim	Sim	↔ Massa muscular ↔ Força Muscular ↔ Função
Thomson et al., (2016) (61.5 ± 7.4 anos)	Alta dieta n = 34) Alta soja (n = 26) Usual (n = 23)	Não treinado	12	3 d/sem, 8 – 12 RM	Dieta Usual (~1.1 g proteína.kg ⁻¹ .d ⁻¹) vs. Alta PTN diária ou Soja (~ 1.4 g proteína.kg ⁻¹ .d ⁻¹)	Sim	Sim	↔ Massa muscular ↓ Força Muscular (Grupo da Soja) ↔ Função

↓ = diminuído; ↔ = sem diferenças.

Os resultados se mostram semelhantes entre o consumo de *whey protein* e soja, indicando que a suposta superioridade da proteína animal (i.e, aqui representada pelo *whey protein*) não se traduziu cronicamente nos idosos saudáveis destes estudos. Este comportamento foi similar ao demonstrado anteriormente, nos ensaios individuais que comporam as metanálises, na mesma população. Cumpre destacar que importantes divergências metodológicas estiveram presentes entre os estudos, dentre elas o protocolo de suplementação/ingestão protéica adotado, particularmente os tipos, fontes e quantidades de proteína, além da forma como foram ofertadas (i.e., administração ou manipulação na dieta) e o consumo habitual nestes participantes.

No tocante a natureza multifatorial da fragilidade e os prejuízos gerados aos diversos sistemas biológicos, ainda não sabemos qual o real papel terapêutico que a estratégia combinada do TF e suplementação protéica é capaz de gerar nestes indivíduos. Tampouco sabemos acerca dos possíveis efeitos (e magnitudes) que as fontes protéicas de origem animal e vegetal seriam capazes de gerar sobre a massa e força muscular de idosos frágeis, em resposta ao TF, dentro de um mesmo delineamento experimental. Diante das poucas evidências (i.e., em sua maioria aguda) manifestadas em favor da proteína animal, acredita-se que cronicamente o grupo suplementado com *whey* demonstre efeitos superiores ao grupo suplementado com proteína de soja, e que ambos os grupos se mostrem superiores aos efeitos encontrados no grupo placebo.

Tais fatores são contundentes em não nos permitir obter claras conclusões e não há outros relatos que subsidiem inferências sobre os efeitos da fonte proteica. Portanto, o presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos de diferentes fontes de suplementação de proteínas (Soja versus *whey*) combinadas ao TF em idosos com pré-fragilidade e fragilidade.

3. OBJETIVOS

A presente tese tem como objetivo central investigar os efeitos de diferentes fontes de suplementação de proteínas (Soja versus *whey*) combinadas ao treinamento de força sobre a massa e força muscular em idosos com pré-fragilidade e fragilidade.

3.1. Objetivos Específicos

Investigar os efeitos de diferentes fontes de suplementação de proteínas combinadas ao treinamento de força sobre:

- Composição corporal;
- Força Muscular Dinâmica Máxima;
- Pico de Torque;
- Taxa de desenvolvimento de força;
- Área de secção transversal dos músculos Vasto Lateral e Reto Femoral;
- Funcionalidade;
- Resistência muscular de membros inferiores;
- Mobilidade funcional de membros inferiores;
- Parâmetros bioquímicos (Perfil glicídico e lipídico);
- Estado nutricional;
- Qualidade de Vida.

4. DELINEAMENTO GERAL

Esta tese faz parte de um grande ensaio clínico registrado na plataforma *clinicaltrial.gov* (NCT01890382), intitulado *Protein Intake and Resistance Training in Aging: The Pro Elderly Study*. O “*Pro Elderly Study*” é composto por quatro estudos com desenhos aleatorizados, duplo-cego, controlado por placebo e de grupos paralelos, os quais, primordialmente, visam investigar o papel de diferentes fontes e tipos de proteínas, aminoácidos e derivados sobre a função muscular e a composição corporal em idosos frágeis e pré-frágeis.

Os estudos se propõem a responder as seguintes perguntas, dentre as quais destaco em **negrito** a da presente tese:

- 1) Em idosos com pré-fragilidade/fragilidade submetidos ao treinamento de força, a suplementação de Cr é eficaz e segura? Ainda, se associada a suplementação de *whey protein* ela apresenta efeitos aditivos?
- 2) Em idosos com pré-fragilidade/fragilidade submetidos ao treinamento de força, qual os efeitos da suplementação da leucina isolada?
- 3) O treinamento de força associado à suplementação de *whey protein* ocasiona respostas diferenciadas entre homens e mulheres idosos com pré-fragilidade/fragilidade?
- 4) **Em idosos com pré-fragilidade/fragilidade submetidos ao treinamento de força, há diferença entre a suplementação com diferentes fontes de proteína (*whey protein* vs. proteína de soja)?**

5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A presente tese compreende um ensaio do tipo prospectivo duplo-cego, em grupos paralelos, randomizado e controlado por placebo com duração de 16 semanas. Inicialmente, os participantes foram pré-selecionados por telefone ou entrevistas presenciais. Posteriormente, foram submetidos a avaliação sobre os critérios de fragilidade. Os voluntários aprovados (pré-frágeis e frágeis) foram avaliados no eletrocardiograma (ECG) em repouso e em exercício e, os que não apresentaram alterações importantes, seguiram para as demais avaliações. Por fim, os voluntários foram estratificados por sexo e ranqueados de acordo com seu desempenho no teste de força dinâmica máxima (1RM), e alocados em um dos grupos experimentais de cada um dos quatro sub-estudos (Figura 7) descritos a seguir:

Figura 7. Grupos experimentais do “The Pro-Elderly Study”. Legenda: Leu = leucina; Ala = alanina; S = soja; FW = whey feminino; FP = placebo feminino - PLA (amido de milho); Cr = creatina; WCr = Whey + Creatina; MW = whey masculino; MP = placebo masculino. Estudo 1 = estudo com suplementação de leucina isolada; Estudo 2 = comparação entre diferentes fontes de

proteína; Estudo 3 = suplementação de creatina; Estudo 4 = comparação entre sexo masculino e feminino.

Os voluntários foram designados aleatoriamente para um dos nove grupos experimentais, sendo sete mulheres - dirigidas a um dos grupos PLA (FP), Whey, Soja, PLA+Cr, Whey+Cr, Leu e Ala - e dois homens dirigidos aos dois grupos PLA (MP) e Whey em cada bloco. Cumpre destacar que a formação dos grupos experimentais da presente tese apenas contou com a participação dos voluntários do sexo feminino, aqui nomeados como PLA (placebo), Whey e Soja, as quais foram submetidas ao desenho experimental disposto na Figura 8.

Figura 8. Desenho experimental do estudo. ↓ Realização do procedimento indicado. Legenda: TRIAGEM = anamnese + critérios de fragilidade; 1RM = teste de uma repetição máxima, ECG = eletrocardiograma, PRÉ = avaliações iniciais, PÓS = avaliações finais, TF = treinamento de força.

5.1. Seleção e Recrutamento dos Voluntários

O recrutamento dos voluntários foi iniciado em dezembro de 2014. O fluxo de entrada foi contínuo e a triagem foi realizada no LACRE e no Laboratório de Adaptações Neuromusculares ao Treinamento de Força. Foram considerados elegíveis aqueles que obedeceram aos seguintes critérios de inclusão:

- a) faixa etária ≥ 65 anos; e
- b) pré-frágeis e frágeis [segundo critério de Fried et al. (2001)].

Foram excluídos aqueles que apresentavam pelo menos um dos critérios de exclusão:

- a) usuário de insulina exógena ou medicamentos que alterem as respostas musculares;
- b) portador de doença pulmonar obstrutiva crônica ou nefropatias;
- c) usuário de suplementos alimentares de proteínas, aminoácidos ou creatina;
- d) estar em dieta restritiva;
- e) ser vegetariano;
- f) estar engajado em programa regular com exercícios de força;
- g) portador de doenças como hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemias, cardiopatias, hiper ou hipotireoidismo não controlado; e
- h) possuir qualquer acometimento que comprometa a participação no estudo, tal como distúrbios do aparelho locomotor.

Os voluntários que se adequaram ao perfil supracitado foram convocados, informados sobre todos os detalhes do projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo em 11 de Dezembro de 2014 (CAAE: 37499314.0.0000.5391).

Foram contatados 836 idosos. Destes, por telefone, 58 desistiram, 113 não foram possíveis de serem contatados e 156 foram excluídos por triagem prévia. Assim, 509 idosos foram triados para o “The Pro-Elderly Study”, sendo que 140 voluntários foram classificados em

saudáveis em detrimento de 369 que atenderam aos critérios propostos por Fried et al. (2001), como ilustrado no fluxograma apresentado na Figura 3. Destes, 49 idosos foram classificados como frágeis, 320 como pré-frágeis. Desde o início do recrutamento, houve um falecimento, 22 exclusões por não atenderem aos outros critérios de inclusão, 26 por serem reprovados no teste ergométrico, 47 por motivos de saúde (e.g., doenças crônicas não transmissíveis não controladas, nefropatias, doença pulmonar obstrutiva crônica e contra-indicações neurológicas de ordem cardiovascular, muscular, articular ou óssea de membros inferiores) e 69 por desistência. Quatro voluntários foram avaliados, mas não foram randomizados por falta de pessoas para completarem o grupo. Dessa forma, 200 idosos iniciaram o protocolo de treinamento e suplementação distribuídos aleatoriamente em seus grupos experimentais. Para a presente tese, foram alocadas randomicamente 66 mulheres em um dos três grupos, PLA (n = 22), Whey (n = 22) e Soja (n = 22). Considerando a análise por intenção de tratamento (ITT) apenas uma voluntária não participou de nenhuma das avaliações subsequentes a randomização por motivos pessoais. Portanto, 65 voluntárias - PLA (n = 21), Whey (n = 22) e Soja (n = 22) -, cumpriram o protocolo experimental conforme descrito na Figura 9.

Figura 9. Fluxograma de participantes. Abreviações: TF + S = treinamento de força e suplementação; PLA = placebo; ITT = análise por intenção de tratamento.

5.2. Protocolo de Fragilidade

O voluntários foram caracterizados como pré-frágeis ou frágeis conforme critérios estabelecido por Fried et al. (2001). Os critérios baseiam-se na perda de peso não intencional, exaustão referida, baixa velocidade de caminhada, fraqueza e baixo nível de atividade física, conforme brevemente descrito a seguir:

- Para caracterizar a perda de peso não intencional o indivíduo deve apresentar perda maior ou igual a 4,55 kg ou superior a 5% do peso corporal auto-relatado medido diretamente na balança nos últimos 12 meses;
- A força de preensão manual é medida por dinamômetro de mão (*handgrip*), ajustada pelo sexo e IMC (Kg/m^2), sendo considerados positivos os voluntários cuja média das três tentativas se encontrem no quartil 20% da amostra;
- A exaustão referida é avaliada por dois itens da versão brasileira do Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) (Bastitoni et al., 2007), de modo que os participantes são questionados sobre a frequência em que se sentem, na última semana, nas condições das seguintes frases: “Senti que tive que fazer esforço para fazer tarefas habituais” (item 7) e “Não consegui levar adiante minhas coisas” (item 20). As respostas são pontuadas da seguinte maneira: 0 = raramente ou em nenhum momento (menos de 1 dia), 1 = poucos momentos (1 a 2 dias), 2 = parcela moderada de tempo (3 a 4 dias), ou 3 = maioria do tempo. Considera-se eleito neste critério aqueles que apresentarem 2 ou 3 pontos em cada um dos itens;
- A baixa velocidade de marcha caracteriza-se quando o indivíduo se apresenta 20% mais lento que a população de mesma idade, sexo e massa corporal, baseando-se na média de distribuição dos três tempos de caminhada de 4,6 m. O resultado constitui-se positivo quando homens de altura menor ou igual a 1,73m e mulheres inferior ou igual a 1,59 m completam o teste em um tempo igual ou superior a 7 segundos. Para os indivíduos com

altura maior à especificada, o resultado é considerado positivo quando o teste for completado a partir de 6 segundos conforme pontos de cortes já estabelecidos (Fried et al., 2001);

- O baixo nível de atividade é determinado baseando-se na versão traduzida e adaptada do Minnesota Leisure Time Activities Questionnaire em idosos (Lustosa et al., 2011), o qual lista as diversas atividades realizadas pelo indivíduo agrupadas em nove categorias (caminhada, exercícios de condicionamento, atividades aquáticas, atividades de inverno, esportes, golfe, atividades de horta e jardim, atividades de reparos domésticos, caça, pesca e outras atividades). A partir deste questionário, calcula-se o consumo energético em quilocalorias despendidas pelo indivíduo durante as atividades realizadas nas últimas duas semanas, de modo que este critério é eleito àqueles que encontram-se abaixo do percentil 20 da amostra (Lustosa et al., 2011; Fried et al., 2001; Taylor et al., 1978).

Os critérios de fragilidade foram avaliados antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. Foi considerado pré-frágil o indivíduo que apresentou até dois destes domínios, ou frágil, aos que possuíram no mínimo três.

5.3. Variáveis de Controle Experimental

5.3.1 Teste Ergométrico

O teste ergométrico foi realizado em esteira rolante (*Centurion 200, Micromed*) com o intuito de avaliar o comportamento cardiovascular (através de um eletrocardiógrafo com 12 derivações e frequência cardíaca (Baim, Wilson et al.) monitorizada) e promover a liberação médica dos voluntários para a efetiva participação do projeto.

No dia anterior, os voluntários receberam por escrito todas as instruções relevantes à execução do teste. Inicialmente foi realizado um exame em repouso, cujos voluntários foram

deitados na maca em decúbito dorsal por 10 minutos e instruídos a não falar ou mover-se até que a avaliação fosse completada. Em seguida, foi utilizado um protocolo em rampa que consiste no aumento gradual e progressivo da carga de trabalho (velocidade e/ou inclinação) a cada minuto até atingir 85% da FC máxima predita para idade. Durante o teste, a percepção subjetiva de esforço (PSE) foi verificada com o auxílio da escala de Borg de 6 a 20 (Borg, Hassmen et al. 1987), sendo considerado critério de interrupção do teste quando os voluntários atingiram PSE 17. Desta forma, os voluntários foram avaliados quanto a frequência e o ritmo elétrico do coração, tendo sido excluídos aqueles que apresentaram importantes alterações fisiológicas das referidas variáveis (Association 2015).

5.3.2 Suplementação de proteínas e vendamento do estudo

O presente protocolo adotou a ingestão isonitrogenada de 30 g/dia de proteína dos suplementos *whey protein* ou proteína de soja na forma de pó. Os voluntários foram orientados a consumir os suplementos em 2 doses diárias de 15g de proteína, solubilizados em 150 mL no café-da-manhã e jantar considerando que são as refeições de menores aportes proteicos.

Os suplementos foram providenciados em potes de plástico opaco (cor preta) (Figura 10A), com a quantidade referente a um mês de suplementação. Este potes acompanharam seus respectivos medidores (Figura 10B). Cada voluntário recebeu orientações individualizadas da nutricionista responsável pelo vendamento sobre o manuseio dos medidores, forma de diluição e consumo diário do suplemento. Além disso, os voluntários foram encaminhados à nutricionista responsável sempre que requereram quaisquer informações e/ou esclarecimentos. Para confirmar a adesão dos voluntários à suplementação, uma ficha controle em formato de calendário foi fornecida mensalmente junto com os potes. Nelas, os voluntários foram orientados a preencher em com os horários em que ingeriram os suplementos (Figura 11). Ao final de todo o protocolo, cada voluntário foi inquirido sobre qual suplemento eles acreditaram ter ingerido. Com isso, pôde-se

calcular as porcentagens de acertos e avaliar se a eficiência do vendamento entre os grupos foi assegurada.

Figura 10. Potes de plástico opacos na cor preta (A). Medidor padrão (B).

Setembro 2013

Segunda-Feira	Terça-Feira	Quarta-Feira	Quinta-Feira	Sexta-Feira	Sábado	Domingo
18:00	10 07:10 18:00	2 07:15 18:30	3 07:00 18:00	4 06:45 18:30	5 07:00 19:00	6 07:30 19:00
7 07:30 18:00	8 07:30 18:30	9 07:50 18:20	10 07:00 18:00	11 07:00 18:00	12 05:40 18:00	13 07:30 19:00
14 06:00 17:45	15 07:00 18:10	16 06:40 18:30	17 07:00 18:00	18 07:00 18:20	19 06:45 19:30	20 07:30 18:00
21 08:00 18:00	22 06:40 17:45	23 07:00 18:00	24 07:30 17:45	25 07:00 18:00	26 06:45 18:20	27 07:20 19:00
28 06:40 18:00	29 07:15 18:10	30 06:45 18:00				

icalendario.br.com

Figura 11. Ficha mensal para controle da ingestão/horário dos suplementos.

5.3.3 Avaliação do consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado no período inicial (Pré) e ao final do estudo (Pós) através de diários alimentares em três dias não consecutivos (dois dias úteis e um dia do final de semana). Para coleta de dados foi entregue um formulário para cada voluntário por um pesquisador devidamente treinado, responsável por instruir os voluntários a preencherem adequadamente os horários das refeições, seguido do nome do alimento, seu modo de preparo (frito, grelhado, assado, etc) e quantidade consumida (em medidas caseiras) padronizados de acordo com o Manual de medidas caseiras e receitas para cálculos dietéticos (Bombem *et al.*, 2012). Complementarmente, para alimentos industrializados, foi solicitado aos participantes que informassem a marca utilizada.

Em seguida, foi agendado um retorno para a coleta e verificação do registro alimentar. Para auxílio na quantificação das porções alimentares, foi utilizada uma cartilha com desenhos de utensílios e porções, desenvolvida e validada pelo nosso grupo (Polacow, Scagliusi et al. 2003, Polacow, Scagliusi et al. 2003), além de um livro contendo fotos de 100 porções alimentares. Os diários foram verificados por nutricionista ou aluna de iniciação científica de nutrição treinadas e os dados foram tabulados com o auxílio do programa Avanutri em sua versão *online*.

Como medidas de controle, foram avaliadas as alterações na ingestão de energia, carboidratos, proteínas e lipídeos de modo absoluto (g) no período inicial e final do estudo.

Em relação ao fracionamento do consumo proteico, foi considerado adequado o valor de proteína que atingisse de 25 a 30g, por refeição, pelo menos três vezes ao dia (PADDON-JONES & RASMOUSSEN, 2009), enquanto, o valor relativizado pelo peso corporal de no mínimo 1,2g/kg de peso por dia foi considerado adequado (HOUSTON et al., 2008; VELLAS et al., 1997).

5.4 Protocolo de treinamento

O programa de TF teve duração de 16 semanas e foi composto por duas sessões semanais alternadas por 72 horas. As sessões de treino foram compostas por cinco exercícios: *leg press*, cadeira extensora, supino vertical, desenvolvimento e puxada frontal. A progressão do TF se deu por meio da manipulação do número de séries, repetições, intensidade e intervalo de recuperação entre as séries conforme apresentado na Tabela 3 e respeitou as avaliações periódicas de 1RM realizadas nas semanas quatro, oito, 12 e 16. Todas as sessões de treino foram registradas e supervisionadas por profissionais de Educação Física.

Tabela 3. Progressão do TF durante as 16 semanas de intervenção.

Etapas	I	II	III	IV
Semanas	1-4	5-8	9-12	13-16
Séries	2	3	3	4
Intensidade	50% de 1RM	50% de 1RM	60% de 1RM	70% de 1RM
Repetições	10-15	10-15	8-12	8-12
IR (s)	60	90	90	120

IR = Intervalo de recuperação entre as séries.

5.5 Desfechos Primários

5.5.1 Composição corporal

A densidade mineral óssea (DMO) e a composição corporal (massa muscular e massa gorda) foram avaliadas pelo método de densitometria de dupla emissão com fonte de raios X (DXA), utilizando o *Hologic QDR 4500 Discovery densitometer* (Hologic Inc., Bedford, MA, USA). A área óssea (cm²) foi calculada utilizando o software fornecido junto ao densitômetro. A massa óssea foi analisada na espinha lombar (vértebras lombares L1 a L4), no fêmur total e no corpo inteiro. Todas as medidas foram executadas pelo mesmo técnico habilitado. O erro para as medidas da DMO foi determinado de acordo com os padrões que constam nos protocolos da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica (Baim, Wilson et al. 2005).

5.5.2 Força muscular dinâmica máxima

A força muscular dinâmica máxima foi avaliada utilizando o teste de 1 RM nos equipamentos isoinerciais *leg press* e supino vertical (Nakagym; Diadema, SP, Brasil). Inicialmente, os participantes foram submetidos às sessões de familiarização de modo a atingir um

coeficiente de variação $\leq 5\%$ (estabilização das cargas absolutas) (Silva-Batista, Tricoli et al. 2011). Os testes foram realizados conforme as orientações da Sociedade Americana de Fisiologia do Exercício (Brown and Weir 2011) e respeitaram um intervalo de 48 a 72 horas entre as sessões. Os participantes foram conduzidos a um aquecimento específico composto por duas séries intervaladas por três minutos. Na primeira série de aquecimento foram realizadas oito repetições a 50% de 1RM, em seguida, três repetições a 75% de 1RM e, finalmente, até cinco tentativas de 1RM intervaladas por três minutos. A carga inicial do primeiro dia de familiarização foi estimada por meio do peso corporal dos participantes e os incrementos das cargas (kg) foram estimados com base na percepção de esforço do participante e experiência prévia do pesquisador. Assumiu-se 1RM como a maior carga que cada participante consegue levantar em um ciclo completo de movimento (fases concêntrica e excêntrica).

No protocolo do exercício *leg press* foi preconizado um ângulo de 90° dos joelhos em relação ao quadril ao apoiarem os pés na plataforma do equipamento. No supino vertical, os participantes foram orientados a permanecerem sentados no equipamento com os braços e antebraços fletidos, formando um ângulo de 90° em relação ao ombro. As referidas posições foram anotadas inicialmente e replicadas nas sessões subsequentes. Os testes de 1RM foram repetidos após quatro, oito, 12 e 16 semanas de treinamento de modo a respeitar a progressão de treino.

5.5.3 Pico de torque e taxa de desenvolvimento de força

O pico de torque (PT) e a taxa de desenvolvimento de força (TDF) foram avaliados na perna dominante dos participantes durante contrações voluntárias isométricas balísticas máximas, em um dinamômetro isocinético *Balance System SD (Biodex)* (*Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY, USA*). No início de cada sessão o dinamômetro foi calibrado de acordo com as especificações do fabricante. Os participantes foram posicionados sentados no equipamento com o

ângulo da articulação do quadril em 85°, com os membros superiores flexionados e as mãos sobre o peitoral. O eixo de rotação do dinamômetro foi alinhado com o côndilo femoral lateral do membro inferior. Para evitar movimentos adicionais no corpo dos participantes, o tronco, a pelve e os membros inferiores foram fixados com cintos acoplados no dinamômetro. Todos os ajustes e posicionamentos foram registrados e utilizados durante as avaliações.

Na semana precedente a avaliação, as participantes realizam duas sessões de familiarização intervaladas por 48 a 72 horas. Cada sessão foi composta por um aquecimento submáximo de 10 tentativas intervaladas por dois minutos, seguidas de duas tentativas máximas intervaladas por três minutos. Após a familiarização, os participantes realizaram a sessão de avaliação experimental. Durante a sessão de avaliação, os participantes realizaram um aquecimento composto por duas contrações submáximas intervaladas por dois minutos. Após três minutos, os participantes realizaram três tentativas de contrações voluntárias isométricas balísticas máximas com duração de cinco segundos em um ângulo de 90° (extensão completa = 0°). Um intervalo de recuperação de três minutos foi adotado entre as tentativas. O PT foi determinado como o maior valor registrado durante as contrações voluntárias isométricas balísticas máximas, enquanto que a TDF é considerado o ponto mais alto da curva calculada pela fórmula: $\Delta\text{Torque}/\Delta\text{Tempo}$. Os participantes foram instruídos a realizar a tarefa “o mais rápido possível”, utilizando-se de incentivos verbais pelo mesmo pesquisador.

5.5.4 Área de secção transversal muscular

As áreas de secção transversal (AST) dos músculos vasto lateral e reto femoral foram obtidas utilizando ultrassom modo-B ULT (*HDI-3000, ALT, Bothell, Wash., USA*), utilizando uma sonda de arranjo linear de 7.5-MHz (*Philips, VMI, industry and commerce Ltda. Lagoa Santa, Brazil*). O ultrassom modo-B é utilizado para obter as imagens do plano axial do músculo vasto lateral, usando uma sonda de arranjo linear de 7.5-MHz. Todas as medidas foram realizadas na

perna direita após ficarem em posição supinada por alguns minutos. Durante o procedimento, as voluntárias foram orientadas a permanecer com a perna relaxada. A inserção medial do vasto lateral foi identificada e marcada na pele do voluntário com tinta semi-permanente e, então, as secções axiais foram marcadas a cada 30 mm a partir desse ponto. Orientado no plano axial, o transdutor foi alinhado perpendicular ao músculo vasto lateral e movido da posição central para a lateral pela zona previamente marcada na pele. O avaliador teve o cuidado de aplicar uma pressão mínima e constante durante todo o exame, evitando, portanto, uma compressão dos músculos analisados. As imagens foram gravadas em vídeo e posteriormente analisadas através de sobreposição, a fim de reconstruir a secção transversal do músculo - cuja área foi mensurada através do *software* digital (*Image J, National Institutes of Health, Bethesda, Md., USA*) seguindo o protocolo previamente proposto (Reeves, Maganaris et al. 2004).

5.6 Desfechos Secundários

5.6.1 Avaliações da Funcionalidade

5.6.1.1 Risco de quedas, equilíbrio estático e dinâmico

O Risco de quedas e o equilíbrio foram avaliados no equipamento *Biodex Balance System* cuja reprodutibilidade foi previamente confirmada (Jose A. Parraca 2011) e representa uma importante ferramenta clínica para avaliação do equilíbrio em idosos. Os voluntários se deslocaram até o Laboratório de Treinamento de Força da USP em duas ocasiões: para a sessão de familiarização e para o teste. Os participantes foram posicionados com os pés na plataforma do equipamento e foram orientados a posicionarem as mãos nos ombros, de maneira que os membros superiores se mantenham cruzados. A posição dos pés foi anotada para ser usada em todas as sessões. Cada voluntário foi instruído a permanecer tão imóvel quanto possível olhando para uma tela posicionada à sua frente. Esta tela acoplada ao equipamento forneceu um feedback visual aos idosos sobre o seu centro de gravidade. Em seguida, a plataforma do equipamento que

inicialmente ficava travada foi desbloqueada para, então, registrar o grau de inclinação do eixo sagital e transversal. Os protocolos são aplicados do maior ao menor grau de estabilidade (12 foi considerado o nível mais estável, seis o moderado e dois o menos estável), com três tentativas por nível, 20 segundos de duração e 30 segundos de intervalo entre cada tentativa. A média das tentativas foi utilizada pelo software da máquina para calcular índices de estabilidade global, eixo sagital e transversal. Os maiores valores obtidos representam a maior mudança no centro de gravidade e na inclinação do equipamento, indicando menor equilíbrio. Para a avaliação do risco de quedas, foram executadas três tentativas com 20 segundos de duração e 30 segundos de intervalo entre elas. Neste protocolo, o voluntário devia controlar seu centro de massa dentro de sua base de apoio sem sair do centro de plataforma que iniciará no nível 12 de estabilidade e, gradualmente, diminuía até o nível dois. Em seguida, foi gerado um índice de estabilidade geral. Os resultados do teste foram comparados com os dados normativos dependentes da idade que foram gerados pela plataforma. O maior escore indicou um possível déficit na força dos membros inferiores e nos sistemas sensoriais. Todos os testes foram conduzidos pelo mesmo examinador para minimizar possíveis vieses (Sieri and Beretta 2004).

5.6.2 Resistência muscular de membros inferiores

A resistência muscular de membros inferiores foi determinada pelo teste “*timed-stands*” adaptado (Newcomer, Krug et al. 1993). Os participantes realizaram uma sessão de familiarização e, após um período mínimo de 48 horas, uma sessão de teste. Na sessão de teste, foi registrado o número de vezes que em que o participante conseguiu levantar e sentar de uma cadeira, sem auxílio dos braços, em um período de 30 segundos. Foram realizadas duas tentativas e o menor tempo foi utilizado para as análises.

5.6.3 Mobilidade funcional de membros inferiores

A mobilidade funcional foi avaliada por meio do teste *timed up-and-go* (Podsiadlo and Richardson 1991). Inicialmente, os participantes realizaram uma sessão de familiarização. Em seguida, na sessão de teste, foi determinado o tempo (em segundos) em que o participante requeria para levantar de uma cadeira, caminhar três metros, dar uma volta de 180° e sentar novamente na cadeira. Duas tentativas foram realizadas e o menor tempo foi utilizado para as análises.

5.6.4 Avaliações sanguíneas – Parâmetros bioquímicos

Os participantes foram orientados a comparecer ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas de São Paulo no período da manhã em jejum de 8 horas. São coletados 6 ml de sangue da veia antecubital para posterior análises. As amostras foram coletadas em tubo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e mantidas em isopor com gelo. Imediatamente após as coletas, as amostras foram centrifugadas a 1800 G durante 10 minutos a 4°C. O plasma foi pipetado e dispensado em microtubos (alíquotas), que foram congelados a -80° C para as subsequentes análises.

5.6.4.1 Dosagem glicêmica e insulinêmica

Para dosagem glicêmica, 30 µl de cada amostra sanguínea foi homogeneizado em fluoreto de sódio (NaF) 2% na razão 1:1 em microtubos no momento da coleta e centrifugadas a 1800 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi imediatamente congelado a -80°C e a glicemia foi dosada utilizando-se kit de glicose enzimático colorimétrico (BioTécnica®, São Paulo, SP – Brasil). As dosagens insulinêmicas foram determinadas pela técnica de ensaio enzimático quantitativo (Linco Research Inc, St. Louis, MO – EUA).

O índice HOMA-IR (*Homeostase Model Assessment of Insulin Resistance*) e HOMA-beta (*Homeostasis Model Assessment b-Cell Function*) foram calculados a partir dos valores de glicemia e insulinemia de jejum de acordo com Matthews et al. (Matthews, Hosker et al. 1985):

$$HOMA-IR (mmol/mU/l) = insulinemia (mU/l) \times glicemia (mmol/l) / 22,5$$

$$HOMA-beta (mmol/mU/l) = (20 \times insulinemia) / (glicemia - 3,5)$$

5.6.4.2 Perfil lipídico

O colesterol total, HDL-colesterol (lipoproteína de alta densidade), LDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade) e os triglicerídeos (TG) plasmáticos foram dosados por meio de método enzimático colorimétrico (BioTécnica[®], São Paulo, SP – Brasil). A partir do resultado de TG plasmáticos foi calculada a concentração de VLDL-colesterol (lipoproteína de densidade muito baixa), de acordo com a equação de Friedewald et al. (Friedewald, Levy et al. 1972):

$$VLDL-colesterol (mg/dl) = TG / 5$$

5.6.4.3 Outras análises

Em relação aos parâmetros de função hepática foram analisados a fosfatase alcalina (APP, U/L), o aspartato aminotransferase (AST, U/L), a alanina aminotransferase (ALT, U/L) e a desidrogenase láctica (DHL, U/L). Em relação aos aspectos de função renal foram analisados, no sangue, o ácido úrico (mg/dL), a amônia (μ mol/L), a creatinina (g/L), a ureia (g/L), o sódio (mEq/L) e o potássio (mEq/L) e, na urina, a creatinina (g/L), a microalbuminúria (mg/L) e a proteinúria (g/L). Adicionalmente, foram avaliados a enzima creatinofosfoquinase total (CPK, U/L), o hormônio de crescimento (GH, ng/mL), a globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG, nmol/L), testosterona total (ng/dL) e livre (pmol/L), o cortisol (μ g / dL) e um hemograma completo.

5.6.5 Mini avaliação nutricional (MAN)

Os grupos compostos por idosos também realizaram a MAN que é utilizada para identificar o risco de desnutrição nesta população. O questionário foi composto por 18 itens que englobam avaliação antropométrica, dietética, da clínica global, da auto-percepção de saúde e do

estado nutricional do voluntário. Os resultados obtidos, através de pontos, classificaram o idoso em bem-nutrido, sob risco nutricional ou com desnutrição (Vellas, Guigoz et al. 1999).

5.6.6 Avaliação da qualidade de vida

A avaliação da qualidade de vida foi realizada por meio do *Medical Outcomes Study 36 – Item Short Form Healthy Survey* (SF-36). Trata-se de um questionário genérico, multidimensional, formado por 36 itens que podem ser agrupados em dois grandes componentes: físico e mental, cujos resultados são transformados em uma escala de 0 a 100, cujo zero corresponde ao pior estado geral de saúde e 100 ao melhor estado de saúde para cada domínio (Ciconelli, Ferraz et al. 1999).

5.7 Análise Estatística

O tamanho da amostra foi estimado com auxílio do software G-Power[®] (versão 3.1.2), baseado em resultados obtidos no tamanho de efeito (*Effect Size* - $ES = 2,2$) para ganho de força em idosos submetidos ao TF e ingestão de proteínas (Tieland, Dirks et al. 2012). Estimou-se uma amostra de 30 voluntários ($n = 10$ por grupo) para que se alcance um poder estatístico (α) de 80% e um nível de significância de 5%. Contando com possíveis desistências ao longo do seguimento, a amostra seria inflada em 20%, totalizando o n amostral de 12 voluntários por grupo experimental.

Todas as análises seguiram o princípio de intenção de tratamento (ITT). Antes da análise inferencial, foi verificada a presença de *outliers*. Foi testado o pressuposto de esfericidade e, quando violado, os graus de liberdade foram corrigidos usando a correção de *Greenhouse-Geisser*. A normalidade da distribuição foi avaliada por meio do teste de *Shapiro-Wilk*. Foi utilizado o *Mixed Model* (SAS) para análises de medidas repetidas e, quando pertinente, post hoc de *Tukey* para comparações múltiplas. Os grupos e os tempos foram considerados fatores fixos, e os sujeitos

definidos como fatores aleatórios. Os escores dos questionários SF-36 e do MAN foram avaliados em ambos os testes não paramétricos: *Kruskal-Wallis* (comparações inter-grupos) e *Wilcoxon Signed Ranks* (teste dos postos com sinais de *Wilcoxon*) (comparações intra-grupo). A proporção de pré-frágeis e frágeis e o vendamento do estudo entre os grupos - dado o número de participantes que acertaram o suplemento ingerido -, foram avaliadas por meio do teste exato de *Fischer*. Ainda, a proporção de doenças e medicamentos entre os grupos também foram avaliadas pelo teste exato de *Fisher*. A correlação de *Pearson* foi utilizada para análise de possíveis associações entre o delta do consumo proteico e o delta das principais variáveis dependentes. Foram assumidas as médias das diferenças dos mínimos quadrados (*Differences of Least Squares Means – DLSP*) e os seus 95% do intervalo de confiança (95% CI) com base nos valores de *p* ajustado. O tamanho de efeito (*effect size*) de *Cohen's* foi calculado para avaliar as diferenças de magnitude das respostas dos *outcomes* principais (1988, Cohen 1992, Morris and DeShon 2002), utilizando-se da correção *partial eta squared* (η^2_p) e assumindo a classificação de 0.1, 0.3 e 0.5 como pequeno, moderado e grande efeito, respectivamente (Cohen 1992, Lakens 2013). Os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão e/ ou n (%) da amostral. O nível de significância adotado para rejeitar a hipótese nula foi de $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando os softwares SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences*, 17.0) e SAS® (*Statistical Analysis System*, 9.3).

6. RESULTADOS

6.1 Participantes

Foram contatados 836 idosos. Destes, 200 (154 mulheres e 46 homens) atenderam aos critérios de Fried et al., (2001) e iniciaram o protocolo de treinamento e suplementação no ensaio “The Pro-Elderly Study”. Para a presente tese, foram selecionadas 66 mulheres e alocadas nos grupos PLA (n = 22), Whey (n = 22) e Soja (n = 22). Considerando a análise por intenção de tratamento (ITT) apenas uma voluntária não participou de nenhuma das avaliações subsequentes a randomização por motivos pessoais. Portanto, 65 voluntárias - PLA (n = 21), Whey (n = 22) e Soja (n = 22) -, cumpriram o protocolo experimental. A Tabela 4 ilustra as características principais da amostra. Não foram observadas diferenças entre os grupos PLA, Whey e Soja na condição inicial em nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 4. Características demográficas, doenças associadas, medicamentos e critério de fragilidade da amostra.

	PLA (n = 21)	Whey (n = 22)	Soja (n = 22)	P
Idade	72,2 ± 5,9	72,0 ± 5,8	71,4 ± 6,2	0,895
Altura (m)	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,394
Peso (kg)	70,9 ± 13,9	66,4 ± 11,9	66,9 ± 13,6	0,459
IMC (kg/m ²)	29,4 ± 4,7	27,5 ± 3,6	28,6 ± 5,1	0,391
Massa gorda (%)	40,2 ± 4,1	37,6 ± 4,8	38,3 ± 5,4	0,180
Massa magra (kg)	40,1 ± 6,3	39,1 ± 5,3	38,9 ± 5,8	0,761
Massa Apendicular (kg)	15,9 ± 2,9	15,8 ± 2,6	15,7 ± 3,1	0,982
<i>Comorbidades n (%)</i>				
Diabetes mellitus	2 (9,1%)	5 (22,7%)	7 (31,8%)	0,179
Hipertensão arterial	10 (45,5%)	11 (50,0%)	12 (54,5%)	0,834
Hipotireoidismo	4 (18,2%)	8 (36,4%)	4 (18,2%)	0,267
Dislipidemia	10 (45,5%)	8 (36,4%)	8 (36,4%)	0,776
<i>Medicamentos n (%)</i>				
Hipoglicemiantes	2 (9,1%)	6 (27,3%)	8 (36,4%)	0,133
Anti-hipertensivos	17 (77,4%)	18 (81,9%)	14 (63,7%)	0,708
Tireoidianos	5 (22,8%)	8 (36,4%)	4 (18,2%)	0,245
Estatinas	10 (45,5%)	8 (36,4%)	8 (36,4%)	0,776
<i>Crítérios de Fragilidade n (%)</i>				
Frágeis	2 (9,1 %)	1 (4,5 %)	3 (13,6 %)	0,577
Pré-frágeis	20 (90,9 %)	21 (95,5 %)	19 (86,4 %)	-

Dados expressos em média ± desvio padrão e n (%) da amostra). Abreviações: PLA = placebo; IMC = índice de massa corporal. Valor de P representa efeito principal de grupo. Nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos.

6.2 Variáveis de Controle Experimental

6.2.1 Consumo alimentar

A Tabela 5 apresenta os dados de consumo alimentar por macronutrientes e proteína habitual por refeição. Não foram observadas diferenças significantes ($p > 0,05$) na condição inicial entre os grupos. O consumo energético (Kcal) apresentou efeito principal de tempo ($p = 0,009$) com maiores valores após o protocolo experimental (Pré – Pós: DLSM = $-132,77 \pm 48,95$, $\eta^2_p = 0,35$ (95 % CI. $-230,91 - -34,62$)). O consumo total de proteína (dieta + suplementação) apresentou efeito principal de tempo com maiores valores após o protocolo experimental (Pré – Pós: DLSM = $-0,26 \pm 0,03$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,76$ (95 % CI. $-0,32 - -0,19$)) , efeito principal de grupo apenas em favor da suplementação de soja comparado ao placebo (PLA – SOJA: DLSM = $-0,23 \pm 0,09$, $p = 0,024$, $\eta^2_p = 0,32$ (95 % CI. $-0,44 - -0,03$)) e efeito principal de interação em favor das proteínas comparadas ao placebo apenas no momento Pós (PLA vs. Whey = $-0,32 \pm 0,10$, $p = 0,024$, $\eta^2_p = 0,32$ (95% IC $-0,61 - 0,03$); PLA vs. Soja = $-0,37 \pm 0,10$, $p = 0,005$, $\eta^2_p = 0,38$ (95% IC $-0,66 - -0,08$). Não houve diferença entre os grupos suplementados com *Whey* e soja após o protocolo experimental ($p = 0,994$, $\eta^2_p = 0,06$) (figura 12). Não foram observados efeitos principais de tempo, grupo ou interação para as demais variáveis ($p > 0,05$).

Tabela 5. Consumo alimentar por macronutrientes e proteína habitual por refeição antes (Pré) e após 16 semanas (Pós) de protocolo experimental.

	PLA		Whey		Soja		P
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Interação
Energia habitual (kcal)*	1382,3 ± 300,0	1597,0 ± 444,4	1379,6 ± 305,7	1458,8 ± 316,2	1412,0 ± 321,1	1523,3 ± 403,2	0,494
Carboidratos (g)	189,0 ± 40,38	209,8 ± 57,3	188,4 ± 41,4	200,6 ± 45,3	183,8 ± 48,9	201,5 ± 79,1	0,812
Lipídios (%)	28,0 ± 6,4	30,7 ± 5,2	28,3 ± 4,5	28,5 ± 6,7	30,2 ± 7,6	30,7 ± 12,5	0,653
Proteína dieta (%)	16,6 ± 4,3	16,3 ± 2,5	16,5 ± 3,0	16,3 ± 4,1	17,4 ± 4,3	15,9 ± 4,3	0,493
Proteína dieta (g)	56,0 ± 13,7	62,7 ± 13,4	56,7 ± 14,6	58,5 ± 19,4	58,2 ± 15,7	58,9 ± 20,0	0,433
Proteína dieta (g▪ kg ⁻¹ PC▪ d ⁻¹)	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,4	0,533
Proteína total (g▪ kg ⁻¹ PC▪ d ⁻¹) * #	-	0,9 ± 0,2 ^a	-	1,2 ± 0,3 ^b	-	1,3 ± 0,5 ^b	0,001
<i>Proteína habitual por refeição (g)</i>							
Desjejum	10,9 ± 5,3	14,4 ± 6,7 ^a	11,4 ± 6,5	22,0 ± 5,0 ^b	12,8 ± 5,2	23,3 ± 5,9 ^b	0,001
Lanche da manhã	1,2 ± 1,5	1,0 ± 2,0	1,6 ± 3,4	1,9 ± 1,8	1,6 ± 3,3	1,6 ± 2,2	0,376
Almoço	24,8 ± 10,3	27,4 ± 10,8	23,9 ± 9,1	25,7 ± 10,5	24,8 ± 10,8	26,9 ± 11,3	0,701
Lanche da tarde	3,5 ± 4,1	6,0 ± 4,9	3,5 ± 3,4	3,8 ± 4,3	4,2 ± 4,7	4,4 ± 4,3	0,256
Jantar	14,2 ± 8,9	13,5 ± 5,9 ^a	15,2 ± 6,7	36,5 ± 10,5 ^b	13,9 ± 8,3	36,9 ± 10,6 ^b	< 0,001
Ceia	1,3 ± 2,3	0,3 ± 0,9	1,2 ± 2,5	1,0 ± 2,0	0,9 ± 1,9	1,1 ± 1,8	0,343

Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Abreviações: PLA = placebo; PC = peso corporal. Proteína total = proteína da dieta + suplementação. O valor de P em negrito indica efeito estatisticamente significativo. * Efeito principal de tempo [Kcal: Pre – Pós = -132,77 $\pm$ 42,91, $p = 0,009$ (95% IC -230,91 - -34,62); Proteína total : Pré - Pós = - 0,26 $\pm$ 0,03, $p < 0,001$ (95% IC -0,32 - -0,19)]. [#]Efeito principal de grupo, $p = 0,020$ [PLA – Soja = -0,23 $\pm$ 0,09, $p = 0,024$ (95% IC -0,44 - -0,03)]. Letras diferentes indicam efeito significativo no Post-hoc *Tukey-Kramer*. Letras iguais indicam ausência de diferença entre os grupos.

Figura 12. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão do consumo habitual de proteína (A) e o consumo total = dieta + suplementação (B) antes e após o protocolo experimental, respectivamente. Os grupos partem de condições similares no momento Pré ($p > 0,05$). O valor de P representa o efeito principal de interação. * Significante efeito principal de tempo. Letras iguais indicam ausência de diferença entre os suplementos.

6.2.2 Adesão à suplementação e ao treinamento de força e Vendamento

Não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,800$) entre as médias de adesão à suplementação dos grupos PLA ($76,5 \pm 23,7\%$), Whey ($71,4 \pm 23,7\%$) e Soja ($72,5 \pm 26,2\%$).

Não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,479$) entre as médias de adesão ao treinamento de força dos grupos PLA ($76,7 \pm 12,7\%$), Whey ($74,1 \pm 19,3\%$) e Soja ($80,1 \pm 14,8\%$).

Apenas oito (36,4%), três (13,6%) e seis (27,3%) dos voluntários identificaram corretamente o suplemento ingerido nos grupos PLA, Whey e Soja, respectivamente, embora não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,382$).

A Figura 13 ilustra a média percentual de adesão à suplementação e ao treinamento de força (A), e do erro por grupo dos suplementos ingeridos – Vendamento (B).

Figura 13. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão do percentual de adesão à suplementação e ao treinamento de força (A), e a média do percentual de erro por grupo dos suplementos ingeridos – Vendamento (B).

6.2.3 Efeitos Adversos

Nos grupos PLA, Whey e Soja não foram observadas incidência de lesões osteomioarticulares ou outras manifestações clínicas relacionadas ao treinamento de força. No tocante a suplementação, três voluntárias pertencentes aos grupos PLA (n = 2) e Soja (n = 1) autorrelataram desconfortos intestinais durante o protocolo experimental. Duas delas (i.e, uma em cada grupo) desistiram espontaneamente de participar das avaliações finais, embora foram consideradas na análise por ITT com seus dados pré.

6.3 Desfechos Primários

6.3.1. Composição Corporal

Os grupos apresentaram condições similares no momento Pré ($p > 0,05$). Foram observados efeitos principais de tempo para as variáveis massa magra total (Pré – Pós: DLSPM = $-0,41 \pm 0,17$, $p = 0,021$, $\eta^2_p = 0,30$ (95 % CI. $-0,75 - -0,06$)) e massa apendicular (Pré – Pós: DLSPM = $-0,33 \pm 0,08$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,49$ (95 % CI. $-0,50 - -0,17$)) com aumento de, aproximadamente, 0,4 e 0,3 kg após o protocolo de TF e suplementação (Figura 14). Não foram demonstrados efeitos principais de grupo ou interação para ambas as variáveis citadas.

Não foram observados efeitos principais de tempo, grupo ou interação ($p > 0,05$) para as variáveis peso, IMC e massa gorda (Tabela 6).

Figura 14. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão da massa magra total (A) e da massa apendicular (B) antes e após o protocolo experimental, respectivamente. Os grupos apresentaram condições similares no momento Pré ($p > 0,05$). * Significante efeito principal de tempo.

Tabela 6. Composição corporal antes (Pré) e após 16 semanas (Pós) de protocolo experimental.

	PLA		Whey		Soja		P
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Interação
Peso (kg)	70,9 ± 13,9	71,3 ± 12,7	66,4 ± 11,9	68,1 ± 11,2	66,9 ± 13,6	68,2 ± 13,9	0,546
IMC (kg/m ²)	29,4 ± 4,7	29,6 ± 4,5	27,5 ± 3,6	27,8 ± 3,7	28,6 ± 5,1	28,9 ± 5,1	0,354
Massa gorda (%)	40,2 ± 4,1	39,6 ± 4,1	37,6 ± 4,8	37,6 ± 4,8	38,3 ± 5,4	38,5 ± 5,6	0,548
Massa magra (kg)*	40,1 ± 6,3	40,9 ± 6,5	39,1 ± 5,3	40,1 ± 5,1	38,9 ± 5,8	39,3 ± 5,9	0,282
Massa Apendicular (kg)*	15,9 ± 2,9	16,4 ± 3,2	15,8 ± 2,6	16,7 ± 2,7	15,7 ± 3,1	16,1 ± 3,2	0,287

Dados expressos em média ± desvio padrão. P valor significa efeito principal de interação. * Foi observado efeito principal de tempo.

Abreviações: PLA = placebo; IMC = índice de massa corporal.

6.3.2 Força muscular dinâmica máxima

Foram observados efeitos principais de tempo nos testes de 1RM no *Leg-Press* (Pré – Pós: DLSM = $-12,94 \pm 1,03$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,86$ (95 % CI $-14,99 - -10,89$)) e supino (Pré – Pós: DLSM = $-5,30 \pm 0,48$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,82$ (95 % CI $-6,27 - -4,33$)) com um aumento de, aproximadamente, 13,0 e 5,0 kg, respectivamente, após o protocolo de TF e suplementação (Figura 15). Não foram demonstrados efeitos principais de grupo ou interação para ambas as variáveis citadas.

Figura 15. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão do teste de 1RM para os exercícios *Leg Press* (A) e *Supino* (B) ao longo de todo o protocolo experimental. *Foi demonstrado um efeito principal de tempo. Letras iguais indicam ausência de diferença entre os suplementos.

6.3.3 Pico de Torque e Taxa de Desenvolvimento de Força

Foram observados efeitos principais de tempo para o pico de torque (Pré – Pós: DLSPM = $-8,47 \pm 1,51$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,60$ (95 % CI -11,50 - -5,44)) e a taxa de desenvolvimento de força (TDF) geral (Pré – Pós: DLSPM = $-59,51 \pm 14,47$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,48$ (95 % CI -88,48 - -30,54)) (Figura 16). Foram demonstrados efeitos principais de tempo para os diferentes intervalos da TDF 30 ($p = 0,006$), TDF 50 ($p = 0,001$), TDF 100 ($p < 0,001$), TDF 150 ($p < 0,001$) e TDF 200 ($p < 0,001$) com maiores valores no pós em detrimento do pré (Figura 17). Não foram observados efeitos principais de grupo ou interação para referidas variáveis.

Figura 16. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão do torque em dinamômetro isocinético (A) e a taxa de desenvolvimento de força geral (B) antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. * Foi observado efeito principal de tempo.

Figura 17. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão da taxa de desenvolvimento de força em diferentes intervalos (A – E) antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. * Foi observado efeito principal de tempo.

6.3.4. Área de secção transversal muscular

Foram observados efeitos principais de tempo para as áreas de secção transversal (AST) dos músculos reto femoral (Pré – Pós: DLSPM = $-0,04 \pm 0,01$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,61$ (95 % CI $-0,06 - -0,03$)) e vasto lateral (Pré – Pós: DLSPM = $-1,26 \pm 0,11$, $p < 0,001$, $\eta^2_p = 0,84$ (95 % CI $-1,48 - -1,04$)) com os maiores valores demonstrados no momento pós (Figura 18). Não foram demonstrados efeitos principais de grupo ou interação para as variáveis citadas.

Figura 18. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão da AST dos músculos reto femoral (A) e vasto lateral (B) antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. * Foi observado efeito principal de tempo.

6.4. Desfechos Secundários

6.4.4. Funcionalidade

A resistência muscular de membros inferiores apresentou um efeito principal de tempo (Pré – Pós: DLSM = $-1,05 \pm 0,16$, $p < 0,001$, (95 % CI $-1,37$ - $-0,72$)) com maiores valores após o protocolo de TF e suplementação, embora não tenha evidenciado efeito principal de grupo ou interação. Não foram observados efeitos principais de tempo, grupo ou interação para a mobilidade funcional de membros inferiores, risco de quedas (Figura 19) e instabilidade baixa, moderada ou alta (Tabela 7) ($p > 0,05$).

Figura 19. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão do teste de mobilidade funcional (A), resistência muscular de membros inferiores (B) e risco de quedas (C) antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. * Foi observado efeito principal de tempo.

Tabela 7. Medidas de instabilidade antes (Pré) e após 16 semanas (Pós) de protocolo experimental.

	PLA		<i>Whey</i>		Soja		P
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Interação
Instabilidade							
Baixa	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,854
Moderada	1,5 ± 0,7	1,4 ± 0,6	1,4 ± 0,4	1,3 ± 0,5	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,5	0,516
Alta	3,0 ± 1,0	2,6 ± 0,8	2,8 ± 1,2	2,5 ± 1,1	2,6 ± 1,0	2,2 ± 1,0	0,915

Dados expressos em média ± desvio padrão. P valor significa efeito principal de interação. Não foram observados efeitos principais de tempo ou grupo. Abreviações: PLA = placebo.

6.4.5. Avaliação sanguínea - Parâmetros bioquímicos

Não foram observados efeitos principais de tempo, grupo ou interação em nenhum dos parâmetros de avaliações sanguíneas de dosagem glicêmica e insulinêmica, perfil lipídico, função hepática, função renal, hemograma completo e outros marcadores ($p > 0,05$). A Tabela 8 descreve o comportamento destes marcadores no protocolo experimental.

Tabela 8. Parâmetros bioquímicos antes (Pré) e após 16 semanas (Pós) de protocolo experimental.

	PLA		Whey		Soja		P
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Interação
Perfil Glicídico							
Glicose de jejum (mg/dL)	94,5 ± 8,3	95,7 ± 7,9	98,9 ± 19,0	98,5 ± 10,6	105,7 ± 26,8	102,7 ± 14,6	0,479
Hemoglobina glicada	115,8 ± 13,6	115, ± 11,8	119,5 ± 16,8	116,8 ± 19,7	121,5 ± 15,6	122,4 ± 14,5	0,933
Hemoglobina glicada (%)	5,6 ± 0,4	5,6 ± 0,4	5,9 ± 0,5	5,9 ± 0,4	5,9 ± 0,5	5,9 ± 0,5	0,250
Insulina (μU/mL)	12,5 ± 6,4	11,9 ± 5,6	15,6 ± 10,7	12,6 ± 6,6	11,2 ± 7,3	11,1 ± 3,4	0,592
HOMA-IR (mmol/mU/l)	3,0 ± 1,6	2,9 ± 1,5	4,1 ± 3,7	3,7 ± 1,9	3,2 ± 3,0	2,8 ± 0,9	0,829
HOMA-beta (mmol/mU/l)	144,6 ± 72,0	127,9 ± 44,0	135,6 ± 57,3	132,0 ± 49,8	102,4 ± 55,4	115,7 ± 63,2	0,077
Perfil Lipídico							
Colesterol total (mg/dL)	197,6 ± 30,8	201,6 ± 36,6	199,3 ± 38,1	178,7 ± 35,9	225,3 ± 53,1	224,8 ± 50,4	0,079
VLDL-C (mg/dL)	24,1 ± 9,0	22,1 ± 7,5	23,8 ± 10,3	25,2 ± 12,0	25,7 ± 13,4	26,5 ± 10,7	0,843
LDL-C (mg/dL)	118,4 ± 29,7	118,1 ± 31,8	113,9 ± 42,2	94,1 ± 28,4	132,9 ± 47,2	126,9 ± 48,2	0,121
HDL-C (mg/dL)	56,2 ± 13,4	61,1 ± 15,8	55,5 ± 17,8	59,5 ± 15,1	71,1 ± 24,1	71,4 ± 22,1	0,682
NHDL-C (mg/dL)	141,4 ± 31,6	141,4 ± 34,5	139,4 ± 46,1	119,2 ± 35,3	151,3 ± 53,8	153,4 ± 51,3	0,183
Triglicerídeos (mg/dL)	134,7 ± 78,4	121,1 ± 64,8	174,2 ± 219,2	125,5 ± 59,0	127,4 ± 82,9	131,8 ± 53,6	0,781
Função Hepática							
APP (U/L)	87,2 ± 24,3	83,9 ± 25,7	64,3 ± 17,4	64,6 ± 16,7	65,0 ± 15,8	70,4 ± 17,9	0,127
AST (U/L)	21,5 ± 6,0	23,9 ± 10,1	20,0 ± 3,5	24,0 ± 12,3	19,7 ± 5,5	19,9 ± 4,6	0,437
ALT (U/L)	20,1 ± 8,7	22,7 ± 11,4	18,8 ± 5,8	23,2 ± 17,4	19,0 ± 8,8	19,0 ± 6,9	0,433
DHL (U/L)	207,7 ± 36,9	219,1 ± 39,6	183,8 ± 46,4	186,5 ± 28,9	195,1 ± 71,0	203,5 ± 39,0	0,747

Função Renal***Sangue***

Ácido úrico (mg/dL)	4,8 ± 1,3	4,9 ± 1,7	4,8 ± 1,2	4,5 ± 1,0	4,9 ± 1,1	5,0 ± 1,2	0,079
Amônia (μmol/L)	20,0 ± 7,3	21,0 ± 7,0	19,0 ± 8,0	23,0 ± 9,2	19,2 ± 12,3	23,2 ± 11,6	0,377
Creatinina (g/L)	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,887
Ureia (g/L)	38,1 ± 8,8	35,4 ± 9,7	35,4 ± 10,1	35,3 ± 9,4	48,4 ± 44,4	48,8 ± 40,3	0,835
Sódio (mEq/L)	142,3 ± 1,6	142,1 ± 2,8	142,8 ± 7,2	141,2 ± 2,5	132,3 ± 34,3	139,9 ± 6,8	0,528
Potássio (mEq/L)	4,6 ± 0,4	4,7 ± 0,4	5,1 ± 3,0	4,4 ± 0,3	5,5 ± 3,5	4,6 ± 0,3	0,362
Fósforo (mg/dL)	3,7 ± 0,5	3,4 ± 0,5	9,5 ± 25,8	3,6 ± 0,6	12,6 ± 35,3	12,1 ± 34,1	0,374

Urina

Creatinina (g/L)	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,6	1,2 ± 0,6	0,369
Microalbuminúria (mg/L)	6,7 ± 4,7	13,0 ± 12,4	16,1 ± 32,6	9,5 ± 12,1	12,8 ± 22,8	18,2 ± 22,5	0,083
Proteinúria (g/L)	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,6 ± 2,3	0,1 ± 0,1	2,9 ± 12,9	0,1 ± 0,0	0,354
Potássio (mEq/L)	51,5 ± 26,3	48,0 ± 31,3	54,5 ± 25,9	53,2 ± 26,2	56,3 ± 49,4	59,1 ± 40,8	0,675
Sódio (mEq/L)	101,7 ± 42,3	114,2 ± 44,5	99,7 ± 38,3	116,0 ± 39,9	112,6 ± 41,3	111,7 ± 34,9	0,739
Ureia (g/L)	13,3 ± 5,2	11,6 ± 4,2	18,3 ± 21,6	15,3 ± 4,2	17,5 ± 10,1	18,2 ± 7,6	0,488

Outros Marcadores

Cálcio Total (mg/dL)	9,1 ± 1,4	9,6 ± 0,5	9,4 ± 0,4	9,3 ± 0,3	9,6 ± 0,5	9,6 ± 0,4	0,244
Vitamina D (ng/mL)	27,5 ± 11,9	25,2 ± 5,5	26,7 ± 8,0	27,2 ± 8,6	25,9 ± 8,5	25,3 ± 8,1	0,663
CPK (U/L)	117,1 ± 61,6	108,1 ± 43,3	113,6 ± 60,2	103,8 ± 54,7	117,1 ± 79,7	116,4 ± 91,2	0,925
GH (ng/mL)	0,6 ± 0,8	1,1 ± 1,0	4,8 ± 18,6	0,8 ± 0,6	1,1 ± 0,9	1,0 ± 0,9	0,424
SHBG (nmol/L)	73,8 ± 36,6	74,1 ± 37,4	72,9 ± 42,6	76,2 ± 43,3	74,7 ± 49,2	71,0 ± 47,1	0,848

TST (ng/dL)	17,6 ± 9,4	18,7 ± 7,3	23,1 ± 17,4	22,0 ± 10,1	16,2 ± 10,8	19,9 ± 5,7	0,366
TSL (pmol/L)	6,6 ± 6,7	5,1 ± 3,6	11,7 ± 21,7	6,4 ± 4,7	9,0 ± 13,7	5,9 ± 4,1	0,329
Cortisol (µg / dL)	11,6 ± 3,4	10,2 ± 3,0	11,1 ± 4,3	11,8 ± 3,5	12,5 ± 4,6	12,8 ± 4,5	0,808
IGF-1 (ng/mL)	118,3 ± 41,0	123,8 ± 41,5	106,4 ± 44,7	128,5 ± 74,9	112,1 ± 49,0	118,3 ± 59,6	0,665
Paratormônio (pg/mL)	48,3 ± 9,8	51,2 ± 12,4	55,0 ± 48,7	52,2 ± 20,8	50,0 ± 24,3	41,5 ± 14,7	0,316
Hemograma							
Eritrócitos (mil/mm ³)	4,9 ± 1,8	4,6 ± 0,5	4,8 ± 2,1	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,4	4,5 ± 0,4	0,847
Hemoglobina (g/dL)	14,6 ± 5,3	13,5 ± 1,0	14,8 ± 5,9	13,7 ± 1,0	13,4 ± 0,9	13,2 ± 1,0	0,803
Hematócrito (%)	42,1 ± 9,7	40,0 ± 2,9	42,2 ± 11,3	40,8 ± 3,1	40,1 ± 2,5	39,2 ± 2,8	0,868
VCM (fL)	85,9 ± 13,4	88,1 ± 4,1	88,6 ± 13,7	90,4 ± 3,7	88,4 ± 3,9	88,1 ± 3,8	0,840
HCM (pg)	30,1 ± 1,8	29,8 ± 2,1	31,1 ± 1,4	30,5 ± 1,0	29,7 ± 1,5	29,6 ± 1,3	0,219
CHCM (g/dL)	33,7 ± 0,8	33,8 ± 1,0	32,9 ± 4,4	33,8 ± 0,8	33,6 ± 0,8	33,6 ± 0,9	0,638
RDW-CV (%)	13,5 ± 0,5	13,7 ± 0,7	14,9 ± 7,2	13,2 ± 0,7	13,7 ± 0,8	13,8 ± 0,8	0,402
RDW-SD (fL)	43,5 ± 2,5	43,7 ± 3,0	44,1 ± 2,8	43,6 ± 1,9	43,6 ± 2,9	44,1 ± 1,9	0,235
Leucócitos (mil/mm ³)	6,2 ± 2,1	6,0 ± 1,7	6,0 ± 1,4	5,8 ± 0,9	5,6 ± 1,3	5,8 ± 1,2	0,506
Neutrófilos (mil/mm ³)	3,5 ± 1,3	3,5 ± 1,1	3,5 ± 1,4	3,4 ± 0,9	3,3 ± 2,0	3,3 ± 1,0	0,370
Eosinófilos (mil/mm ³)	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,9	0,2 ± 0,1	0,5 ± 1,6	0,2 ± 0,1	0,296
Basófilos (mil/mm ³)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,395
Linfócitos (mil/mm ³)	2,0 ± 0,8	2,0 ± 0,8	1,8 ± 0,6	1,7 ± 0,6	1,9 ± 0,7	1,9 ± 0,4	0,291
Monócitos (mil/mm ³)	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,2	0,8 ± 1,5	0,4 ± 0,1	0,454
Plaquetas (mil/mm ³)	244,5 ± 52,6	240,0 ± 55,0	239,2 ± 62,3	253,2 ± 53,7	241,0 ± 82,5	252,4 ± 50,8	0,330
Plaquetas VPM (fL)	10,7 ± 0,9	10,7 ± 1,0	10,3 ± 0,9	10,2 ± 0,8	10,6 ± 0,8	10,8 ± 1,1	0,293

Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Não foram observados efeitos principais de tempo e grupo. Abreviações: PLA = placebo; HOMA-IR = (*Homeostase Model Assessment of Insulin Resistance*) modelo de avaliação da homeostase – resistência à insulina ; HOMA-beta = modelo de avaliação da homeostase – células beta; VLDL-C = (*Very Low Density Lipoproteins*) lipoproteína de densidade muito baixa ; LDL-C = (*Low Density Lipoproteins*) lipoproteína de baixa densidade; HDL-C = (*High Density Lipoproteins*) lipoproteína de alta densidade; NHDL-C = não HDL-C; APP = fosfatase alcalina; AST = aspartato aminotransferase; ALT = alanina aminotransferase; DHL = desidrogenase láctica; CPK = enzima creatinofosfoquinase; GH = hormônio do crescimento; SHBG = globulina ligadora de hormônios sexuais; TST = testosterona total; TSL = testosterona livre; IGF-1 = fator de crescimento semelhante à insulina – 1; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW-CV = (Red Cell Distribution Width) coeficiente de variação do índice de variação de tamanho (anisocitose) de hemácias; RDW-SD = desvio padrão do índice de variação de tamanho de hemácias.

6.4.6. Mini avaliação nutricional (MAN)

O teste de *Kruskal-Wallis* não observou diferenças significantes nas comparações inter-grupos nos momentos pré ($p = 0,614$) e pós ($p = 0,771$) protocolo experimental. Não foram observadas diferenças intra-grupos (Pre vs Pós) no teste *Wilcoxon* pareado aos que suplementaram com PLA ($p = 0,564$), Whey ($p = 0,317$) e Soja ($p = 0,157$) (Tabela 9).

Tabela 9. Mini avaliação nutricional (MAN) antes (Pré) e após 16 semanas (Pós) de protocolo experimental.

	PLA		Whey		Soja	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
MAN n (%)						
Bem nutrido	19 (86,4 %)	15 (68,2 %)	19 (86,4 %)	19 (86,4 %)	18 (81,8 %)	17 (77,3%)
Em risco	2 (9,1 %)	3 (13,6 %)	2 (9,1 %)	2 (9,1 %)	4 (18,2 %)	2 (9,1 %)

Dados expressos em n (% da amostra). Abreviações: PLA = placebo. O teste *Kruskal-Wallis* não demonstrou diferenças inter-grupos. O teste dos postos com sinais de *Wilcoxon* não demonstrou diferenças entre intra-grupos.

6.3.4. Avaliação da qualidade de vida

O teste de *Kruskal-Wallis* não demonstrou diferenças significantes na fase pré ou pós em nenhum dos domínios: capacidade funcional, aspectos físicos, dor, estado geral da saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais ou saúde mental ($p > 0,05$). O teste dos postos com sinais de *Wilcoxon* apresentou melhora no estado geral de saúde aos pertencentes do grupo placebo ($p = 0,023$), melhora na capacidade funcional ($p = 0,003$) aos que suplementaram com whey e melhora na vitalidade ($p = 0,034$) aos suplementados com soja após o protocolo experimental (Figura 20).

A

B

C

Figura 20. Dados expressos em mediana do questionário SF-36 no grupo placebo (A) Whey (B) e Soja (C) antes (Pré) e após (Pós) o protocolo experimental. * Foi observado efeito principal de tempo.

6.3.5. Análise de correlação

O teste de correlação de *Pearson* não apresentou significância estatística entre os deltas do consumo de proteína total ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) vs. 1RM *Leg-Press* (kg), 1RM *Supino* (kg), massa apendicular (kg), massa magra (kg), AST do reto femoral (cm^2), AST do vasto lateral (cm^2), mobilidade funcional de membros inferiores (s) e resistência muscular de membros inferiores ($p > 0,05$) (Figura 21).

Figura 21. Dados expressos em delta absoluto. Teste de correlação de *Pearson* entre o consumo de proteína total ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) vs. 1RM *Leg-Press* (kg), 1RM Supino (kg) (A), massa apendicular (kg), massa magra (kg) (B), AST do reto femoral (cm^2), AST do vasto lateral (cm^2) (C), mobilidade funcional de membros inferiores (s) e resistência muscular de membros inferiores (D). Não foram observados efeitos estatisticamente significantes.

7. DISCUSSÃO

A presente tese contempla o primeiro ensaio clínico randomizado que se propôs avaliar os efeitos da suplementação com diferentes fontes de proteína (animal versus vegetal) aliada ao treinamento de força sobre a massa e força muscular de idosos com fragilidade. Cumpre destacar que este também é o primeiro segmento que se propôs avaliar as possíveis diferenças entre fontes de proteínas a partir de um protocolo de suplementação isonitrogenado na população de idosos com fragilidade.

Nosso principal achado demonstra que a média de ingestão protéica total (i.e., o consumo habitual e suplementação) - 1,2 e 1,3 g • kg⁻¹ PC • d⁻¹ nos grupos *whey* e soja, respectivamente, não demonstraram diferenças entre as fontes no que se refere as alterações da massa e força muscular dos idosos com pré-fragilidade e fragilidade. Ainda, os supracitados consumos médios de proteína em ambos os grupos não foram capazes de promover efeitos sobre a massa magra, massa apendicular ou força muscular superiores ao grupo suplementado com placebo.

As evidências demonstradas no presente trabalho não apenas contrapõem os dados agudos apontados em um importante estudo (Yang, Churchward-Venne et al. 2012) - o qual demonstrou superioridade da proteína animal (i.e., *whey*) em detrimento da proteína de soja-, mas também corrobora com as evidências crônicas dos estudos que se propuseram comparar os efeitos entre fontes nos idosos (Haub, Wells et al. 2002, Haub, Wells et al. 2005, Maltais, Ladouceur et al. 2016, Thomson, Brinkworth et al. 2016), reitarando a ausência de efeitos entre as referidas fontes protéicas sobre desfechos massa, força e função muscular.

O presente trabalho foi eficiente em dispor aos voluntários uma maior quantidade/qualidade protéica nas refeições com menor ingestão deste macronutriente - café da manhã e jantar -, visto que as evidências prévias já apontavam o café da manhã como a refeição de menor ingestão habitual de proteínas nos idosos (Paddon-Jones and Rasmussen

2009), especialmente com fragilidade (Tieland, Dirks et al. 2012, Tieland, van de Rest et al. 2012, Bollwein, Diekmann et al. 2013). Cumpre destacar que, no Brasil, até o momento não há evidências sobre o consumo proteico nas principais refeições da população idosa, principalmente com fragilidade.

Ainda em relação a distribuição protéica, no estudo proposto por Paddon-Jones & Rasmoussen (Paddon-Jones and Rasmussen 2009) recomenda-se à população idosa a ingestão de 25 a 30g de proteína por refeição (no mínimo três vezes ao dia), na intenção de prevenir ou mesmo atenuar a perda de massa muscular, maximizada através da síntese proteica. Tal fato, reitera a importância do aporte por refeição em detrimento do consumo total diário de proteínas (Paddon-Jones and Rasmussen 2009, Bollwein, Diekmann et al. 2013). Neste sentido, em nossos achados a quantidade de proteína ingerida por refeição (com auxílio da suplementação) se mostrou equivalente ao sugerido pelos autores, embora, ainda assim, tal estratégia não fora capaz de promover diferenças nas respostas musculares entre as fontes ofertadas.

Ao longo do dia, a média do consumo total de proteína em cada um dos grupos atingiu o valor recomendado para adultos a partir de 19 anos ($0,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) pela *Dietary Reference Intake* (DRI, 2002), e foi capaz de promover melhoras nas respostas ao TF (i.e., em alusão ao efeito principal de tempo demonstrado nos resultados), apesar de não ter sido demonstrado efeito da suplementação protéica. Estas evidências corroboram com importantes metanálises ao se observar os resultados individuais dos ECR (Cermak, Res et al. 2012, Finger, Goltz et al. 2015, Liao, Tsauo et al. 2017, Morton, Murphy et al. 2017), os quais demonstraram ausência de efeito do TF aliado à suplementação protéica sobre a massa magra, massa muscular e força na população idosa (exacto quando os efeitos foram observados de maneira agrupada – *pooled effect*).

Ainda no tocante as metanálises, um recente e elegante estudo de Morton et al., (Morton, Murphy et al. 2017) - que se propôs avaliar os efeitos da suplementação proteica e TF – apresentou o maior poder amostral com intervenções desta natureza até o presente momento (49 RCTs, totalizando $n = 1863$ participantes). Com base em um modelo de regressão bifásica que utilizou 42 braços de estudos ($n = 723$ participantes), os autores demonstraram que a ingestão de proteína superior a $0,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ já seria capaz de promover aumento na massa magra, mas que este aumento atingiria um platô a partir da ingestão de $1,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ de proteína. Adicionalmente, o modelo de meta-regressão univariada com base em 22 estudos ($n = 1033$ participantes) mostrou que a suplementação média de $20 \pm 18 \text{ g}$ de proteína/dia em associação ao TF foi menos efetiva para os idosos quando comparada às respostas musculares demonstradas por jovens, resultando até em perda de massa magra ($-0,01 \text{ kg}$, $p = 0,02$) em função do envelhecimento.

Com base nos dados de média e desvio padrão demonstrados no presente documento, seria necessário um tamanho amostral de 1494 voluntários ($n = 747$ por grupo) para que fosse possível evidenciarmos um efeito estatisticamente significativo na massa magra destes idosos com fragilidade. Este fato reitera a ausência de viabilidade clínica nesta população para se obter um efeito estatístico entre as fontes protéicas com a dose/quantidade ora demonstrada, entretanto, ainda não se sabe se doses superiores a ofertada no presente trabalho seria capaz de promover respostas morfológicas e funcionais distintas entre fontes proteicas e ambas em comparação ao placebo.

Adicionalmente, o presente protocolo experimental (TF aliado a suplementação de proteína) foi capaz de promover o aumento na massa magra ($+ 0,4 \text{ kg}$) e apendicular ($+ 0,3 \text{ kg}$) para todos os grupos experimentais, fato, este, que reforça a ausência de efeito significativo da suplementação protéica quando o consumo médio foi até $1,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ PC} \cdot \text{d}^{-1}$.

De maneira semelhante, o protocolo experimental também se mostrou eficiente em promover ganhos de força muscular tanto nos testes de 1RM no *Leg-Press* (+ 13 kg) e no supino (+ 5,0 kg), quanto no aumento do PT (+ 8,5 N.m) e na TDF geral (+ 60 N.m.s⁻¹) nos três grupos (PLA, *whey* e soja) indistintamente.

Há uma reconhecida importância do ganho de força muscular para a população idosa, especialmente aos idosos com fragilidade (Clark and Manini 2008), visto que esta valência física se relaciona com importantes parâmetros da qualidade muscular (Hughes, Frontera et al. 2001, Rolland, Perry et al. 2007). Neste sentido, o protocolo do TF assumido nesta tese se mostrou eficiente e corrobora com as evidências previamente demonstradas em metanálise (Cermak, Res et al. 2012), cujos ganhos de força nos teste de 1RM foram na ordem de 13,5 kg no *Leg Press*.

Sinergicamente aos ganhos de força muscular dinâmica e isométrica, foi observado aumento na AST dos músculos reto femoral (+ 0,04 cm²) e vasto lateral (+1,3 cm²), os quais podem ter refletido na melhora da resistência muscular de membros inferiores (+ 1,1 u.a) - medida pelo teste de sentar e levantar. Todavia, tais variáveis também não demonstraram distinção entre os grupos experimentais.

Apesar das evidências positivas, a literatura apresenta muitas controvérsias sobre os reais efeitos das estratégias combinadas (TF e suplementação protéica) sobre a massa magra e/ou massa muscular de idosos. Utilizando-se da primeira metanálise que avaliou o efeito da suplementação de proteína em combinação ao TF em idosos saudáveis (Cermak, Res et al. 2012) percebe-se que, dos seis ECRs (Campbell, Crim et al. 1995, Holm, Olesen et al. 2008, Iglay, Apolzan et al. 2009, Kukuljan, Nowson et al. 2009, Verdijk, Jonkers et al. 2009, Bemben, Witten et al. 2010), apenas um estudo (Kukuljan, Nowson et al. 2009) demonstrou individualmente alterações significantes na massa magra em favor da suplementação.

Todavia, ao se avaliar o efeito agrupado de todos os estudos ($n = 215$), os autores evidenciaram um aumento na magnitude de 0,7 kg de massa muscular.

Ainda existe uma grande carência por ECRs de maior robustez metodológica com controle de importantes variáveis intervenientes, os quais se proponham investigar os efeitos das estratégias terapêuticas na população idosa com fragilidade. Neste sentido, divergências como as demonstradas na literatura, tais como as diferentes formas de ingestão da proteína (i.e., se por suplemento e/ou alimento), a quantidade de proteína ofertada, a forma de oferta desta proteína (i.e., se em dose única ou fracionada, o *timing*, se em forma de aminoácidos ou proteínas intactas, se os ensaios apresentavam vendamento ou se faziam uso de placebo).

No que se refere ao treinamento, outros aspectos também precisam ser observados, dentre os quais destacam-se três imprescindíveis, a saber: a frequência, duração e intensidade do treino adotado no protocolo experimental. Estes são alguns dos fatores contundentes que nos inviabilizam obter claras conclusões sobre os tratamentos e resultados e, portanto, dificultam inferir com acurácia sobre os reais efeitos aditivos da combinação de estratégias em favor da proteína.

Sabe-se que a proteína exerce um papel fundamentalmente anabólico, especialmente o seu conteúdo de aminoácidos essenciais e a quantidade de leucina em sua composição. De um modo geral, é a partir do aumento circulante nas concentrações sanguíneas de leucina (i.e., hiperleucinemia) que ocorre uma sinalização para ativar a via da Akt/mTOR, considerada uma das principais vias de SPM (Burd *et al.*, 2009; Burd *et al.*, 2013). Para tal, existe uma quantidade ideal de leucina que precisa ser atingida (i.e., um limiar de leucinemia) e, que, na população idosa, encontra-se elevado em virtude das alterações decorrentes do envelhecimento (Dardevet, Remond *et al.* 2012). Este elevado limiar reitera a necessidade por uma maior ingestão de proteína na população idosa, em comparação aos jovens, a fim de

sobrepôr a bem estabelecida resistência anabólica (i.e, dificuldade em promover SPM mesmo diante de estímulos anabólicos) presente nos idosos (Boirie, Gachon et al. 1997).

Novamente, em face do referido papel anabólico da ingestão protéica, a quantidade (total e fracionada nas principais refeições) de proteína ingerida pelos participantes do presente estudo esteve dentro das recomendações. Contudo, é plausível supor que esta quantidade parece não ser, de fato, a ideal para ultrapassar o limiar de leucinemia e estimular – satisfatoriamente - a SPM ao ponto de promover um distinto aumento de massa muscular em comparação ao placebo e, principalmente, entre as fontes protéicas. Esta hipótese corrobora com outras evidências que já apontavam o consumo de proteína pela RDA como insuficientemente capaz de promover ganhos de massa e força muscular com o TF, especialmente em idosos (Tang, McCabe et al. 2014, Rafii, Chapman et al. 2015, Rafii, Chapman et al. 2016).

Além disso, a corrente recomendação – a qual foi estabelecida pelo Instituto de Medicina a partir de estudos de curta-duração que avaliaram o balanço nitrogenado em adultos jovens (Trumbo, Schlicker et al. 2002, Rand, Pellett et al. 2003) -, não é capaz de promover uma saúde ideal ou mesmo prevenir a perda de massa muscular induzida pela sarcopenia (Campbell, Crim et al. 1995, Daly, O'Connell et al. 2014). Por estas razões, a adequabilidade da RDA tem sido alvo de debates ao longo das duas últimas décadas (Campbell, Trappe et al. 2001, Thalacker-Mercer, Fleet et al. 2007, Wolfe and Miller 2008, Paddon-Jones and Rasmussen 2009, Morton, Murphy et al. 2017).

No tocante as limitações, a ausência de um grupo controle sem exercício em nosso delineamento experimental não nos permitiu inferir acerca do declínio biológico espontâneo causado pelo envelhecimento, o qual poderia encontrar-se potencializado frente ao quadro de fragilidade na população estudada. Todavia, a ausência do referido grupo não enfraquece a robustez do nosso experimento, sobretudo em responder acerca dos possíveis efeitos das

diferentes fontes de proteína em resposta ao TF em idosos com fragilidade. Reiteramos, ainda, a importância clínica e ecológica dos nossos achados sobre a massa, força (dinâmica e isométrica) e função muscular como importantes indicadores relacionados à incidência de mortalidade em idosos (Goodpaster, Park et al. 2006, Newman, Kupelian et al. 2006).

8. CONCLUSÃO

Não foram observadas diferenças entre as fontes protéicas (*Whey* e Soja) em resposta ao TF sobre a massa, força ou função muscular de idosos pré-frágeis e frágeis cujo consumo médio de proteína foi de 1.2 – 1.3 g.kg⁻¹.d⁻¹, respectivamente, mesmo com uma ingestão habitual de proteína dentro do recomendado para esta população.

9. REFERÊNCIAS

(1988). "Statistical Power Analysis for the Behavioral-Sciences - Cohen,J." Perceptual and Motor Skills **67**(3): 1007-1007.

Anthony, J. C., T. G. Anthony, S. R. Kimball and L. S. Jefferson (2001). "Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine." J Nutr **131**(3): 856S-860S.

Arai, T., S. Obuchi, Y. Inaba, H. Nagasawa, Y. Shiba, S. Watanabe, K. Kimura and M. Kojima (2007). "The effects of short-term exercise intervention on falls self-efficacy and the relationship between changes in physical function and falls self-efficacy in Japanese older people: a randomized controlled trial." Am J Phys Med Rehabil **86**(2): 133-141.

Association, A. H. (2015). "Electrocardiogram (ECG or EKG)." from <http://www.heart.org/HEARTORG>.

Baim, S., C. R. Wilson, E. M. Lewiecki, M. M. Luckey, R. W. Downs, Jr. and B. C. Lentle (2005). Precision assessment and radiation safety for dual-energy X-ray absorptiometry: position paper of the International Society for Clinical Densitometry. J Clin Densitom. **8**: 371-378.

Bauer, J., G. Biolo, T. Cederholm, M. Cesari, A. J. Cruz-Jentoft, J. E. Morley, S. Phillips, C. Sieber, P. Stehle, D. Teta, R. Visvanathan, E. Volpi and Y. Boirie (2013). "Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group." J Am Med Dir Assoc **14**(8): 542-559.

Bauer, J. M. and C. C. Sieber (2008). "Sarcopenia and frailty: A clinician's controversial point of view." Experimental Gerontology **43**(7): 674-678.

Baumgartner, R. N., K. M. Koehler, D. Gallagher, L. Romero, S. B. Heymsfield, R. R. Ross, P. J. Garry and R. D. Lindeman (1998). "Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico." American Journal of Epidemiology **147**(8): 755-763.

Bell, J. A., S. Fujita, E. Volpi, J. G. Cadenas and B. B. Rasmussen (2005). "Short-term insulin and nutritional energy provision do not stimulate muscle protein synthesis if blood amino acid availability decreases." Am J Physiol Endocrinol Metab **289**(6): E999-1006.

Bell, K. E., M. T. von Allmen, M. C. Devries and S. M. Phillips (2016). "Muscle Disuse as a Pivotal Problem in Sarcopenia-related Muscle Loss and Dysfunction." J Frailty Aging **5**(1): 33-41.

Bemben, M. G., M. S. Witten, J. M. Carter, K. A. Eliot, A. W. Knehans and D. A. Bemben (2010). "The effects of supplementation with creatine and protein on muscle strength following a traditional resistance training program in middle-aged and older men." J Nutr Health Aging **14**(2): 155-159.

- Binder, E. F., K. B. Schechtman, A. A. Ehsani, K. Steger-May, M. Brown, D. R. Sinacore, K. E. Yarasheski and J. O. Holloszy (2002). "Effects of exercise training on frailty in community-dwelling older adults: Results of a randomized, controlled trial." Journal of the American Geriatrics Society **50**(12): 1921-1928.
- Biolo, G., K. D. Tipton, S. Klein and R. R. Wolfe (1997). "An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein." Am J Physiol **273**(1 Pt 1): E122-129.
- Boirie, Y., M. Dangin, P. Gachon, M. P. Vasson, J. L. Maubois and B. Beaufre (1997). "Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(26): 14930-14935.
- Boirie, Y., P. Gachon and B. Beaufre (1997). "Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men." Am J Clin Nutr **65**(2): 489-495.
- Bollwein, J., R. Diekmann, M. J. Kaiser, J. M. Bauer, W. Uter, C. C. Sieber and D. Volkert (2013). "Distribution but not amount of protein intake is associated with frailty: a cross-sectional investigation in the region of Nurnberg." Nutr J **12**: 109.
- Bonnefoy, M., C. Cornu, S. Normand, F. Boutitie, F. Bugnard, A. Rahmani, J. R. Lacour and M. Laville (2003). "The effects of exercise and protein-energy supplements on body composition and muscle function in frail elderly individuals: a long-term controlled randomised study." British Journal of Nutrition **89**(5): 731-738.
- Borg, G., P. Hassmen and M. Lagerstrom (1987). "Perceived exertion related to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise." Eur J Appl Physiol Occup Physiol **56**(6): 679-685.
- Bortz, W. M., 2nd (1984). "The disuse syndrome." West J Med **141**(5): 691-694.

Bortz, W. M., 2nd (1993). "The physics of frailty." J Am Geriatr Soc **41**(9): 1004-1008.

Bos, C., C. C. Metges, C. Gaudichon, K. J. Petzke, M. E. Pueyo, C. Morens, J. Everwand, R. Benamouzig and D. Tome (2003). "Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinant of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans." J Nutr **133**(5): 1308-1315.

Breen, L. and S. M. Phillips (2011). "Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of ageing." Nutrition & Metabolism **8**.

Breen, L. and S. M. Phillips (2011). "Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of ageing." Nutr Metab (Lond) **8**: 68.

Breen, L. and S. M. Phillips (2013). "Interactions between exercise and nutrition to prevent muscle waste during ageing." Br J Clin Pharmacol **75**(3): 708-715.

Brown, L. and J. Weir (2011). "ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power." Journal of Exercise Physiology **4**(3): 1-21.

Buchner, D. M. and E. H. Wagner (1992). "Preventing frail health." Clin Geriatr Med **8**(1): 1-17.

Burd, N. A., S. H. Gorissen and L. J. van Loon (2013). "Anabolic resistance of muscle protein synthesis with aging." Exerc Sport Sci Rev **41**(3): 169-173.

Campbell, A. J. and D. M. Buchner (1997). "Unstable disability and the fluctuations of frailty." Age Ageing **26**(4): 315-318.

Campbell, W. W., M. C. Crim, V. R. Young, L. J. Joseph and W. J. Evans (1995). "Effects of resistance training and dietary protein intake on protein metabolism in older adults." Am J Physiol **268**(6 Pt 1): E1143-1153.

Campbell, W. W., T. A. Trappe, R. R. Wolfe and W. J. Evans (2001). "The recommended dietary allowance for protein may not be adequate for older people to maintain skeletal muscle." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(6): M373-380.

Candow, D. G., J. P. Little, P. D. Chilibeck, S. Abeysekara, G. A. Zello, M. Kazachkov, S. M. Cornish and P. H. Yu (2008). "Low-dose creatine combined with protein during resistance training in older men." Med Sci Sports Exerc **40**(9): 1645-1652.

Cassilhas, R. C., V. A. Viana, V. Grassmann, R. T. Santos, R. F. Santos, S. Tufik and M. T. Mello (2007). "The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly." Med Sci Sports Exerc **39**(8): 1401-1407.

Cermak, N. M., P. T. Res, L. C. de Groot, W. H. Saris and L. J. van Loon (2012). "Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis." Am J Clin Nutr **96**(6): 1454-1464.

Chevalier, S., R. Gougeon, K. Nayar and J. A. Morais (2003). "Frailty amplifies the effects of aging on protein metabolism: role of protein intake." Am J Clin Nutr **78**(3): 422-429.

Ciconelli, R. M., M. B. Ferraz, W. Santos, I. Meinão and M. R. Quaresma (1999). "Tradução para a língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36)." Revista brasileira de reumatologia **39**(3): 143-150.

Clark, B. C. and T. M. Manini (2008). "Sarcopenia $\neq$ dynapenia." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **63**(8): 829-834.

Cohen, J. (1992). "A power primer." Psychol Bull **112**(1): 155-159.

Cooper, C., W. Dere, W. Evans, J. A. Kanis, R. Rizzoli, A. A. Sayer, C. C. Sieber, J. M.

Kaufman, G. A. van Kan, S. Boonen, J. Adachi, B. Mitlak, Y. Tsouderos, Y. Rolland and J.

Y. L. Reginster (2012). "Frailty and sarcopenia: definitions and outcome parameters."

Osteoporosis International **23**(7): 1839-1848.

Critchley, M. B., M.D.; Lond, F.R.C.P. (1931). "The neurology of old age." The Lancet: 10.

Cuthbertson, D., K. Smith, J. Babraj, G. Leese, T. Waddell, P. Atherton, H. Wackerhage, P.

M. Taylor and M. J. Rennie (2005). "Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle." FASEB J **19**(3): 422-424.

Daly, R. M., S. L. O'Connell, N. L. Mundell, C. A. Grimes, D. W. Dunstan and C. A. Nowson (2014). "Protein-enriched diet, with the use of lean red meat, combined with progressive resistance training enhances lean tissue mass and muscle strength and reduces circulating IL-6 concentrations in elderly women: a cluster randomized controlled trial." Am J Clin Nutr **99**(4): 899-910.

Dardevet, D., D. Remond, M. A. Peyron, I. Papet, I. Savary-Auzeloux and L. Mosoni (2012).

"Muscle wasting and resistance of muscle anabolism: the "anabolic threshold concept" for adapted nutritional strategies during sarcopenia." ScientificWorldJournal **2012**: 269531.

Devries, M. C. and S. M. Phillips (2015). "Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey." J Food Sci **80 Suppl 1**: A8-A15.

Dickinson, J. M., M. J. Drummond, J. R. Coben, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2013).

"Aging differentially affects human skeletal muscle amino acid transporter expression when essential amino acids are ingested after exercise." Clin Nutr **32**(2): 273-280.

Dideriksen, K. J., S. Reitelseder, S. G. Petersen, M. Hjort, I. C. Helmark, M. Kjaer and L. Holm (2011). "Stimulation of muscle protein synthesis by whey and caseinate ingestion after resistance exercise in elderly individuals." Scand J Med Sci Sports **21**(6): e372-383.

Dirks, M. L., M. Tieland, L. B. Verdijk, M. Losen, R. Nilwik, M. Mensink, L. C. de Groot and L. J. van Loon (2017). "Protein Supplementation Augments Muscle Fiber Hypertrophy but Does Not Modulate Satellite Cell Content During Prolonged Resistance-Type Exercise Training in Frail Elderly." J Am Med Dir Assoc.

Dorland, W. A. N. (1981). Dorland's illustrated medical dictionary, 26th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co.: volumes.

Dreyer, H. C., M. J. Drummond, B. Pennings, S. Fujita, E. L. Glynn, D. L. Chinkes, S. Dhanani, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2008). "Leucine-enriched essential amino acid and carbohydrate ingestion following resistance exercise enhances mTOR signaling and protein synthesis in human muscle." Am J Physiol Endocrinol Metab **294**(2): E392-400.

Drummond, M. J., H. C. Dreyer, B. Pennings, C. S. Fry, S. Dhanani, E. L. Dillon, M. Sheffield-Moore, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2008). "Skeletal muscle protein anabolic response to resistance exercise and essential amino acids is delayed with aging." J Appl Physiol (1985) **104**(5): 1452-1461.

Eggum, B. (1991). "Comments on report of a joint FAO/WHO expert consultation on protein quality evaluation, Rome 1990." Z Ernährungswiss **30**(2): 81-88.

Evans, W. J. and W. W. Campbell (1993). "Sarcopenia and age-related changes in body composition and functional capacity." J Nutr **123**(2 Suppl): 465-468.

Fiatarone, M. A., E. F. O'Neill, N. D. Ryan, K. M. Clements, G. R. Solares, M. E. Nelson, S. B. Roberts, J. J. Kehayias, L. A. Lipsitz and W. J. Evans (1994). "Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people." N Engl J Med **330**(25): 1769-1775.

Finger, D., F. R. Goltz, D. Umpierre, E. Meyer, L. H. Rosa and C. D. Schneider (2015). "Effects of protein supplementation in older adults undergoing resistance training: a systematic review and meta-analysis." Sports Med **45**(2): 245-255.

Fouillet, H., F. Mariotti, C. Gaudichon, C. Bos and D. Tome (2002). "Peripheral and splanchnic metabolism of dietary nitrogen are differently affected by the protein source in humans as assessed by compartmental modeling." J Nutr **132**(1): 125-133.

Fried, L. P., C. M. Tangen, J. Walston, A. B. Newman, C. Hirsch, J. Gottdiener, T. Seeman, R. Tracy, W. J. Kop, G. Burke, M. A. McBurnie and G. Cardiovascular Health Study Collaborative Research (2001). "Frailty in older adults: evidence for a phenotype." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(3): M146-156.

Friedewald, W. T., R. I. Levy and D. S. Fredrickson (1972). "Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge." Clin Chem **18**(6): 499-502.

Frontera, W. R., V. A. Hughes, K. J. Lutz and W. J. Evans (1991). "A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45- to 78-yr-old men and women." J Appl Physiol (1985) **71**(2): 644-650.

Frontera, W. R., C. N. Meredith, K. P. O'Reilly, H. G. Knuttgen and W. J. Evans (1988). "Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function." J Appl Physiol (1985) **64**(3): 1038-1044.

Fry, C. S., M. J. Drummond, E. L. Glynn, J. M. Dickinson, D. M. Gundermann, K. L.

Timmerman, D. K. Walker, S. Dhanani, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2011). "Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis." Skelet Muscle **1**(1): 11.

Fujita, S., B. B. Rasmussen, J. G. Cadenas, J. J. Grady and E. Volpi (2006). "Effect of insulin on human skeletal muscle protein synthesis is modulated by insulin-induced changes in muscle blood flow and amino acid availability." Am J Physiol Endocrinol Metab **291**(4): E745-754.

Galanos, A. N., G. G. Fillenbaum, H. J. Cohen and B. M. Burchett (1994). "The comprehensive assessment of community dwelling elderly: why functional status is not enough." Aging (Milano) **6**(5): 343-352.

Galanos, A. N., C. F. Pieper, J. C. Cornoni-Huntley, C. W. Bales and G. G. Fillenbaum (1994). "Nutrition and function: is there a relationship between body mass index and the functional capabilities of community-dwelling elderly?" J Am Geriatr Soc **42**(4): 368-373.

Goodpaster, B. H., S. W. Park, T. B. Harris, S. B. Kritchevsky, M. Nevitt, A. V. Schwartz, E. M. Simonsick, F. A. Tykavsky, M. Visser and A. B. Newman (2006). "The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: The health, aging and body composition study." Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences **61**(10): 1059-1064.

Greenhaff, P. L., L. G. Karagounis, N. Peirce, E. J. Simpson, M. Hazell, R. Layfield, H. Wackerhage, K. Smith, P. Atherton, A. Selby and M. J. Rennie (2008). "Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin ligases, and protein turnover in human muscle." Am J Physiol Endocrinol Metab **295**(3): E595-604.

Guillet, C., M. Prod'homme, M. Balage, P. Gachon, C. Giraudet, L. Morin, J. Grizard and Y. Boirie (2004). "Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans." FASEB J **18**(13): 1586-1587.

Gumucio, J. P. and C. L. Mendias (2013). "Atrogin-1, MuRF-1, and sarcopenia." Endocrine **43**(1): 12-21.

Guralnik, J. M., L. G. Branch, S. R. Cummings and J. D. Curb (1989). "Physical performance measures in aging research." J Gerontol **44**(5): M141-146.

Guralnik, J. M., L. Ferrucci, E. M. Simonsick, M. E. Salive and R. B. Wallace (1995). "Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability." N Engl J Med **332**(9): 556-561.

Ham, D. J., M. K. Caldw, G. S. Lynch and R. Koopman (2014). "Leucine as a treatment for muscle wasting: A critical review." Clinical Nutrition **33**(6): 937-945.

Haub, M. D., A. M. Wells and W. W. Campbell (2005). "Beef and soy-based food supplements differentially affect serum lipoprotein-lipid profiles because of changes in carbohydrate intake and novel nutrient intake ratios in older men who resistive-train." Metabolism **54**(6): 769-774.

Haub, M. D., A. M. Wells, M. A. Tarnopolsky and W. W. Campbell (2002). "Effect of protein source on resistive-training-induced changes in body composition and muscle size in older men." Am J Clin Nutr **76**(3): 511-517.

Holm, L., J. L. Olesen, K. Matsumoto, T. Doi, M. Mizuno, T. J. Alsted, A. L. Mackey, P. Schwarz and M. Kjaer (2008). "Protein-containing nutrient supplementation following

strength training enhances the effect on muscle mass, strength, and bone formation in postmenopausal women." J Appl Physiol (1985) **105**(1): 274-281.

Hu, M. H. and M. H. Woollacott (1994). "Multisensory training of standing balance in older adults: I. Postural stability and one-leg stance balance." J Gerontol **49**(2): M52-61.

Hu, M. H. and M. H. Woollacott (1994). "Multisensory training of standing balance in older adults: II. Kinematic and electromyographic postural responses." J Gerontol **49**(2): M62-71.

Hughes, V. A., W. R. Frontera, M. Wood, W. J. Evans, G. E. Dallal, R. Roubenoff and M. A. Fiatarone Singh (2001). "Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(5): B209-217.

Iglay, H. B., J. W. Apolzan, D. E. Gerrard, J. K. Eash, J. C. Anderson and W. W. Campbell (2009). "Moderately increased protein intake predominately from egg sources does not influence whole body, regional, or muscle composition responses to resistance training in older people." J Nutr Health Aging **13**(2): 108-114.

Jose A. Parraca, P. R. O., Ana Carbonell-Baeza, Virginia A Aparicio, Jose C. Adsuar, Nacis Gusi (2011). "Test-Retest reliability of Biodex Balance SD on physically active old people." JOURNAL OF HUMAN SPORT & EXERCISE **6**(2): 444-451.

Katsanos, C. S., H. Kobayashi, M. Sheffield-Moore, A. Aarsland and R. R. Wolfe (2005). "Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids." American Journal of Clinical Nutrition **82**(5): 1065-1073.

Katsanos, C. S., H. Kobayashi, M. Sheffield-Moore, A. Aarsland and R. R. Wolfe (2006). "A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein

synthesis by essential amino acids in the elderly." Am J Physiol Endocrinol Metab **291**(2): E381-387.

Kimura, K., S. Obuchi, T. Arai, H. Nagasawa, Y. Shiba, S. Watanabe and M. Kojima (2010). "The influence of short-term strength training on health-related quality of life and executive cognitive function." J Physiol Anthropol **29**(3): 95-101.

Kukuljan, S., C. A. Nowson, S. L. Bass, K. Sanders, G. C. Nicholson, M. J. Seibel, J. Salmon and R. M. Daly (2009). "Effects of a multi-component exercise program and calcium-vitamin-D3-fortified milk on bone mineral density in older men: a randomised controlled trial." Osteoporos Int **20**(7): 1241-1251.

Kukuljan, S., C. A. Nowson, K. Sanders and R. M. Daly (2009). "Effects of resistance exercise and fortified milk on skeletal muscle mass, muscle size, and functional performance in middle-aged and older men: an 18-mo randomized controlled trial." J Appl Physiol (1985) **107**(6): 1864-1873.

Lakens, D. (2013). "Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs." Front Psychol **4**: 863.

Leenders, M., L. B. Verdijk, L. van der Hoeven, J. van Kranenburg, F. Hartgens, W. K. W. H. Wodzig, W. H. M. Saris and L. J. C. van Loon (2011). "Prolonged Leucine Supplementation Does Not Augment Muscle Mass or Affect Glycemic Control in Elderly Type 2 Diabetic Men." Journal of Nutrition **141**(6): 1070-1076.

Leger, B., W. Derave, K. De Bock, P. Hespel and A. P. Russell (2008). "Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of Akt phosphorylation." Rejuvenation Res **11**(1): 163-175B.

- Liao, C. D., J. Y. Tsauo, Y. T. Wu, C. P. Cheng, H. C. Chen, Y. C. Huang, H. C. Chen and T. H. Liou (2017). "Effects of protein supplementation combined with resistance exercise on body composition and physical function in older adults: a systematic review and meta-analysis." Am J Clin Nutr **106**(4): 1078-1091.
- Luiking, Y. C., N. E. Deutz, M. Jakel and P. B. Soeters (2005). "Casein and soy protein meals differentially affect whole-body and splanchnic protein metabolism in healthy humans." J Nutr **135**(5): 1080-1087.
- Magne, H., I. Savary-Auzeloux, C. Migne, M. A. Peyron, L. Combaret, D. Remond and D. Dardevet (2012). "Contrarily to whey and high protein diets, dietary free leucine supplementation cannot reverse the lack of recovery of muscle mass after prolonged immobilization during ageing." J Physiol **590**(8): 2035-2049.
- Maltais, M. L., J. P. Ladouceur and I. J. Dionne (2016). "The Effect of Resistance Training and Different Sources of Postexercise Protein Supplementation on Muscle Mass and Physical Capacity in Sarcopenic Elderly Men." J Strength Cond Res **30**(6): 1680-1687.
- Matthews, D. R., J. P. Hosker, A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher and R. C. Turner (1985). "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man." Diabetologia **28**(7): 412-419.
- Mavalli, M. D., D. J. DiGirolamo, Y. Fan, R. C. Riddle, K. S. Campbell, T. van Groen, S. J. Frank, M. A. Sperling, K. A. Esser, M. M. Bamman and T. L. Clemens (2010). "Distinct growth hormone receptor signaling modes regulate skeletal muscle development and insulin sensitivity in mice." J Clin Invest **120**(11): 4007-4020.
- Moore, D. R., T. A. Churchward-Venne, O. Witard, L. Breen, N. A. Burd, K. D. Tipton and S. M. Phillips (2015). "Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires

greater relative protein intakes in healthy older versus younger men." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **70**(1): 57-62.

Morley, J. E. (2008). "Sarcopenia: diagnosis and treatment." J Nutr Health Aging **12**(7): 452-456.

Morley, J. E. (2012). "Sarcopenia in the elderly." Fam Pract **29 Suppl 1**: i44-i48.

Morris, S. B. and R. P. DeShon (2002). "Combining effect size estimates in meta-analysis with repeated measures and independent-groups designs." Psychological Methods **7**(1): 105-125.

Morton, R. W., K. T. Murphy, S. R. McKellar, B. J. Schoenfeld, M. Henselmans, E. Helms, A. A. Aragon, M. C. Devries, L. Banfield, J. W. Krieger and S. M. Phillips (2017). "A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults." Br J Sports Med.

Nair, K. S. (1995). "Muscle protein turnover: methodological issues and the effect of aging." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **50 Spec No**: 107-112.

Newcomer, K. L., H. E. Krug and M. L. Mahowald (1993). "Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases." J Rheumatol **20**(1): 21-27.

Newman, A. B., V. Kupelian, M. Visser, E. M. Simonsick, B. H. Goodpaster, S. B. Kritchevsky, F. A. Tylavsky, S. M. Rubin and T. B. Harris (2006). "Strength, but not muscle mass, is associated with mortality in the health, aging and body composition study cohort." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **61**(1): 72-77.

Nilwik, R., T. Snijders, M. Leenders, B. B. Groen, J. van Kranenburg, L. B. Verdijk and L. J. van Loon (2013). "The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size." Exp Gerontol **48**(5): 492-498.

Novak, L. P. (1972). "Aging, total body potassium, fat-free mass, and cell mass in males and females between ages 18 and 85 years." J Gerontol **27**(4): 438-443.

O'Connor, K. G., J. D. Tobin, S. M. Harman, C. C. Plato, T. A. Roy, S. S. Sherman and M. R. Blackman (1998). "Serum levels of insulin-like growth factor-I are related to age and not to body composition in healthy women and men." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **53**(3): M176-182.

Olney, S. J., J. Nymark, B. Brouwer, E. Culham, A. Day, J. Heard, M. Henderson and K. Parvataneni (2006). "A randomized controlled trial of supervised versus unsupervised exercise programs for ambulatory stroke survivors." Stroke **37**(2): 476-481.

Paddon-Jones, D. and B. B. Rasmussen (2009). "Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia." Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care **12**(1): 86-90.

Parizkova, J. (1974). Body Composition and Exercise during Growth and Development. Human Growth and Development

G. L. Rarick. New York, Academic Press: 27.

Pennings, B., Y. Boirie, J. M. Senden, A. P. Gijsen, H. Kuipers and L. J. van Loon (2011). "Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men." Am J Clin Nutr **93**(5): 997-1005.

- Pennings, B., R. Koopman, M. Beelen, J. M. Senden, W. H. Saris and L. J. van Loon (2011). "Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men." Am J Clin Nutr **93**(2): 322-331.
- Phillips, S. M. (2009). "Physiologic and molecular bases of muscle hypertrophy and atrophy: impact of resistance exercise on human skeletal muscle (protein and exercise dose effects)." Appl Physiol Nutr Metab **34**(3): 403-410.
- Phillips, S. M. (2015). "Nutritional Supplements in Support of Resistance Exercise to Counter Age-Related Sarcopenia." Advances in Nutrition **6**(4): 452-460.
- Podsiadlo, D. and S. Richardson (1991). "The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons." J Am Geriatr Soc **39**(2): 142-148.
- Polacow, V., F. Scagliusi and A. Lancha Jr (2003). Qualitative evaluation of an auxiliary tool for portion sizes estimation among a Brazilian sample. 5th International Conference on Dietary Assessment Methods.
- Polacow, V., F. Scagliusi and A. Lancha Jr (2003). Validation of a portion-size measurement aid in a Brazilian sample. 5th International Conference on Dietary Assessment Methods.
- Rafii, M., K. Chapman, R. Elango, W. W. Campbell, R. O. Ball, P. B. Pencharz and G. Courtney-Martin (2016). "Dietary Protein Requirement of Men >65 Years Old Determined by the Indicator Amino Acid Oxidation Technique Is Higher than the Current Estimated Average Requirement." J Nutr.
- Rafii, M., K. Chapman, J. Owens, R. Elango, W. W. Campbell, R. O. Ball, P. B. Pencharz and G. Courtney-Martin (2015). "Dietary protein requirement of female adults >65 years

determined by the indicator amino acid oxidation technique is higher than current recommendations." J Nutr **145**(1): 18-24.

Rand, W. M., P. L. Pellett and V. R. Young (2003). "Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults." Am J Clin Nutr **77**(1): 109-127.

Reeves, N. D., C. N. Maganaris and M. V. Narici (2004). "Ultrasonographic assessment of human skeletal muscle size." Eur J Appl Physiol **91**(1): 116-118.

Rogers, M. A. and W. J. Evans (1993). "Changes in skeletal muscle with aging: effects of exercise training." Exerc Sport Sci Rev **21**: 65-102.

Rolland, Y. M., H. M. Perry, 3rd, P. Patrick, W. A. Banks and J. E. Morley (2007). "Loss of appendicular muscle mass and loss of muscle strength in young postmenopausal women." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **62**(3): 330-335.

Rolland, Y. M., H. M. Perry, P. Patrick, W. A. Banks and J. E. Morley (2007). "Loss of appendicular muscle mass and loss of muscle strength in young postmenopausal women." Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences **62**(3): 330-335.

Roubenoff, R., S. B. Heymsfield, J. J. Kehayias, J. G. Cannon and I. H. Rosenberg (1997). "Standardization of nomenclature of body composition in weight loss." Am J Clin Nutr **66**(1): 192-196.

Salive, M. E., S. Satterfield, A. M. Ostfeld, R. B. Wallace and R. J. Havlik (1993). "Disability and cognitive impairment are risk factors for pneumonia-related mortality in older adults." Public Health Rep **108**(3): 314-322.

Santilli, V., A. Bernetti, M. Mangone and M. Paoloni (2014). "Clinical definition of sarcopenia." Clin Cases Miner Bone Metab **11**(3): 177-180.

Schaafsma, G. (2000). "The protein digestibility-corrected amino acid score." J Nutr **130**(7): 1865S-1867S.

Sieri, T. and G. Beretta (2004). "Fall risk assessment in very old males and females living in nursing homes." Disabil Rehabil **26**(12): 718-723.

Silva-Batista, C., V. Tricoli, G. Laurentino, M. Batista, N. Okuno and C. Ugrinowitsch (2011). "Efeito da familiarização na estabilização dos valores de 1RM." Motriz **17**(4): 610-617.

Staron, R. S., D. L. Karapondo, W. J. Kraemer, A. C. Fry, S. E. Gordon, J. E. Falkel, F. C. Hagerman and R. S. Hikida (1994). "Skeletal muscle adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women." J Appl Physiol (1985) **76**(3): 1247-1255.

Symons, T. B., M. Sheffield-Moore, M. M. Mamerow, R. R. Wolfe and D. Paddon-Jones (2011). "The anabolic response to resistance exercise and a protein-rich meal is not diminished by age." J Nutr Health Aging **15**(5): 376-381.

Tang, J. E., J. W. Hartman and S. M. Phillips (2006). "Increased muscle oxidative potential following resistance training induced fibre hypertrophy in young men." Appl Physiol Nutr Metab **31**(5): 495-501.

Tang, J. E., J. J. Manolagos, G. W. Kujbida, P. J. Lysecki, D. R. Moore and S. M. Phillips (2007). "Minimal whey protein with carbohydrate stimulates muscle protein synthesis following resistance exercise in trained young men." Appl Physiol Nutr Metab **32**(6): 1132-1138.

Tang, J. E., D. R. Moore, G. W. Kujbida, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2009). "Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle

protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men." Journal of Applied Physiology **107**(3): 987-992.

Tang, J. E., D. R. Moore, G. W. Kujbida, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2009).

"Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men." J Appl Physiol (1985) **107**(3): 987-992.

Tang, J. E., J. G. Perco, D. R. Moore, S. B. Wilkinson and S. M. Phillips (2008). "Resistance training alters the response of fed state mixed muscle protein synthesis in young men." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **294**(1): R172-178.

Tang, J. E. and S. M. Phillips (2009). "Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **12**(1): 66-71.

Tang, M., G. P. McCabe, R. Elango, P. B. Pencharz, R. O. Ball and W. W. Campbell (2014).

"Assessment of protein requirement in octogenarian women with use of the indicator amino acid oxidation technique." Am J Clin Nutr **99**(4): 891-898.

Tanko, L. B., L. Movsesyan, U. Mouritzen, C. Christiansen and O. L. Svendsen (2002).

"Appendicular lean tissue mass and the prevalence of sarcopenia among healthy women." Metabolism-Clinical and Experimental **51**(1): 69-74.

Thalacker-Mercer, A. E., J. C. Fleet, B. A. Craig, N. S. Carnell and W. W. Campbell (2007).

"Inadequate protein intake affects skeletal muscle transcript profiles in older humans." Am J Clin Nutr **85**(5): 1344-1352.

Thomson, R. L., G. D. Brinkworth, M. Noakes and J. D. Buckley (2016). "Muscle strength gains during resistance exercise training are attenuated with soy compared with dairy or usual protein intake in older adults: A randomized controlled trial." Clin Nutr **35**(1): 27-33.

Tieland, M., M. L. Dirks, N. van der Zwaluw, L. B. Verdijk, O. van de Rest, L. C. de Groot and L. J. van Loon (2012). "Protein supplementation increases muscle mass gain during prolonged resistance-type exercise training in frail elderly people: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." J Am Med Dir Assoc **13**(8): 713-719.

Tieland, M., O. van de Rest, M. L. Dirks, N. van der Zwaluw, M. Mensink, L. J. van Loon and L. C. de Groot (2012). "Protein supplementation improves physical performance in frail elderly people: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." J Am Med Dir Assoc **13**(8): 720-726.

Tinetti, M. E., D. I. Baker, G. McAvay, E. B. Claus, P. Garrett, M. Gottschalk, M. L. Koch, K. Trainor and R. I. Horwitz (1994). "A multifactorial intervention to reduce the risk of falling among elderly people living in the community." N Engl J Med **331**(13): 821-827.

Tinetti, M. E., S. K. Inouye, T. M. Gill and J. T. Doucette (1995). "Shared risk factors for falls, incontinence, and functional dependence. Unifying the approach to geriatric syndromes." JAMA **273**(17): 1348-1353.

Tipton, K. D., B. B. Rasmussen, S. L. Miller, S. E. Wolf, S. K. Owens-Stovall, B. E. Petrini and R. R. Wolfe (2001). "Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise." Am J Physiol Endocrinol Metab **281**(2): E197-206.

Trumbo, P., S. Schlicker, A. A. Yates, M. Poos, Food and T. N. A. Nutrition Board of the Institute of Medicine (2002). "Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids." J Am Diet Assoc **102**(11): 1621-1630.

Tsutsumi, T., B. M. Don, L. D. Zaichkowsky and L. L. Delizonna (1997). "Physical fitness and psychological benefits of strength training in community dwelling older adults." Appl Human Sci **16**(6): 257-266.

van Vliet, S., N. A. Burd and L. J. van Loon (2015). "The Skeletal Muscle Anabolic Response to Plant- versus Animal-Based Protein Consumption." J Nutr **145**(9): 1981-1991.

Vellas, B., Y. Guigoz, P. J. Garry, F. Nourhashemi, D. Bennahum, S. Lauque and J. L. Albarede (1999). "The Mini Nutritional Assessment (MNA) and its use in grading the nutritional state of elderly patients." Nutrition **15**(2): 116-122.

Verdijk, L. B., R. A. Jonkers, B. G. Gleeson, M. Beelen, K. Meijer, H. H. Savelberg, W. K. Wodzig, P. Dendale and L. J. van Loon (2009). "Protein supplementation before and after exercise does not further augment skeletal muscle hypertrophy after resistance training in elderly men." Am J Clin Nutr **89**(2): 608-616.

Verhoeven, S., K. Vanschoonbeek, L. B. Verdijk, R. Koopman, W. K. W. H. Wodzig, P. Dendale and L. J. C. van Loon (2009). "Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men." American Journal of Clinical Nutrition **89**(5): 1468-1475.

Wall, B. T., S. H. Gorissen, B. Pennings, R. Koopman, B. B. L. Groen, L. B. Verdijk and L. J. C. van Loon (2015). "Aging Is Accompanied by a Blunted Muscle Protein Synthetic Response to Protein Ingestion." Plos One **10**(11).

Wall, B. T. and L. J. van Loon (2013). "Nutritional strategies to attenuate muscle disuse atrophy." Nutr Rev **71**(4): 195-208.

Wallace, J. I., R. S. Schwartz, A. Z. LaCroix, R. F. Uhlmann and R. A. Pearlman (1995). "Involuntary weight loss in older outpatients: incidence and clinical significance." J Am Geriatr Soc **43**(4): 329-337.

Winograd, C. H. (1984). "Mental status tests and the capacity for self-care." J Am Geriatr Soc **32**(1): 49-55.

Winograd, C. H., M. B. Gerety, E. Brown and V. Kolodny (1988). "Targeting the hospitalized elderly for geriatric consultation." J Am Geriatr Soc **36**(12): 1113-1119.

Winograd, C. H., M. B. Gerety, M. Chung, M. K. Goldstein, F. Dominguez, Jr. and R. Vallone (1991). "Screening for frailty: criteria and predictors of outcomes." J Am Geriatr Soc **39**(8): 778-784.

Witard, O. C., M. Tieland, M. Beelen, K. D. Tipton, L. J. van Loon and R. Koopman (2009). "Resistance exercise increases postprandial muscle protein synthesis in humans." Med Sci Sports Exerc **41**(1): 144-154.

Wolfe, R. R. and S. L. Miller (2008). "The recommended dietary allowance of protein: a misunderstood concept." JAMA **299**(24): 2891-2893.

Yang, Y., L. Breen, N. A. Burd, A. J. Hector, T. A. Churchward-Venne, A. R. Josse, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2012). "Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men." Br J Nutr **108**(10): 1780-1788.

Yang, Y., T. A. Churchward-Venne, N. A. Burd, L. Breen, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2012). "Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men." Nutr Metab (Lond) **9**(1): 57.

Yarasheski, K. E., J. J. Zachwieja and D. M. Bier (1993). "Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women." Am J Physiol **265**(2 Pt 1): E210-214.

10. SUPORTE FINANCEIRO E CONFLITOS DE INTERESSE

A estudo conduzido nesta tese foi financeiramente apoiado por bolsa de estudo da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo: 2013/21226-7).

Nenhum dos autores envolvidos na presente tese possuem conflitos de interesse relacionados ao tema.