

**MARCELO DE CARVALHO**

**Efeito da suplementação com leucina na alteração da  
força, massa e função muscular em voluntários idosos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título  
de Doutor em Ciências

Programa de Anestesiologia

Orientador: Prof. Dr. José Pinhata Otoch

**São Paulo  
2020**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Carvalho, Marcelo de  
Efeito da suplementação com leucina na alteração  
da força, massa e função muscular em voluntários  
idosos / Marcelo de Carvalho. -- São Paulo, 2020.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Anestesiologia.  
Orientador: José Pinhata Otoch.

Descritores: 1.Sarcopenia 2.Leucina  
3.Envelhecimento 4.Músculo

USP/FM/DBD-045/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*Saudações aos grandes mestres.*

*Om Shri Gurubhyo Namah Harih Om*

*Aos meus pais, Alberto e Yara, que sempre me mostram o caminho.*

*A Márcia, que sempre está ao meu lado.*

*Aos meus filhos Eduardo e Gustavo, por me estimularem sempre a ser melhor.*

## AGRADECIMENTOS

Professor José Pinhata Otoch, pela compreensão.

Professora Marília Seelaender, por acreditar.

Professora Daniela Caetano Gonçalves, pela generosidade.

Andréa de Carvalho Lunardini, pelo exemplo de perseverança.

Ivanir Pires Santana, pela disponibilidade luminosa.

Rosana Duarte Prisco, pelo perfeccionismo incansável.

Voluntários, pela participação desinteressada e bem-humorada em todas as etapas.

Aos meus amigos da vida inteira, Dauto José Azarite, Sandra Azarite, Paulo Azarite, Juliana Azarite, Marcelo Endo, Renata Pinheiro Endo, Renata Tamada Imamura, Carlos Eduardo Rocha Salvato, Ricardo Caetano Brito, Karina Brito, Humberto Tadashi Tachibana, Luana, Luis Amaral, Fabiana Amaral, Horácio Massao Hoshino, Fábio Lunardini, Maira Tongu, Mário Moutinho, Márcia Moutinho, Renata Moutinho, Fernando Secali e Hérica Toselli por sempre caminharem ao meu lado.

Doutor Rui Imamura, pelos preciosos conselhos.

Aos meus sobrinhos Ana Carolina, Fernanda, Artur, Bernardo, Guilherme, Rafael, Mariana Endo, Rafaela, Gabriela, Bruno, Mariana Salvato, Fernando, Carolina, Heitor, Daniella e Fernando, pela alegria.

Aos queridos colegas de laboratório Márcia Fábria, Ana Flávia, Sílvio, Gabriela, Daniela Ricardi, Joanna, Fanny, Ariene, Joyce, Ana Sayuri, Marcelo, Renata, Rodrigo, pela incansável ajuda e parceria.

José Antonio Lunardini, Clarisse Carneiro, Dauto Azarite, Maria do Carmo Azarite e Darci Endo, pela participação entusiasmada.

Marcelo Gomes, pela expertise em *softwares*.

Carlos Amorim, pelo incentivo.

Ricardo Laurino, pela amizade na hora mais escura.

À Aginomoto do Brasil, pelos insumos gentilmente fornecidos.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de tabelas	
Lista de figuras	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Definição de Sarcopenia .....	4
1.2 Prevalência.....	7
1.3 Tipos de Sarcopenia.....	9
1.4 Doenças Relacionadas .....	9
1.5 Fisiopatologia/Mecanismos Relacionados à Sarcopenia Primária .....	11
1.6 Tratamentos da Sarcopenia.....	13
1.6.1 Leucina.....	13
2 OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo Geral .....	18
2.2 Objetivos Específicos .....	18
3 MÉTODOS.....	19
3.1 Voluntários .....	20
3.1.1 Critério de Inclusão .....	20
3.1.2 Critérios de Exclusão .....	21
3.2 Intervenção-Suplementação.....	21
3.3 Desenho do Experimento.....	22
3.4 Parâmetros Avaliados .....	24
3.4.1 Diagnóstico Nutricional .....	24
3.4.2 Parâmetros musculares.....	24
3.4.2.1 Força muscular .....	24
3.4.2.2 Massa muscular .....	25
3.4.2.3 Função muscular .....	25
3.4.3.4 Classificação de sarcopenia.....	25
3.4.3 Avaliação dietética.....	26
3.4.4 Avaliação do estado proteico (Balanço nitrogenado).....	26
3.5 Análise Estatística.....	27
4 RESULTADOS.....	28
4.1 Caracterização da Amostra .....	29
4.2 Efeito da Suplementação entre os Grupos, Pré e Pós Suplementação.....	30
4.3 Efeito da Suplementação na Variação Pós-Pré.....	35
4.4 Classificação dos Voluntários por Diagnóstico Nutricional, Muscular, Dietético e do Estado Proteico.....	38



4.4.1	Diagnóstico nutricional.....	38
4.4.2	Parâmetros musculares.....	39
4.4.3	Avaliação dietética.....	44
4.4.4	Avaliação do estado proteico .....	46
5	DISCUSSÃO.....	48
6	CONCLUSÕES .....	56
7	ANEXO .....	59
8	REFERÊNCIAS .....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAE	- Mistura de aminoácidos essenciais rica em leucina
BIA	- Aparelho de bioimpedância
BN	- Balanço nitrogenado
CP	- Circunferência da panturrilha
DEXA	- <i>Dual-Energy X-ray Absorptometry</i>
eIF4E	- Fator de iniciação de eucarióticos E4
ESPEN	- European Society for Clinical Nutrition and Metabolism
EWGSOP2	- <i>European Working Group on Sarcopenia in Older People</i>
FCF-USP	- Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo
HMB	- Metabólito beta hidroxí beta metil butirato
HU-USP	- Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IMC	- Índice de massa corporal
IMM BIA	- Índice de massa muscular obtido pelo BIA
IMM DEXA	- Índice de massa muscular obtido pelo DEXA
ISA	- Inquérito de Saúde em São Paulo
LEU	- Leucina
mTOR	- <i>Mammalian target of rapamycin</i>
mTORC1	- <i>Mammalian target of rapamycin complex 1</i>
n	- Número de voluntários
NE	- Nitrogênio da ureia da urina de 24 horas
NI	- Nitrogênio da proteína ingerida em 24 horas
OMS	- Organização Mundial da Saúde
p	- Nível de significância
PLA	- Placebo
S6K1	- Proteína ribossômica S6 quinase 1
SIDA	- Síndrome da imunodeficiência adquirida
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
UAPI-UNIFESP	- Universidade Aberta para Pessoas Idosas da Universidade Federal de São Paulo, campus Baixada Santista
UNIFESP-Santos	- Universidade Federal de São Paulo, campus Baixada Santista

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Risco para perda de independência física .....	4
Tabela 2 -	Valores de corte no diagnóstico de sarcopenia .....	7
Tabela 3 -	Apetite por faixa etária, após dieta padrão ou hiperproteica .....	12
Tabela 4 -	Caracterização da amostra: número de voluntários por gênero, média e desvio padrão da idade (anos), estatura (cm), peso pré (kg) e IMC pré (kg/m <sup>2</sup> ) dos grupos PLA, AAE e LEU .....	29
Tabela 5 -	Média e desvio padrão do peso (kg), IMC (kg/m <sup>2</sup> ) e força de apreensão palmar (kgf) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	30
Tabela 6 -	Média e desvio padrão do IMM BIA (kg/m <sup>2</sup> ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	32
Tabela 7 -	Média e desvio padrão do IMM DEXA (kg/m <sup>2</sup> ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	33
Tabela 8 -	Média e desvio padrão da velocidade de marcha (m/s) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	34
Tabela 9 -	Média e desvio padrão da variação de proteínas (g) e de energia (kcal) dos grupos PLA, AAE e LEU .....	36
Tabela 10 -	Média e desvio padrão da variação do balanço nitrogenado (g) dos grupos PLA, AAE e LEU .....	37
Tabela 11 -	Média e desvio padrão da variação da circunferência da panturrilha (cm) dos grupos PLA, AAE e LEU .....	38

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Prevalência de sarcopenia nas diferentes faixas etárias, por gênero .....	8
Figura 2 - Distribuição de alterações cognitiva e musculares frente aos diferentes graus de sarcopenia.....	10
Figura 3 - Resistência anabólica no idoso.....	12
Figura 4 - Ação da leucina sobre a degradação proteica.....	15

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média e desvio padrão do peso (kg) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	31
Gráfico 2 - Média e desvio padrão do IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	31
Gráfico 3 - Média e desvio padrão da força de apreensão palmar (kgf) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação.....	32
Gráfico 4 - Média e desvio padrão do IMM BIA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação .....	33
Gráfico 5 - Média e desvio padrão do IMM DEXA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação.....	34
Gráfico 6 - Média e desvio padrão da velocidade de marcha (m/s) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação.....	35
Gráfico 7 - Variação da ingesta proteica (g) nos grupos PLA, AAE e LEU.....	36
Gráfico 8 - Variação da ingesta calórica (kcal) nos grupos PLA, AAE e LEU.....	36
Gráfico 9 - Variação do balanço nitrogenado (g) nos grupos PLA, AAE e LEU.....	37
Gráfico 10 - Variação da circunferência da panturrilha (cm) nos grupos PLA, AAE e LEU .....	38
Gráfico 11 - Número e porcentagem de voluntários por diagnóstico nutricional pela avaliação do IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação .....	39
Gráfico 12 - Número e porcentagem de voluntários por <i>status</i> de apreensão palmar (kgf) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	40
Gráfico 13 - Número e porcentagem de voluntários por <i>status</i> de IMM BIA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	40
Gráfico 14 - Número e porcentagem de voluntários por <i>status</i> de IMM DEXA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	41

Gráfico 15 - Número e porcentagem de voluntários por <i>status</i> de circunferência da panturrilha (cm) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	42
Gráfico 16 - Número e porcentagem de voluntários por <i>status</i> de velocidade de marcha (m/s) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	42
Gráfico 17 - Número e porcentagem de voluntários por classificação de sarcopenia pelos parâmetros do EWGSOP2 com o uso do aparelho de bioimpedância na avaliação da massa muscular nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação .....	43
Gráfico 18 - Número e porcentagem de voluntários por classificação de sarcopenia pelos parâmetros do EWGSOP2 com o uso do aparelho de densitometria óssea na avaliação da massa muscular nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	44
Gráfico 19 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão calórica diária por peso corporal (kcal/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	45
Gráfico 20 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão proteica diária por peso corporal (g/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	45
Gráfico 21 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão proteica diária por peso corporal (g/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação.....	46
Gráfico 22 - Número e porcentagem de voluntários por avaliação do balanço nitrogenado (g) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação .....	47

## RESUMO

Carvalho M. *Efeito da suplementação com leucina na alteração da força, massa e função muscular em voluntários idosos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

O envelhecimento é um processo no qual há várias alterações físicas, incluindo perda progressiva da força muscular e da massa magra corporal, que se reduz de cerca de 50% do peso corporal no adulto jovem até 25% no idoso de 75 anos, levando à diminuição da qualidade de vida e da capacidade funcional do indivíduo. Quando ocorre perda de força muscular e velocidade de marcha, concomitantes à perda de massa muscular, pode-se considerar que o indivíduo se torna sarcopênico. A presença deste quadro está associada ao maior risco de quedas e fraturas, inabilidade de executar atividades diárias, contribuindo para comprometimento da qualidade de vida, da autonomia e necessidade de cuidados de terceiros, bem como associação às doenças cardiovasculares, doença pulmonar obstrutiva crônica e alterações cognitivas, além maior risco de morte. Entre as diferentes abordagens com intuito de minimizar os sintomas decorrentes da sarcopenia, a suplementação com o aminoácido leucina resulta em atenuação da perda proteica, aumento da síntese, redução do catabolismo e conseqüente incremento de proteínas a musculatura, constituindo potencial ferramenta no tratamento do quadro. A suplementação com doses diárias de 3,0 g de leucina, por período de três meses, mostrou-se eficaz na atenuação da perda de massa magra, melhora da força, bem como da qualidade de vida dos idosos em comparação ao grupo placebo em trabalhos da literatura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de leucina e mistura de aminoácidos essenciais sobre força (avaliada pela apreensão palmar), massa (avaliada por aparelho de bioimpedância, densitometria óssea ou circunferência de panturrilha) e função muscular (avaliada pela velocidade de marcha em 4 metros) em voluntários idosos. Também foi realizada a verificação do diagnóstico nutricional, avaliação dietética e avaliação do estado proteico, obtido pelo cálculo do balanço nitrogenado (relação entre a ingestão diária de proteína e excreção), pré e pós período de suplementação de 28 dias. Os voluntários estudados foram sarcopênicos ou não, idosos (acima de 60 anos), de ambos os sexos, suplementados com duas tomadas diárias de 3 g de leucina (6 g diários), aminoácidos essenciais (com menor dose de leucina, 2 g diários) ou mistura de aminoácidos não essenciais (placebo). O grupo leucina apresentou diferença significativa do índice de massa muscular obtido pelo aparelho de bioimpedância quando comparado com o grupo de mistura de aminoácidos essenciais, tanto na pré quanto na pós-suplementação ( $p < 0,05$ ) e quando comparado ao grupo placebo somente na pós-suplementação ( $p < 0,05$ ). O grupo leucina também apresentou diferença significativa do índice de massa muscular obtido pelo aparelho de densitometria óssea quando comparado com o grupo de mistura de aminoácidos essenciais, tanto na pré quanto na pós-suplementação

( $p < 0,05$ ) e o grupo de mistura de aminoácidos essenciais apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo placebo somente na pós-suplementação ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos leucina e placebo ( $p > 0,05$ ). Nos grupos leucina e placebo foram detectadas diferenças significantes entre pós e pré-suplementação ( $p < 0,05$ ). Independente do grupo, houve diferença significativa da velocidade de marcha entre pós e pré-suplementação ( $p = 0,002$ ). O grupo leucina apresentou maior variação de BN quando comparado aos grupos de mistura de aminoácidos essenciais e placebo ( $p < 0,05$ ). A suplementação com leucina e mistura de aminoácidos essenciais com menor dose de leucina falharam em promover alterações na pós-suplementação da força de apreensão palmar e velocidade de marcha em relação ao grupo placebo, porém o grupo leucina promoveu na pós-suplementação uma diferença estatisticamente significativa no índice de massa muscular, quando avaliada pela bioimpedância, em relação aos demais grupos, fazendo pensar que mesmo não sendo o método de escolha na avaliação deste parâmetro, a leucina na dose e tempo de administração estudados pode exercer efeito anabólico. Este resultado é corroborado pelo fato de mais de 90% dos voluntários apresentarem ingestão proteica menor que 1,5 g/kg/dia, não apresentarem diferença significativa entre a variação da ingestão calórico proteica pós-suplementação e mesmo assim ter sido detectada variação estatisticamente significativa do balanço nitrogenado do grupo leucina em relação aos demais grupos, na pós-suplementação.

Descritores: Sarcopenia; Leucina; Envelhecimento; Músculo.



## ABSTRACT

Carvalho M. *Effect of leucine supplementation on changes in muscular strength, mass and gait speed in elderly volunteers* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Aging is a process with several physical changes, including progressive loss of muscle strength and lean body mass. Fat free mass is reduced from about 50% of body weight in young adults to 25% at the age of 75 years old, leading to a decrease of quality of life and functional capacity. When there is loss of muscle strength and gait speed, concomitant with the loss of muscle mass, the individual becomes sarcopenic. The presence of this condition is associated with a greater risk of falls and fractures, inability to perform daily activities, contributing to impaired quality of life, autonomy and the need for third-part care. Sarcopenia is also associated with cardiovascular diseases, chronic obstructive pulmonary disease and cognitive disorders, in addition to a higher risk of death. Among the different approaches in order to minimize the symptoms resulting from sarcopenia, supplementation with the amino acid leucine results in attenuation of protein loss, increase synthesis, reduction of catabolism and consequent increase of proteins in the muscles, constituting a potential tool in the treatment of the condition. Supplementation with daily doses of 3.0 g of leucine, for a period of three months, was effective in mitigating the loss of lean mass, improving strength, as well as the quality of life of the elderly, compared to the placebo group in studies of literature. Our aim was to evaluate the effect of leucine supplementation and of a mixture of essential amino acids on strength (assessed by palmar pressure strength), mass (assessed by bioimpedance, bone densitometry or calf circumference) and muscle function (assessed by gait speed in 4 meters) in elderly volunteers. The assessment of nutritional status, dietary assessment and protein status, which was obtained by calculating the nitrogen balance (relationship between daily protein intake and excretion), before and after the 28-day supplementation period, was also carried out. The volunteers studied were sarcopenic or not, elderly (over 60 years old), of both sexes, supplemented with two daily doses of 3 g of leucine (6 g daily), essential amino acids (with a lower dose of leucine, 2 g daily) or mixture of non-essential amino acids (placebo). The leucine group showed a significant difference in the muscle mass index obtained by the bioimpedance device when compared with the essential amino acid mixture group, both in the pre and post supplementation ( $p < 0.05$ ) and when compared to the placebo group only post supplementation ( $p < 0.05$ ). The leucine group also showed a significant difference in the muscle mass index obtained by densitometry, when compared to the essential amino acid mixture group, both in the pre and post supplementation ( $p < 0.05$ ); the essential amino acid mixture group showed a significant difference when compared to the placebo group only post-supplementation ( $p < 0.05$ ); there was no statistically significant difference between the leucine and placebo groups ( $p > 0.05$ ) and in the

leucine and placebo groups, significant differences were detected between post and pre-supplementation ( $p < 0.05$ ). Regardless of the group, there was a significant difference in gait speed between post and pre supplementation ( $p = 0.002$ ). The leucine group showed greater variation in BN when compared to the other groups ( $p < 0.05$ ). In conclusion, the supplementation with leucine and with the mixture of essential amino acids with a lower dose of leucine failed to promote changes in the palmar strength and gait speed in relation to the placebo group. However, leucine promoted a statistically significant difference in the index of muscle mass, when evaluated by bioimpedance, in relation to the other groups. This result is corroborated by the fact that despite more than 90% of the volunteers had a protein intake lower than 1.5 g/kg/day, and does not present a significant difference between the variation in protein caloric intake after supplementation, a statistically significant variation was detected in the nitrogen balance of the leucine group in relation to the other groups, after supplementation. Therefore, it is possible that a longer time of supplementation could also affect the other studied parameters.

Descriptors: Sarcopenia, Leucine, Aging, Muscle.

# **1 INTRODUÇÃO**

O envelhecimento é atualmente tido como um fenômeno natural e complexo, caracterizado por inúmeras mudanças que ocorrem ao longo da vida do indivíduo, com uma grande variabilidade interpessoal, sendo que nem todas as mudanças possíveis podem ser consideradas deletérias. As alterações associadas à risco de desordens funcionais, doenças e consequente morte são englobadas no termo mais restrito denominado senescência, que é definida como a deterioração progressiva das funções do organismo ao longo do tempo, durante o processo natural de envelhecimento, associada a uma grande gama de processos fisiológicos em diferentes estruturas anatômicas. Apesar dessa explicação, na literatura envelhecimento é o termo que habitualmente é encontrado. Já aparece em questionamentos filosóficos e científicos desde Platão (428 a 347 a.C.) (da Costa *et al.*, 2016).

As teorias para o envelhecimento são inúmeras. Ocorre paralelamente em vários tecidos, devido a mecanismos celulares intrínsecos. Há diferentes correntes que justificam o envelhecimento. O primeiro grupo atribui o envelhecimento a mecanismos ativos, programados, ligado aos genes. O segundo defende que ocorre por um processo acumulativo de dano contínuo originado pelos subprodutos do metabolismo celular normal. Há uma terceira corrente que mais recentemente foi proposta; baseia-se na noção de que o envelhecimento é a perda gradual da habilidade celular de executar os processos bioquímicos que lhe são pertinentes (da

Costa *et al.*, 2016; de Magalhães, 2013). Não há uma clareza de qual mecanismo molecular, celular ou fisiológico é responsável predominantemente pelo envelhecimento e como ocorre a interação entre eles (Kirkwood, 2011). Assim o tratamento com finalidade de retardar o processo ou minimizar as limitações físicas e funcionais que surgem com a idade, é multidisciplinar e envolve diferentes áreas do conhecimento, como restrição calórica, terapia com células tronco, antioxidantes, reposição hormonal, terapias baseadas no uso da telomerase e terapias experimentais, com uso de imunossuppressores, entre outras (da Costa *et al.*, 2016).

Uma das alterações físicas mais marcantes do envelhecimento é a sarcopenia, caracterizada por perda de função e massa muscular. Esta largamente associada a perda de neurônios motores e alteração das mitocôndrias das fibras musculares (Komar *et al.*, 2015; Waltz *et al.*, 2018; Larsson *et al.*, 2019).

O termo sarcopenia foi proposto por Rosenberg, sendo derivado do prefixo grego *sarx* que significa carne e do termo *penia* que significa perda (Rosenberg, 1997; Bauer *et al.*, 2008).

A sarcopenia está associada a pobre qualidade de vida (Rantanen *et al.*, 2002, Taekema *et al.*, 2010; Rizzoli *et al.*, 2013), maior mortalidade (Cooper *et al.*, 2010; Vetrano *et al.*, 2014), dificuldade para locomoção (Guralnik *et al.*, 2000; Lauretani *et al.*, 2003) e maior risco de hospitalização (Cawthon *et al.*, 2009). Habitualmente ocorre uma perda maior da função muscular (força), do que da massa muscular (Baumgartner e Waters, 2006; Goodpaster *et al.*, 2006).

## 1.1 Definição de Sarcopenia

A sarcopenia é definida como baixa função muscular (velocidade de marcha e força de apreensão palmar [*grip strength*]), na presença de diminuição da massa muscular (Mckee *et al.*, 2017). É uma doença com CID10 próprio: M62.84 (Vellas *et al.*, 2018).

Mais recentemente notou-se que a perda de massa muscular representa risco para perda de independência física, mas a diminuição da função muscular parece desempenhar um papel mais importante nesta associação (Tabela 1) (dos Santos *et al.*, 2017). Trabalho publicado em 2018 confirma a associação acima, quando mostra que a baixa performance física do segmento inferior do corpo, seja pela baixa velocidade de marcha ou alto tempo no teste de levantar da cadeira, e não a massa muscular, está relacionada diretamente com dificuldades de exercer atividades do dia a dia e indiretamente piorando a qualidade de vida dos indivíduos e aumentando os gastos com saúde desta população (Mijnarends *et al.*, 2018).

**Tabela 1 - Risco para perda de independência física**

	Risco (95% CI)
<b>Massa muscular</b>	
Normal	1,00
Baixa	1,65 (1,27-2,31)
<b>Função muscular</b>	
Normal	1,00
Baixa	6,19 (5,08-7,53)

Modelo ajustado para sexo, idade, educação, doenças crônicas, estado médico e IMC.

Fonte: adaptado de dos Santos *et al.* (2017).

Na definição de sarcopenia, foi recomendada a inclusão da medida da qualidade da função muscular ao lado da quantidade de massa muscular (Keevil e Romero-Ortuno,

2015). O Consenso Europeu de Sarcopenia, atualizado em 2018 (*European Working Group on Sarcopenia in Older People* [EWGSOP2]) e publicado em 2019, usa como parâmetro primário no diagnóstico de sarcopenia a diminuição de força muscular, dando o *status* de provável sarcopênico a indivíduo com esta alteração. O diagnóstico de sarcopenia é firmado, quando vem acompanhado da detecção de baixa quantidade/qualidade de massa muscular. Quando essas alterações estão presentes junto a baixa performance física (baixa velocidade de marcha), a sarcopenia é considerada severa (Quadro 1) (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019).

#### Quadro 1 - Definição de sarcopenia

Definição
<b>Provável sarcopenia: critério 1</b>
<b>Sarcopenia: critério 1 + critério 2</b>
<b>Sarcopenia severa: critério 1 + critério 2 + critério 3</b>
Critério 1: baixa força muscular
Critério 2: baixa quantidade ou qualidade muscular
Critério 3: baixa performance muscular

Fonte: adaptado de Cruz-Jentoft *et al.* (2019).

Na prática clínica a suspeita de um caso de sarcopenia surge quando um indivíduo chega com queixa de quedas, fraqueza, baixa velocidade de marcha, dificuldade de levantar da cadeira ou perda de peso bem como de massa muscular (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019). O EWGSOP2 sugere inicialmente o uso de questionários em que o indivíduo expõe sua percepção em relação às queixas anteriormente citadas. A investigação segue com a mensuração de diferentes parâmetros. A força muscular é avaliada habitualmente através da força de apreensão palmar, preditor de desfecho clínico de doentes sarcopênicos, correlacionada a força de diferentes grupos musculares (Alley *et al.*, 2014; Leong *et al.*, 2015). O dinamômetro tipo Jamar é

validado para estas avaliações. Pode-se ainda usar o teste de levantar da cadeira, que avalia muito bem a força dos membros inferiores (Jones *et al.*, 1999; Cesari *et al.*, 2009; Beaudart *et al.*, 2016). A massa muscular pode ser avaliada através de diferentes métodos. Dois se destacam na prática clínica. O aparelho de densitometria óssea (*Dual-Energy X-ray Absorptometry* [DEXA]) determina a massa magra total ou a massa muscular apendicular, sendo esta última o parâmetro que dá origem a um índice, quando dividida pelo quadrado da altura (IMM DEXA), valor utilizado nos estudos clínicos (Hull *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2016; Masanes *et al.*, 2017; Buckinx *et al.*, 2018). O aparelho de análise da impedância bioelétrica ou bioimpedância (BIA) também é muito utilizado nessa análise; estima a massa muscular total baseado na condutividade elétrica corporal total. O valor da massa muscular total, como no DEXA, também é convertido em índice, pela sua divisão pelo quadrado da altura do indivíduo (IMM BIA), sendo este valor também o utilizado clinicamente na análise da quantidade de massa muscular. O estado de hidratação do indivíduo altera o resultado da leitura do BIA (Rossi *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016; Reis *et al.*, 2016; Gonzalez e Heymsfield, 2017). A circunferência de panturrilha (CP) também é utilizada na avaliação da massa muscular, mostrando perda de massa quando o valor é menor que 31,0 centímetros (Landi *et al.*, 2014; Tosato *et al.*, 2017). A avaliação termina com a medida da velocidade de marcha.

Na avaliação da força muscular, valores de apreensão palmar abaixo de 27 kgf para homens e 16 kgf para mulheres são tidos como baixos, caracterizando uma hipótese diagnóstica de provável sarcopenia. Com estes valores abaixo do normal, o IMM DEXA abaixo de 7,0 kg/m<sup>2</sup> para homens e 6,0 kg/m<sup>2</sup> para mulheres ou IMM BIA abaixo de 8,9 kg/m<sup>2</sup> para homens e 6,4 kg/m<sup>2</sup> para mulheres, caracteriza-se o quadro de sarcopenia.



Quando todos estes parâmetros estão alterados e vêm acompanhados de uma velocidade de marcha em 4 metros menor que 0,8 m/s para ambos os sexos, tem-se o quadro de sarcopenia severa (Tabela 2) (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Cruz-Jentoft *et al.*, 2019)

**Tabela 2 - Valores de corte no diagnóstico de sarcopenia**

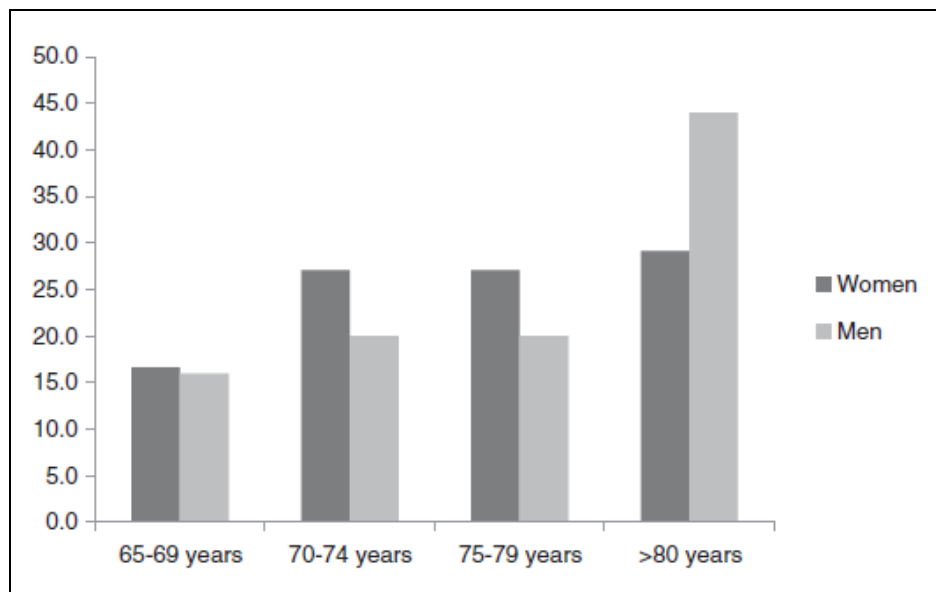
Teste	Valores baixos para homens	Valores baixos para mulheres
Força de apreensão palmar	<27 kgf	<16 kgf
IMM DEXA	<7,0 kg/m <sup>2</sup>	<6,0 kg/m <sup>2</sup>
IMM BIA	<8,9 kg/m <sup>2</sup>	<6,4 kg/m <sup>2</sup>
CP	<31 cm	<31 cm
Velocidade de marcha	<0,8 m/s	< 0,8 m/s

IMM DEXA=índice de massa muscular obtido pelo DEXA; IMM BIA=índice de massa muscular obtido pela bioimpedância; CP=circunferência de panturrilha; Velocidade de marcha em 4 metros.

Fonte: adaptado de Cruz-Jentoft *et al.* (2010), Landi *et al.* (2014), Tosato *et al.* (2017) e Cruz-Jentoft *et al.* (2019).

## 1.2 Prevalência

A prevalência da sarcopenia varia muito na dependência do gênero, grupo étnico e sócio econômico. Após os 50 anos de idade, a massa muscular diminui de 1% a 2% ao ano. A queda da força muscular é de cerca de 1,5% ao ano, entre a 5ª e a 6ª década de vida, chegando a 3% nos anos seguintes, diminuindo na média 30% dos 50 aos 70 anos de idade, com perdas mais dramáticas após os 80 anos de idade, mostrando grande variabilidade interpessoal. Estima-se que 5% a 13% dos indivíduos com 60 a 70 anos e 50% dos indivíduos acima de 80 anos sejam sarcopênicos (Starling *et al.*, 1999; von Heahling *et al.*, 2010; Morley *et al.*, 2014a). Até a 8ª década de vida, a incidência é maior entre as mulheres, sendo que a partir desta faixa etária, as incidências se equiparam, para depois aumentar entre os homens (Figura 1) (Beaudart *et al.*, 2015).



Prevalência de sarcopenia (%) estratificada por idade e gênero. Número de indivíduos por categoria: 65 a 69 anos, n=192 (mulheres=120, homens=72); 70 a 74 anos, n=136 (mulheres=81, homens=55); 75 a 79 anos, n=98 (mulheres=60, homens=38); >80 anos, n=108 (mulheres=61, homens=47). N=número de indivíduos.

Fonte: Beaudart *et al.* (2015)

**Figura 1 - Prevalência de sarcopenia nas diferentes faixas etárias, por gênero**

A sociedade japonesa, tida como um exemplo extremo quando se pensa em envelhecimento populacional, em 2010 apresentava 23% de indivíduos com idade superior a 65 anos, devendo chegar a 30,1% em 2024 e 39% em 2051 (Akune *et al.*, 2014). Espera-se um crescimento no número de indivíduos acima de 60 anos de 600 milhões em 2000 para 1,2 bilhão em 2025, passando para 2 bilhões em 2050, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), transformando a sarcopenia num problema de saúde pública (Komar *et al.*, 2015; Guglielmi *et al.*, 2016). Nos Estados Unidos da América, em 2000, os custos no tratamento da população com sarcopenia, envolvendo hospitalizações, *home care* e tratamento ambulatorial totalizaram 18,5 bilhões de dólares, o que representou 1,5% do orçamento de saúde pública naquele ano (Guralnik *et al.*, 2000; Janssen *et al.*, 2004).

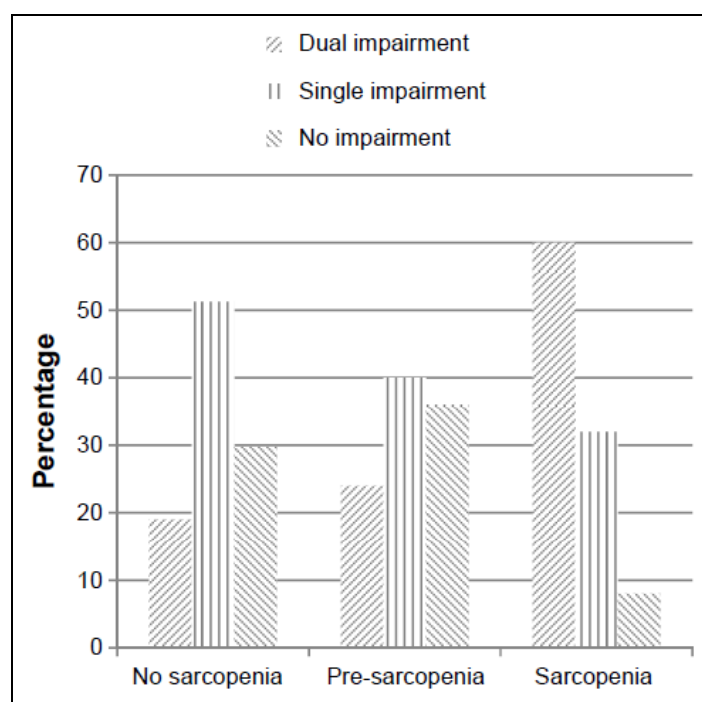
### 1.3 Tipos de Sarcopenia

Originalmente o termo foi utilizado para definir desordens da musculatura esquelética, que surgem com o envelhecimento (sarcopenia primária), porém hoje é também associada à inúmeras outras situações, presentes em doentes crônicos, não idosos, como no desuso muscular (denervação, imobilização prolongada e imaturidade física), inflamação (estados inflamatórios crônicos, como resistência à insulina, ativação de vias pró-inflamatórias e câncer) e desnutrição de macro e micronutrientes (sarcopenia secundária) (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Biolo *et al.*, 2014; Peterson e Braunschweig, 2015; Chang *et al.*, 2016; Mckee *et al.*, 2017). Estima-se por métodos diferentes de diagnóstico, que pode atingir 15% a 50% dos indivíduos com câncer, 30% a 40% hepatopatas com falência hepática e 60% a 70% dos doentes críticos presentes em terapia intensiva (Peterson e Braunschweig, 2015). Inúmeros fatores genéticos, estilo de vida e ambientais como fumo, sedentarismo e dieta contribuem para o agravamento da doença, independentemente da idade (Lee *et al.*, 2007; Bone *et al.*, 2017).

### 1.4 Doenças Relacionadas

É reconhecida como uma condição sistêmica, relacionada a comorbidades como alterações cognitivas, depressão, doenças cardiovasculares, doença pulmonar obstrutiva crônica e diabetes, mais especificamente ao aumento da resistência à insulina. Compartilham entre si praticamente os mesmos fatores de risco como estilo de vida (nutrição inadequada, sedentarismo, obesidade e tabagismo), hormonais (falta de hormônios anabólicos, resistência à insulina e *status* inflamatório crônico) e fatores genéticos. Indivíduos sarcopênicos apresentam maior probabilidade, em relação indivíduos não sarcopênicos, de ter alterações relacionadas às modificações musculares,

especialmente diminuição de força muscular, concomitantemente a alterações cognitivas (Figura 2) (Peterson e Braunschweig, 2015; Tolea e Galvin, 2015; Chang *et al.*, 2016). Doenças cardiovasculares também altamente prevalentes em idosos, estão inter-relacionadas com sarcopenia, especialmente quando se leva em conta a massa muscular dos membros inferiores transformada em índice, pela sua divisão pelo quadrado da altura (Bahat e Ilhan, 2016; Canteri *et al.*, 2019). A sarcopenia e fragilidade são comuns em doentes pulmonares obstrutivos crônicos, apresentando prevalência aumentada com a idade, gravidade da doença, sintomas e doenças correlacionadas (Bone *et al.*, 2017). Desde 1980 a relação entre baixa quantidade de massa muscular e alta porcentagem de massa gorda é associada à resistência à insulina, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de diabetes (Kolterman *et al.*, 1980).



Distribuição de alterações frente aos graus de sarcopenia.

Nota: controle tem o mais baixo nível de alterações duplas, seguidos de pré sarcopenia e finalmente de sarcopenia. As diferenças foram significantes com  $p < 0,001$ .

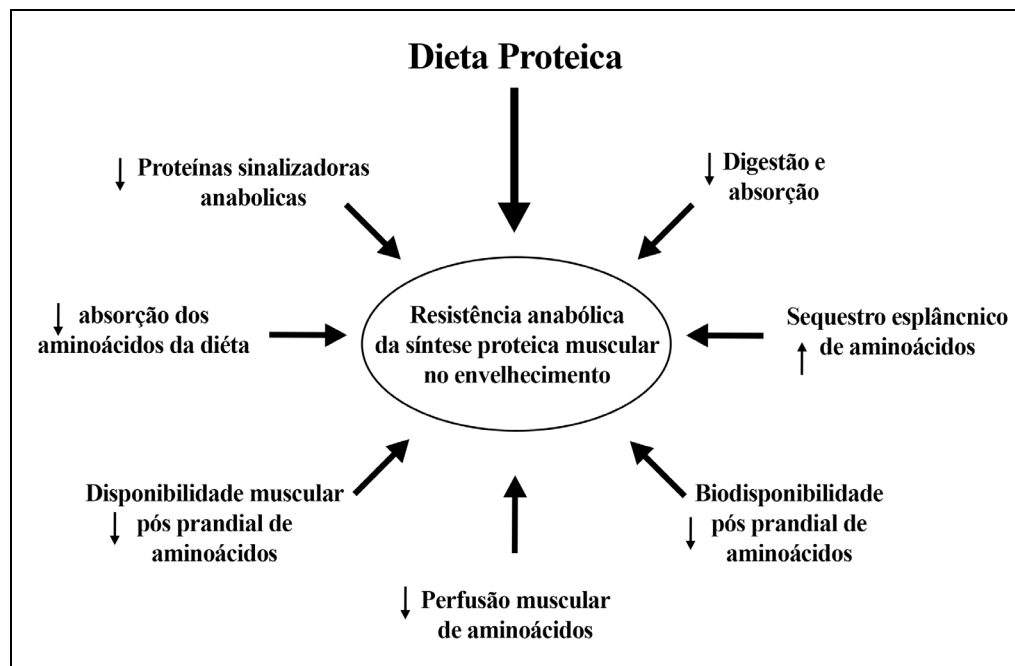
Fonte: Tolea e Galvin (2015).

**Figura 2 - Distribuição de alterações cognitivas e musculares frente aos diferentes graus de sarcopenia**

Nos doentes com câncer sem caquexia, condição em que há aumento das citocinas inflamatórias, com proteólise muscular e anorexia (Morley *et al.*, 2014b; Morley, 2016), a sarcopenia está associada a pior prognóstico do tratamento cirúrgico ou quimioterápico (Prado *et al.*, 2007; Reisinger *et al.*, 2015), especialmente naqueles que apresentam concomitantemente grande perda de peso, baixa porcentagem de massa muscular, baixa densidade muscular e diminuição da força (Kasymjanova *et al.*, 2009; Kilgour *et al.*, 2013; Martin *et al.*, 2013).

### **1.5 Fisiopatologia/Mecanismos Relacionados à Sarcopenia Primária**

A sarcopenia nos idosos está associada ao quadro de resistência anabólica que se mostra presente após a ingestão de alimentos. Inúmeros fatores contribuem, podendo-se citar a digestão e absorção diminuídas, bem como retenção dos aminoácidos na área esplâncnica, após a absorção intestinal, com conseqüente menor biodisponibilidade dos aminoácidos; menor recrutamento capilar, mediado pela insulina, além de limitações na perfusão muscular pós-prandial. Ocorre também uma regulação alterada dos transportadores de aminoácidos para dentro do músculo. A concentração proteica da *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1), sítio fundamental de integração entre os sinais anabólicos que estimulam a síntese proteica muscular, uma das duas formas da *mammalian target of rapamycin* (mTOR), está diminuída, dificultando a capacidade do músculo de ser sensível à presença do substrato para o anabolismo (Figura 3) (Burd *et al.*, 2013; Ham *et al.*, 2014).



Ingestão proteica estimula a síntese proteica, entretanto vários fatores secundários podem interferir entre a dieta e o estímulo da síntese no idoso, o que pode levar a resistência anabólica.

Fonte: adaptado de: Burd *et al.* (2013).

**Figura 3 - Resistência anabólica no idoso**

Outro fenômeno que se nota no indivíduo idoso, dificultando a ingestão proteica é que a saciedade frente a mesmas quantidades de proteína ingerida por indivíduo jovem surge com menores quantidades de proteína ingerida (Tabela 3) (Paddon-Jones e Leidy, 2014).

**Tabela 3 - Apetite por faixa etária, após dieta padrão ou hiperproteica**

	idade (anos)	apetite após 4 horas da ingestão de dieta padrão (AUC) <sup>a</sup>	apetite após 4 horas da ingestão de dieta hiperproteica (AUC) <sup>a</sup>
Adulto jovem	38±2	7878±1310	6071±1145 <sup>b</sup>
Adulto	50±1	6065±1205	5432±1053 <sup>b</sup>
Idoso	64±2	5551±1254 <sup>c</sup>	4646±1096 <sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> apetite medido através da escala visual analógica de 100 mm.

<sup>b</sup> dieta padrão versus dieta hiper proteica,  $p < 0,05$ .

<sup>c</sup> idoso versus adulto jovem,  $p < 0,05$ .

AUC=área sob a curva.

Adaptado de Paddon-Jones e Leidy (2014).

## 1.6 Tratamentos da Sarcopenia

Várias são as possíveis atuações para atenuar a perda de função e massa magra associadas à resistência anabólica que podem surgir com o envelhecimento. A atividade física desempenha um papel importante na prevenção de inúmeras doenças que surgem nos idosos, como doença coronariana, obesidade, diabetes tipo 2, dislipidemias, osteoporose, artrose e doença pulmonar obstrutiva crônica, além de diminuir a incidência de sarcopenia (Steffl *et al.*, 2017). Há anos sabe-se que os cuidados nutricionais, especialmente a ingestão de aminoácidos essenciais, associados a adesão de um programa de exercícios, além da utilização de hormônios ou medicamentos são estratégias válidas (Rolland e Pillar, 2009; Burton e Sumukadas, 2010; Yoshimura *et al.*, 2019). A utilização de fórmulas com a associação de aminoácidos essenciais, especificamente a leucina (LEU) e vitamina D mostram resultados significativos, tanto no ganho de força quanto de massa muscular. Esses são mais expressivos quando a concentração plasmática de vitamina D está acima de 50 nmol/L a 100 nmol/L (Bauer *et al.*, 2015; Verlaan *et al.*, 2018).

### 1.6.1 Leucina

Os aminoácidos são divididos em essenciais e não essenciais, baseando-se na capacidade do metabolismo humano em produzi-los, sendo os essenciais aqueles que necessitam ser providos pela dieta (Siddiqui *et al.*, 2006). Os aminoácidos essenciais servem como substrato para a síntese proteica, mas também funcionam como importantes reguladores do processo (Smith *et al.*, 1998). A LEU, valina e isoleucina exercem efeitos anabólicos, sendo que dos três, a LEU é o de maior relevância na regulação do balanço proteico intracelular (Chevalier e Winter, 2014). Há anos, a

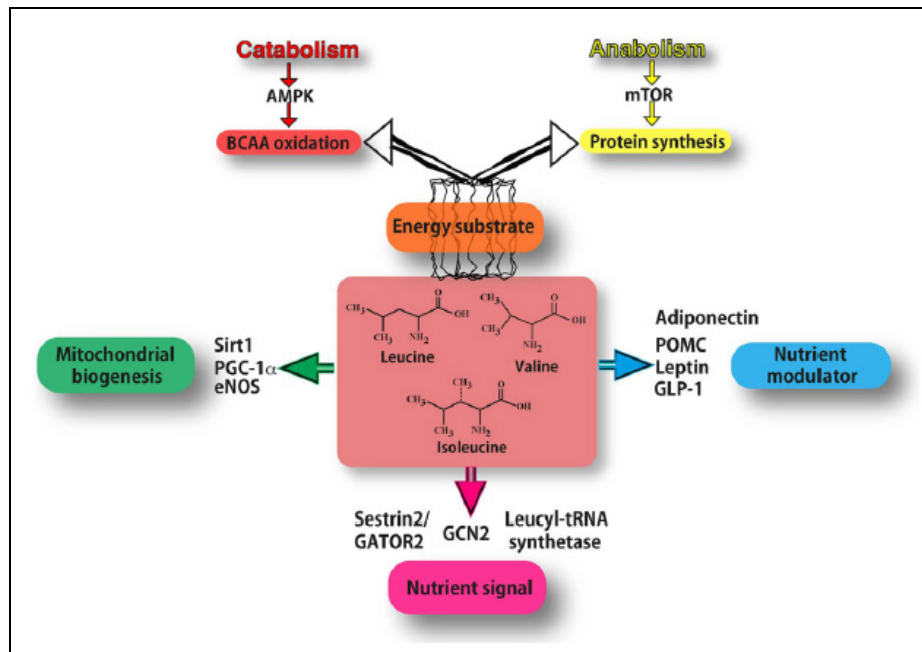
ingestão de LEU é considerada como uma terapia válida no tratamento da sarcopenia. Quando há ingestão de aminoácidos essenciais, corrigindo-se os valores administrados para o total de LEU ingerida, nota-se que ocorre aumento da taxa de síntese proteica muscular, diminuição do catabolismo muscular e aumento da captação da LEU pelo músculo (Bennet *et al.*, 1989; Katsanos *et al.*, 2006; Barillaro *et al.*, 2013). Os efeitos mostram-se mais pronunciados nos indivíduos jovens, com idade menor que 50 anos, especialmente quando se associa a utilização desta com práticas físicas, mas permanecem significativos nas faixas etárias mais velhas. Ocorre aumento do peso corporal, índice de massa corporal (IMC) e massa magra, mais notadamente naqueles propensos a desenvolver ou já com sarcopenia, sendo que a suplementação de LEU, quando gera um ganho de 0,99 kg de massa magra diminui significativamente em 20 % o risco de mortalidade por diferentes causas (Komar *et al.*, 2014). Vários estudos foram feitos com diferentes doses e períodos de administração, a voluntários idosos, porém com efeitos diversos quanto a mudanças da força e massa muscular (Katsanos *et al.*, 2006; Borsheim *et al.*, 2008; Verhoeven *et al.*, 2009; Bauer *et al.*, 2015; Rondanelli *et al.*, 2016; Abe *et al.*, 2016; Verlaan *et al.*, 2018; Liberman *et al.*, 2019).

A ação da LEU dá-se por ativação da via mTORC1, aumentando o crescimento das fibras musculares. Ocorre a fosforilação e ativação de duas vias paralelas, a da proteína ribossômica S6 quinase 1 (S6K1) e do fator de iniciação de eucarióticos E4 (eIF4E), o que permite o início da translação e síntese de novas proteínas. É mediada através da ação da S6K1 e pela fosforilação de fatores iniciais (Zeanandin *et al.*, 2012; Ham *et al.*, 2014; Bifari e Nisoli, 2017).

Também a LEU é responsável pela redução da degradação proteica e aumento da concentração plasmática de aminoácidos essenciais, acarretando aumento do



crescimento muscular (Figura 4) (Louard *et al.*, 1990; Nair *et al.*, 1992; Rennie *et al.*, 2006; Bifari e Nisoli, 2017).



Mecanismos de ação dos aminoácidos de cadeia ramificada. Como substrato energético (quadrado laranja), eles podem ser diretamente oxidados (através da sinalização do AMPK em condições catabólicas) ou entrarem na síntese proteica (através da sinalização da mTOR em condições anabólicas). Os aminoácidos de cadeia ramificada agem como sinalizadores de nutrientes para sistemas específicos sensíveis a nutrientes (quadrado rosa). Podem também agir como moduladores de nutrientes (quadrado azul), influenciando na secreção de hormônios relacionados como leptina, adiponectina, GLP-1 e pró ópio melanocortina (PMOC). Aumentam a expressão de substâncias que promovem a biogênese mitocondrial (quadrado verde), parte pela ativação da atividade da NOS.

Fonte: Bifari e Nisoli (2017).

**Figura 4 - Ação da leucina sobre a degradação proteica**

Uma dieta rica em LEU inibe a perda de massa magra, em animais de experimentação, especialmente estimulando uma maior síntese proteica, não alterando significativamente o catabolismo (Siddiqui *et al.*, 2014). A LEU e seu metabólito beta hidroxibeta metil butirato (HMB) são eficazes no tratamento da caquexia decorrente da presença do tumor e sem efeitos colaterais, nas doses usuais estipuladas, sendo que a equivalência terapêutica é de 1 mM de leucina para 50 µM de HMB (Holecek, 2017; Robinson *et al.*, 2018). Agem tanto estimulando a síntese proteica quanto diminuindo o catabolismo muscular. Esse aminoácido tem ação

contrária ao desenvolvimento da sarcopenia prevalente na caquexia, atenuando a perda proteica. Doses a partir de 2,8 g ao dia já induzem este efeito (Baxter *et al.*, 2005; Katsanos *et al.*, 2006; Caperauto *et al.*, 2007; Eley *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2013; Molfino *et al.*, 2013; Mirza *et al.*, 2014; Argilés *et al.*, 2015; Manjarrez-Montes-de-Oca *et al.*, 2015a e 2015b).

A LEU apresenta seus efeitos mediados pela ação de seu metabólito, mas também apresenta efeitos decorrentes da ação exclusiva da sua molécula (Baptista *et al.*, 2013).

Há um questionamento a respeito do efeito da LEU sobre o crescimento tumoral. Os resultados são conflitantes em estudos animais, porém a maioria destes mostra que não exerce qualquer efeito sobre esse parâmetro (Gomes-Marcondes *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2004; Choudry *et al.*, 2006; Peters *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2014), podendo quando administrado conjuntamente ao óleo de peixe, diminuir o tamanho do tumor (van Norren *et al.*, 2009). Mais recentemente, demonstrou-se que a suplementação não tem efeito sobre a massa tumoral, além de reduzir os efeitos metabólicos sistêmicos da presença do tumor (Cruz *et al.*, 2016; Viana *et al.*, 2016).

A LEU é tida como um aminoácido de administração segura. Em pacientes cirúrgicos e durante o tratamento de câncer, diminui a incidência de ascite, sepse, sem alterar a morbidade e mortalidade, tampouco a recorrência do tumor (Choudry *et al.*, 2006). Em idosos, doses de até 500 mg/kg/dia, ou seja, 35 g/dia para indivíduos de 70 kg, são bem toleradas. Acima destas doses pode haver aumento da concentração de ureia plasmática (Rasmussen *et al.*, 2006; Traylor *et al.*, 2018). Nos cirróticos a suplementação melhora a qualidade de vida sem alterar função renal, hepática, a resposta inflamatória e o estresse oxidativo (Román *et al.*, 2014). Já nos obesos é um promissor agente no tratamento da síndrome metabólica (Yao *et al.*, 2016).

## **2 OBJETIVOS**

## **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho foi verificar se a suplementação de 6 g diárias de LEU isolada, por período de 4 semanas, ou de 6 g diários de mistura de aminoácidos essenciais rica em leucina (AAE) (2 g diários), são capazes de alterar parâmetros musculares como força de apreensão palmar, avaliada pelo dinamômetro de Jamar, composição da massa muscular, através do aparelho de bioimpedância, densitometria óssea ou cálculo da circunferência de panturrilha e velocidade da marcha em 4 metros, pré e pós-suplementação em voluntários idosos sarcopênicos ou não.

## **2.2 Objetivos Específicos**

a) Avaliar o estado nutricional através do cálculo do IMC pré e pós-suplementação.

b) Verificar a presença ou não de sarcopenia e suas diferentes classificações, segundo os parâmetros preconizados pelo EWGSOP2 (força, massa muscular e velocidade de marcha) pré e pós-suplementação.

c) Avaliar a ingestão calórico proteica pré e pós-suplementação.

d) Avaliar o estado proteico pelo cálculo do balanço nitrogenado (BN) pré e pós-suplementação.

## **3 MÉTODOS**

Este projeto é um “braço” do projeto já aprovado e registrado na Plataforma Brasil com o C.A.E. 66578217.1.0000.5467. O projeto encontra-se vinculado ao projeto Fapesp sob o n 12/50079-0, que se encontrava vigente até 2018 e cadastrado com Clinical Trial (U1111-1140-7773). Foi aprovado e registrado na Plataforma Brasil com o C.A.E. 80663617.5.0000.0065. Todo material coletado será utilizado exclusivamente na pesquisa proposta, e caso haja retenção de amostra, estas serão armazenadas no biorrepositório CEPESH. 051/2014.

### **3.1 Voluntários**

Trata-se de um estudo duplo cego com voluntários sarcopênicos ou não (masculinos e femininos, idade acima de 60 anos, sem discriminação social ou étnica), atendidos no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP) e Universidade Federal de São Paulo, campus Baixada Santista (UNIFESP-Santos) e recrutados na Universidade Aberta para Pessoas Idosas da Universidade Federal de São Paulo, campus Baixada Santista (UAPI-UNIFESP) e redes sociais.

#### **3.1.1 Critério de Inclusão**

O critério de inclusão utilizado para todos os voluntários foi apresentar idade igual ou superior a 60 anos.

### 3.1.2 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão foram: apresentar caquexia; utilizar anti-inflamatórios por mais de sete dias nos últimos três meses, apresentar falência renal ou hepática, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), doenças inflamatórias intestinais ou processos inflamatórios crônicos, como distúrbios autoimunes (Nissen *et al.*, 2000) ou não ter consentido em participar do estudo.

### 3.2 Intervenção-Suplementação

Foram realizados três tipos diferentes de suplementação: 6 g de LEU; 6 g de AAE, obtida através da forma comercial aminoVITAL<sup>®</sup> da Ajinomoto do Brasil (composto de 2 g de leucina, lisina, valina, isoleucina, treonina, fenilalanina, metionina, histidina e triptofano) e 6 g do grupo controle (placebo [PLA]), mistura de aminoácidos não essenciais (composto de alanina, serina, glutamato, prolina, glicina, tirosina, aspartato e hidroxiprolina). Todos os suplementos foram oferecidos na forma de pó, em envelopes metalizados e sem identificação de seu conteúdo, divididos em duas doses (dois envelopes) por dia, com 3 g de sua respectiva suplementação cada. Foi instruído aos voluntários ingerir um envelope pela manhã ao acordar, misturado com alimento e outro à noite, antes de dormir, também misturado com alimento. Todos os aminoácidos foram gentilmente doados pela Ajinomoto do Brasil.

Para realização do estudo duplo cego, a alocação dos pacientes foi realizada de modo cego pelo recrutador, através da utilização de envelopes opacos, que definiram o grupo de tratamento e que foram abertos pelo paciente apenas após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os envelopes continham um código que definia o tipo de suplementação, cuja natureza foi informada aos pesquisadores e

pacientes apenas no final do estudo, após tabulação e estatística dos resultados. Cada paciente recebeu 56 envelopes, de mesma composição, ingeridos no período de 28 dias consecutivos (tempo de suplementação). A escolha do tipo de suplementação para cada paciente foi realizada por randomização simples permutada. A embalagem dos suplementos foi realizada por um profissional, técnico da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP).

A dose de 6 g de LEU foi sugerida baseada em trabalhos científicos que avaliaram o efeito de diferentes doses de leucina sobre a síntese proteica e manifestação de efeitos colaterais em indivíduos idosos, sarcopênicos ou não (Baxter *et al.*, 2005; Katsanos *et al.*, 2006; Caperauto *et al.*, 2007; Eley *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; Molfino *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013; Mirza *et al.*, 2014; Argilés *et al.*, 2015; Manjarrez-Montes-de-Oca *et al.*, 2015a e 2015b). A dose estabelecida e o volume do suplemento foram os mesmos para todos os voluntários, para que se mantivesse as características sigilosas do estudo duplo cego.

### **3.3 Desenho do Experimento**

Após recrutamento na UAPI-UNIFESP e redes sociais, os voluntários foram encaminhados aos pesquisadores participantes do projeto no HU-USP e UNIFESP-Santos. Todos os voluntários foram informados do objetivo e procedimentos do projeto.

Às sextas feiras, estes voluntários foram submetidos à anamnese para avaliar critérios de inclusão e exclusão. Após serem considerados elegíveis e assinarem o TCLE, foi marcado retorno para o dia seguinte, quando alguns procedimentos foram realizados:

- Entrevista para realização de recordatório alimentar 24 horas, referente ao dia anterior.



- Avaliação da composição corporal.
- Recebimento de um recipiente coletor de urina e instruções para realização da coleta em domicílio.

Na segunda feira seguinte, os voluntários retornaram ao ambulatório e trouxeram o material coletado em domicílio e novo questionário (recordatório alimentar 24 horas, referente ao dia anterior) foi aplicado. Também receberam os envelopes com os suplementos e orientações por escrito de como consumi-los. Todos estes procedimentos, exceto o recebimento dos envelopes com a suplementação, foram repetidos após o término dos 28 dias de suplementação.

Foram recrutados 80 voluntários, porém 22 desistiram do estudo por não terem se adaptado às suplementações, pela baixa palatibilidade dos sais ou terem apresentado efeitos colaterais, como epigastria ou ainda algum critério de exclusão durante o período do estudo. Desta forma, 58 indivíduos completaram a casuística do estudo.

O plano de randomização foi gerado pelo sítio da internet: [www.randomization.com](http://www.randomization.com), utilizando blocos de tamanhos diferentes (oito blocos de três e seis blocos de seis voluntários, aleatorizados), para os três grupos de voluntários sarcopênicos ou não (Anexo A).

Cada grupo de voluntários recebeu um dos três tipos de suplementação proposta, desta forma, gerando ao final do estudo, três grupos distintos:

**a) Grupo LEU:** Voluntários idosos sarcopênicos ou não, suplementados com 6 g de Leucina (n=23).

**b) Grupo AAE:** Voluntários idosos sarcopênicos ou não, suplementados com 6 g de mistura de aminoácidos essenciais (2 g de leucina) (n=16).

**c) Grupo PLA:** Voluntários idosos sarcopênicos ou não, suplementados com 6 g de mistura de aminoácidos não essenciais (n=19).

### **3.4 Parâmetros Avaliados**

A avaliação física, nutricional e da urina 24 horas destes voluntários foi feita antes e após intervenção, com intervalo de quatro semanas de suplementação (28 dias) com leucina, aminoácidos essenciais ou placebo (aminoácidos não essenciais).

#### **3.4.1 Diagnóstico Nutricional**

O diagnóstico nutricional foi obtido pela avaliação do peso e altura com consequente cálculo do IMC dos voluntários do estudo e classificados em baixo peso (IMC menor ou igual a 23), eutróficos (IMC maior que 23 ou menor que 28), pré obesidade (IMC maior ou igual a 28 e menor que 30) e obesidade (IMC maior ou igual a 30) de acordo com o OPAS (2001).

#### **3.4.2 Parâmetros musculares**

A evolução dos voluntários, frente às diferentes suplementações, foi feita utilizando-se os parâmetros de classificação da sarcopenia preconizados pelo EWGSOP2, como já realizado por Akune *et al.* (2014). Avaliou-se os voluntários antes e após o período de suplementação de 28 dias, verificando-se o comportamento destes em função dos *cut-off points* (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019; Cruz-Jentoft *et al.*, 2010).

##### **3.4.2.1 Força muscular**

Utilizou-se como preconizado um dinamômetro da Jamar (Cruz-Jentoft, 2019). Os voluntários foram avaliados sentados tendo sido anotado o maior valor de apreensão palmar, obtido de três tentativas consecutivas, da mão dominante.

#### **3.4.2.2 Massa muscular**

A massa muscular foi obtida pelos aparelhos de BIA (Balança de Bioimpedância da OMRON, modelo HBF-514C ou Balança de Bioimpedância da SECA, modelo mBCA-515) e alguns voluntários também foram avaliados pelo DEXA (G&E Healthcare, modelo Prodigy), dos quais obteve-se os índices de massa muscular, usados tradicionalmente em estudos, além da mensuração da CP.

O método do DEXA é seguro, libera baixa dose de radiação para o analisado, a execução é relativamente rápida (em torno de 6 minutos) e requer pouca cooperação (Trutschnigg *et al.*, 2008). Ademais, o método foi recentemente considerado o mais adequado para a avaliação da sarcopenia, sem efeitos colaterais e gastos maiores (Guglielmi *et al.*, 2016).

#### **3.4.2.3 Função muscular**

Finalmente a performance física foi obtida pela avaliação da velocidade de marcha em 4 metros, antes e após o estudo.

#### **3.4.3.4 Classificação de sarcopenia**

Com os dados acima obtidos, fez-se a classificação dos voluntários segundo os critérios estabelecidos pelo EWGSOP2 (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010, Cruz-Jentoft *et al.*, 2019) pré e pós-suplementação.

### 3.4.3 Avaliação dietética

A avaliação da dieta dos grupos foi feita antes e após intervenção, tentando identificar se não houve qualquer fator nutricional influente no resultado do estudo, além daquele que não a suplementação do estudo. Esta avaliação foi realizada através da aplicação do questionário a seguir descrito, idealizado com o objetivo de ser o mais simples e reprodutível possível. A interpretação deste foi feita com os preceitos mostrados no “Manual de Avaliação do Consumo Alimentar em Estudos Populacionais: A Experiência do Inquérito de Saúde em São Paulo” (ISA). Utilizou-se o método do recordatório 24 horas, tendo-se alguns cuidados para não impregnar o entrevistado com qualquer tipo de viés do pesquisador (Fisberg *et al.*, 2012).

Os recordatórios 24 horas foram realizados em dias não consecutivos, sendo um deles referente a um dia da semana e outro a um dia do final de semana.

Aos valores de consumo calórico e proteico foram avaliados conforme a adequação destes frente às recomendações nutricionais para idosos obtidas na última diretriz do *European Society for Clinical Nutrition and Metabolism* (ESPEN) (Volkert *et al.*, 2018). A recomendação para aporte calórico em idosos sem comorbidades é acima de 30 kcal/kg/dia e proteico acima de 1 g/kg/dia.

### 3.4.4 Avaliação do estado proteico (Balanço nitrogenado)

O BN foi obtido a partir da diferença entre a quantidade do nitrogênio da proteína ingerida em 24 horas (NI), obtida a partir do recordatório 24 horas e o nitrogênio da ureia (NE), resultante da coleta da urina durante 24 horas do mesmo dia.

Para a coleta da urina 24 horas, foi entregue para cada voluntário um coletor pardo de dois litros próprio para coleta.

As seguintes recomendações foram dadas:

- Descartar a primeira urina matinal, após o jejum noturno.
- Coletar todas as demais urinas do dia, incluindo a primeira urina matinal do dia seguinte.

A coleta foi realizada em domicílio antes e após o término do período de suplementação.

$NI = \text{proteína total da dieta do dia da coleta}/6,25$

$NE = (\text{ureia urinária de 24 horas} \times \text{volume urinário de 24 horas (litros)}) \times 0,047 + (2 \text{ a } 4 \text{ gramas de perdas não mensuráveis})$

$BN (g) = NI (g) - NE (g)$  (Slywitch *et al.*, 2017)

### 3.5 Análise Estatística

As variáveis contínuas na avaliação quanto à sua distribuição e quando consideradas paramétricas, descritas pelas médias e desvios-padrão, foram analisadas pelo teste ANOVA. Variáveis não paramétricas tiveram as variações pós-pré comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Quando os testes globais se mostraram significativos, testes *post-hoc* de Bonferroni e Dunn, respectivamente, foram utilizados para definir diferenças par a par. As variáveis foram analisadas por protocolo, ou seja, com os dados disponíveis de cada variável, sem a utilização de métodos de intenção de tratar para abordar dados faltantes. Não foram tomadas medidas para correção de erro tipo I. O nível de significância (p) adotado foi 5%.

## **4 RESULTADOS**

#### 4.1 Caracterização da Amostra

Conforme demonstrado na Tabela 4, no início do estudo, os três grupos estudados não apresentavam diferenças estatisticamente significantes quanto a gênero, idade, estatura, peso e IMC.

**Tabela 4 - Caracterização da amostra: número de voluntários por gênero, média e desvio padrão da idade (anos), estatura (cm), peso pré (kg) e IMC pré (kg/m<sup>2</sup>) dos grupos PLA, AAE e LEU**

		PLA (n=19)	AAE (n=16)	LEU (n=23)	p
Gênero <sup>(1)</sup>	F	16 (84,2%)	14 (87,5%)	18 (78,3%)	0,739
	M	3 (15,8%)	2 (12,5%)	5 (21,7%)	
Idade <sup>(2)</sup> (anos)		75,1 ± 8,5	73,8 ± 5,5	74,4 ± 5,7	0,849
Estatura <sup>(2)</sup> (m)		1,56 ± 0,07	1,54 ± 0,08	1,57 ± 0,09	0,462
Peso <sup>(2)</sup> (kg)	Pré	67,1 ± 14,4	62,4 ± 12,0	70,1 ± 10,1	0,161
IMC <sup>(2)</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	Pré	27,5 ± 4,5	26,2 ± 4,1	28,5 ± 4,7	0,297

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado, F=gênero feminino, M=gênero masculino, m=metros, PESO Pré=peso mensurado antes da suplementação, expresso em quilogramas (kg) e IMC (índice de massa corporal) Pré=índice de massa corpórea antes da suplementação, expresso em quilograma ao metro quadrado da altura do voluntário (kg/m<sup>2</sup>). <sup>(1)</sup> Valores expressos como frequência absoluta e relativa; p: nível descritivo do teste Qui-quadrado. <sup>(2)</sup> Valores expressos como média e desvio padrão, p: nível descritivo da ANOVA.

## 4.2 Efeito da Suplementação entre os Grupos, Pré e Pós Suplementação

O peso (g), o IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) e a força de apreensão palmar (kgf) foram comparados entre os grupos pré e pós-suplementação empregando ANOVA dois fatores com medidas repetidas.

Não foram detectadas diferenças significantes entre os grupos, em relação ao peso, IMC e força de apreensão palmar, pré e pós-suplementação (Tabela 5, Gráficos de 1, 2 e 3).

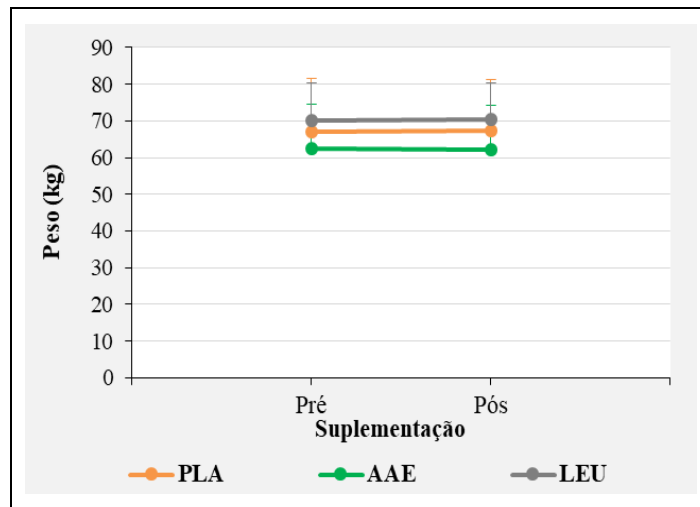
**Tabela 5 - Média e desvio padrão do peso (kg), IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) e força de apreensão palmar (kgf) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**

	PLA (n=19)	AAE (n=16)	LEU (n=23)
PESO Pré (kg)	67,1±14,4	62,4±12,0	70,1±10,1
PESO Pós (kg)	67,4±13,8	62,2±12,2	70,4±10,0
IMC Pré ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	27,5±4,5	26,2±4,1	28,4±4,6
IMC Pós ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	27,6±4,3	26,1±4,3	28,6±4,6
Força Pré (kgf)	18,8±7,4	20,4±7,7	21,6±9,4
Força Pós (kgf)	20,2±7,4	20,2±8,8	21,5±10,5

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado, PESO Pré=peso mensurado antes da suplementação, expresso em quilogramas (kg), PESO Pós=peso mensurado após da suplementação, expresso em quilogramas (kg), IMC Pré=índice de massa corporal antes da suplementação, expresso em quilograma ao metro quadrado da altura do voluntário ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), IMC PÓS=índice de massa corpórea após a suplementação, expresso em quilograma ao metro quadrado da altura do voluntário ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), Força Pré=força de apreensão palmar antes da suplementação, expresso em quilograma força (kgf) e Força Pós=força de apreensão palmar após a suplementação, expresso em quilograma força (kgf).



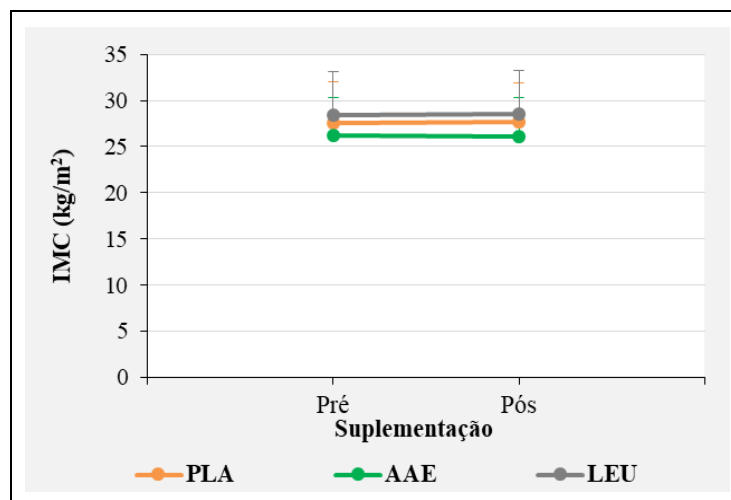
**Gráfico 1 - Média e desvio padrão do peso (kg) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,55)}=1,299$ ,  $p=0,281$ ; Grupo,  $F_{(2,55)}=2,071$ ,  $p=0,136$ ; Suplementação,  $F_{(1,55)}=0,613$ ,  $p=0,437$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

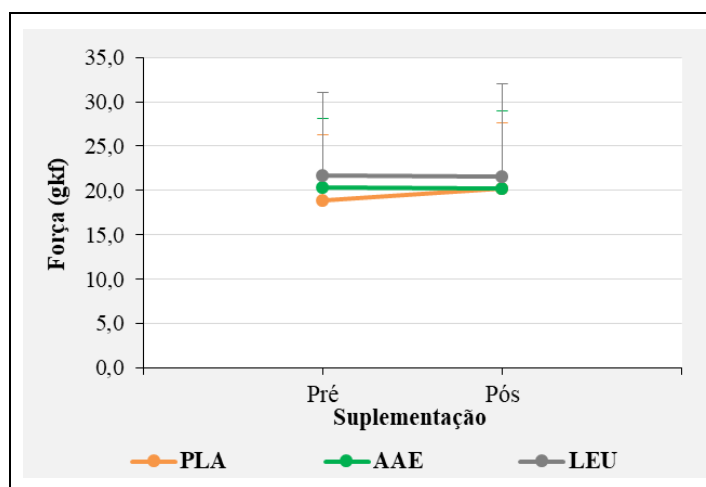
**Gráfico 2 - Média e desvio padrão do IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,55)}=1,369$ ,  $p=0,263$ ; Grupo,  $F_{(1,55)}=1,388$ ,  $p=0,258$ ; Suplementação,  $F_{(1,55)}=0,707$ ,  $p=0,404$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

**Gráfico 3 - Média e desvio padrão da força de apreensão palmar (kgf) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,55)}=0,735$ ,  $p=0,484$ ; Suplementação,  $F_{(1,55)}=0,345$ ,  $p=0,559$ ; Grupo,  $F_{(2,55)}=0,320$ ,  $p=0,727$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

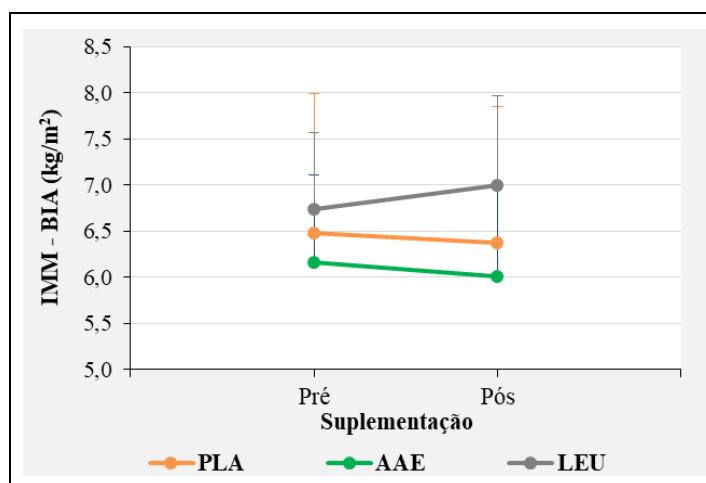
Em relação ao IMM BIA, os grupos AAE e LEU apresentaram diferença significativa tanto na pré quanto na pós-suplementação ( $p<0,05$ ). Os grupos LEU e PLA apresentaram diferença significativa apenas na pós-suplementação ( $p<0,05$ ) (Tabela 6 e Gráfico 4).

**Tabela 6 - Média e desvio padrão do IMM BIA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**

	PLA (n=15)	AAE (n=14)	LEU (n=20)
IMM BIA Pré ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	6,5±1,5	6,2±1,0	6,7±0,8
IMM BIA Pós ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	6,4±1,5	6,0±1,0	7,0±1,0

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários, IMM BIA Pré=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de bioimpedância expresso em quilograma de peso da massa muscular total por metro ao quadrado da altura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), dentro de cada grupo suplementado, antes da suplementação e IMM BIA Pós=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de bioimpedância expresso em quilograma de peso da massa muscular total por metro ao quadrado da altura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), dentro de cada grupo suplementado, após a suplementação.

**Gráfico 4 - Média e desvio padrão do IMM BIA (kg/m<sup>2</sup>) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,46)}=3,266$ ,  $p=0,047$  (Bonferroni: Pré, LEU≠AAE; Pós, LEU≠AAE e LEU≠PLA;  $p<0,05$ ).

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

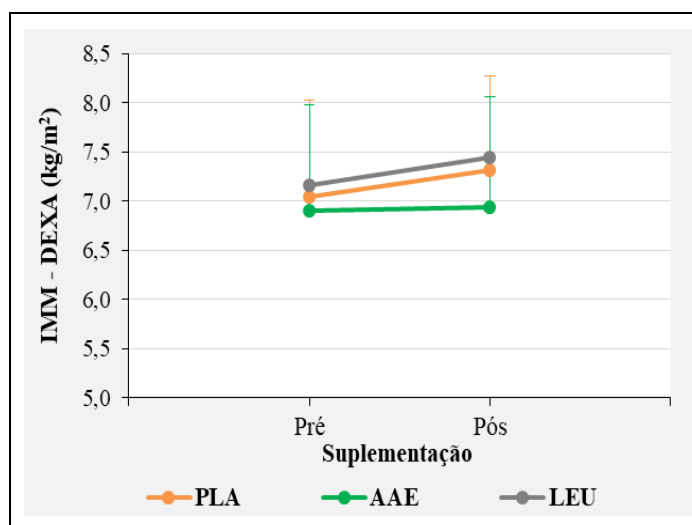
Na pré-suplementação, o grupo LEU apresentou maior IMM DEXA quando comparado ao grupo AAE ( $p<0,05$ ), porém não foram detectadas diferenças significantes de ambos com o grupo PLA. Na pós-suplementação, o grupo LEU também apresentou diferença significativa quando comparado ao AAE ( $p<0,05$ ) e AAE apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo PLA ( $p<0,05$ ). Nos grupos LEU e PLA, foi detectada diferença significativa entre pós e pré-suplementação ( $p<0,05$ ) (Tabela 7 e Gráfico 5).

**Tabela 7 - Média e desvio padrão do IMM DEXA (kg/m<sup>2</sup>) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**

	PLA (n=10)	AAE (n=9)	LEU (n=11)
IMM DEXA Pré (kg/m <sup>2</sup> )	7,0±1,0	7,0±1,1	7,2±0,7
IMM DEXA Pós (kg/m <sup>2</sup> )	7,3±1,0	7,0±1,1	7,4±0,7

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários, IMM DEXA Pré=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de densitometria óssea expresso em quilograma de peso da massa muscular apendicular por metro ao quadrado da altura (kg/m<sup>2</sup>), dentro de cada grupo suplementado, antes da suplementação e IMM DEXA Pós=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de densitometria óssea expresso em quilograma de peso da massa muscular apendicular por metro ao quadrado da altura (kg/m<sup>2</sup>), dentro de cada grupo suplementado, após a suplementação.

**Gráfico 5 - Média e desvio padrão do IMM DEXA (kg/m<sup>2</sup>) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,27)}=5,715$ ,  $p=0,009$  (Bonferroni: Pré, Leucina $\neq$ Aminovital; Pós, Leucina $\neq$ Aminovital e Aminovital $\neq$ Placebo; Leucina-Pós $\neq$ Leucina-Pré e Placebo-Pós $\neq$ Placebo-Pré;  $p<0,05$ ).

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

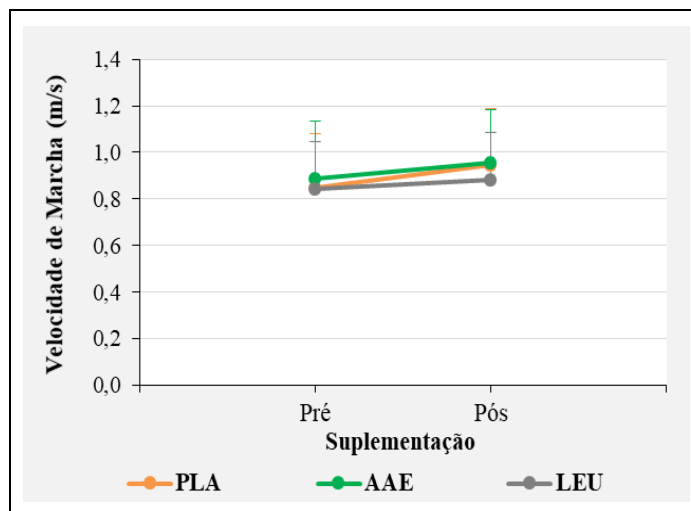
Os grupos apresentaram o mesmo comportamento em relação a velocidade de marcha quando submetidos às suplementações ( $p=0,651$ ). Houve diferença significativa pós-suplementação, independente do grupo ( $p=0,002$ ). Não foi detectada diferença significativa entre os grupos ( $p=0,694$ ) (Tabela 8 e Gráfico 6).

**Tabela 8 - Média e desvio padrão da velocidade de marcha (m/s) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**

	PLA (n=18)	AAE (n=16)	LEU (n=23)
Velocidade de Marcha Pré (m/s)	0,8 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2
Velocidade de Marcha Pós (m/s)	0,9 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado, Velocidade de Marcha Pré=velocidade de marcha em 4 metros antes da suplementação dentro de cada grupo suplementado, expresso em metros por segundo (m/s) e Velocidade de Marcha Pós=velocidade de marcha em 4 metros após a suplementação dentro de cada grupo suplementado, expresso em metros por segundo (m/s).

**Gráfico 6 - Média e desvio padrão da velocidade de marcha (m/s) dos grupos PLA, AAE e LEU, pré e pós-suplementação**



ANOVA: Grupo x Suplementação,  $F_{(2,54)}=0,651$ ,  $p=0,526$ ; Suplementação,  $F_{(1,54)}=11,022$ ,  $p=0,002$  (Pós $\neq$ Pré, independente do Grupo); Grupo,  $F_{(2,54)}=0,367$ ,  $p=0,694$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

### 4.3 Efeito da Suplementação na Variação Pós-Pré

A variação, pós-pré, da proteína ingerida (g), das calorias ingeridas (kcal), do balanço nitrogenado (g) e da circunferência da panturrilha (cm) entre os grupos foi analisada empregando-se Kruskal-Wallis.

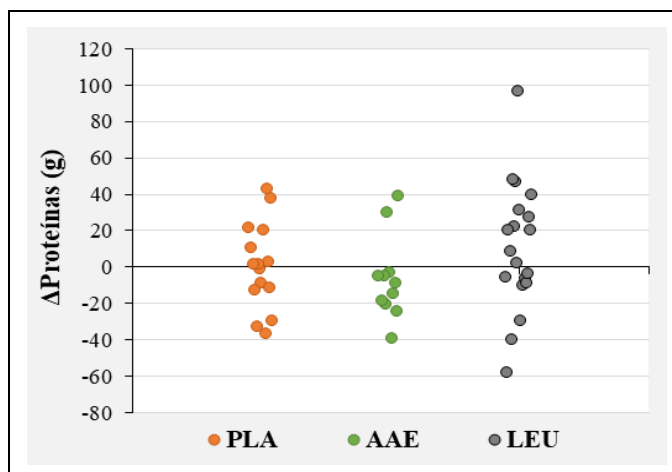
Em relação à variação do total de calorias ingeridas e, também, às proteínas advindas da dieta, calculadas pelo recordatório 24 horas após a suplementação, não foi detectada diferença significativa entre os grupos,  $p=0,970$  e  $p=0,246$ , respectivamente (Tabela 9 e Gráficos 7 e 8).

**Tabela 9 - Média e desvio padrão da variação de proteínas (g) e de energia (kcal) dos grupos PLA, AAE e LEU**

	PLA (n=15)	AAE (n=11)	LEU (n=19)
Δ Proteínas (g)	0,5±23,8	-6,4±22,8	10,6±35,4
Δ Energia (kcal)	-2,5±518,8	-70,1±365,7	-32,0±480,7

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado, Δ Proteínas=variação pós e pré-suplementação da média das proteínas ingeridas obtidas nos dois recordatórios aplicados, expresso em gramas (g), Δ Energia=variação pós e pré-suplementação da média das calorias ingeridas obtidas nos dois recordatórios alimentares aplicados, expresso em quilocalorias (kcal).

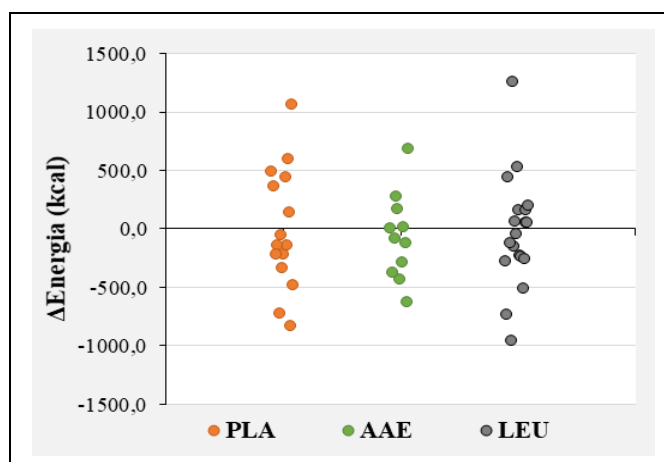
**Gráfico 7 - Variação da ingesta proteica (g) nos grupos PLA, AAE e LEU**



Kruskal-Wallis:  $H(2)=2,808$ ,  $p=0,246$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

**Gráfico 8 - Variação da ingesta calórica (kcal) nos grupos PLA, AAE e LEU**



Kruskal-Wallis,  $p=0,970$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

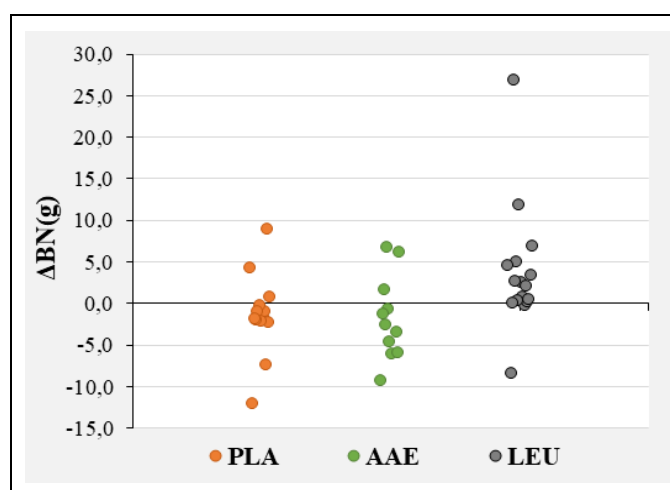
Para a variação do BN (g), foi detectada diferença significativa entre os grupos ( $p=0,006$ ). O grupo LEU apresentou maior variação de BN quando comparado aos grupos AAE e PLA ( $p<0,05$ ) (Tabela 10 e Gráfico 9).

**Tabela 10 - Média e desvio padrão da variação do balanço nitrogenado (g) dos grupos PLA, AAE e LEU**

	PLA (n=14)	AAE (n=11)	LEU (n=16)
$\Delta$ BN (g)	-1,3 $\pm$ 4,8	-1,7 $\pm$ 5,0	3,7 $\pm$ 7,5

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado,  $\Delta$  BN=variação pós e pré-suplementação do balanço nitrogenado, expresso em gramas (g).

**Gráfico 9 - Variação do balanço nitrogenado (g) nos grupos PLA, AAE e LEU**



Kruskal-Wallis:  $H_{(2)}=10,151$ ,  $p=0,006$  (Dunn's test,  $LEU \neq AAE$  e  $LEU \neq PLA$ ,  $p<0,05$ ).

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

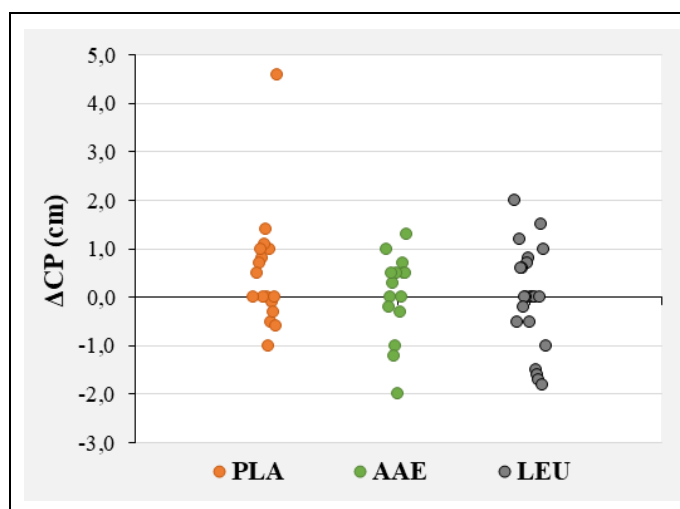
Em relação à variação da circunferência da panturrilha, não foi detectada diferença significativa entre os grupos PLA, AAE e LEU ( $p=0,599$ ) (Tabela 11 e Gráfico 10).

**Tabela 11 - Média e desvio padrão da variação da circunferência da panturrilha (cm) dos grupos PLA, AAE e LEU**

	PLA (n=17)	AAE (n=15)	LEU (n=22)
$\Delta$ CP (cm)	0,51 $\pm$ 1,25	0,04 $\pm$ 0,88	-0,02 $\pm$ 1,04

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, n=número de voluntários por grupo suplementado,  $\Delta$  CP=variação da circunferência da panturrilha expresso em centímetros (cm), dentro de cada grupo suplementado, antes e após a suplementação.

**Gráfico 10 - Variação da circunferência da panturrilha (cm) nos grupos PLA, AAE e LEU**



Kruskal-Wallis:  $H_{(2)}=1,026$ ,  $p=0,599$ .

PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina.

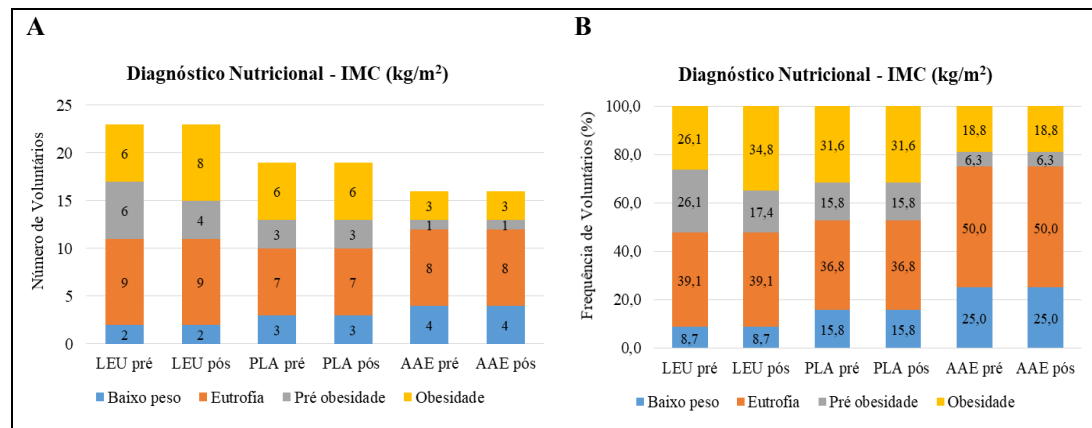
#### 4.4 Classificação dos Voluntários por Diagnóstico Nutricional, Muscular, Dietético e do Estado Proteico

##### 4.4.1 Diagnóstico nutricional

Os três grupos avaliados não mostraram comportamento diverso, tanto pré quanto pós-suplementação, sendo a maioria eutrófica pré-suplementação e assim se manteve no pós-estudo. O único grupo que apresentou variação entre pós e pré-suplementação foi o grupo LEU, com aumento do número de voluntários obesos e diminuição do número de voluntários pré-obesos, os demais se mantiveram estáveis (Gráfico 11).



**Gráfico 11 - Número e porcentagem de voluntários por diagnóstico nutricional pela avaliação do IMC (kg/m<sup>2</sup>), nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**

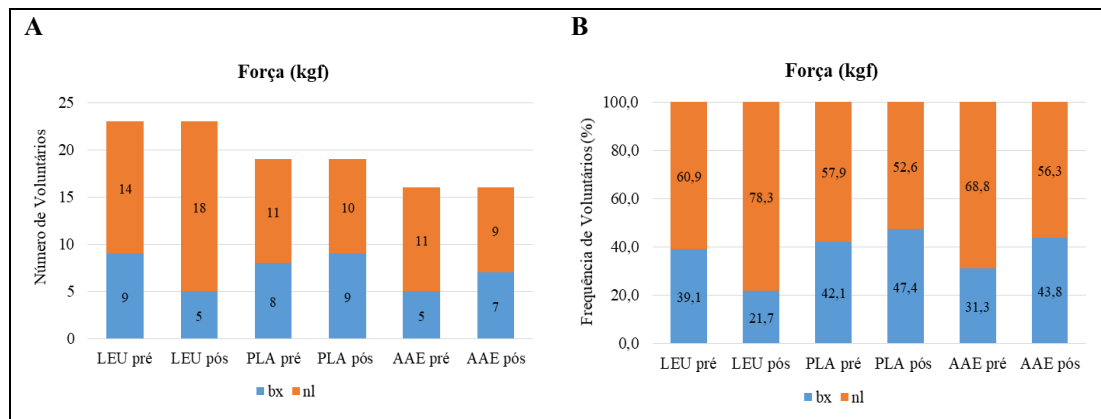


PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, IMC=índice de massa corporal, expresso em quilograma ao metro quadrado da altura do voluntário (kg/m<sup>2</sup>), pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

#### 4.4.2 Parâmetros musculares

Dentre os três grupos estudados, o único que obteve aumento do número de voluntários com *status* de apreensão palmar baixa passando para normal, foi o grupo LEU. Nos outros demais ocorreu o inverso, com diminuição do número de voluntários com apreensão palmar normal que passaram para o *status* de apreensão baixo (Gráfico 12).

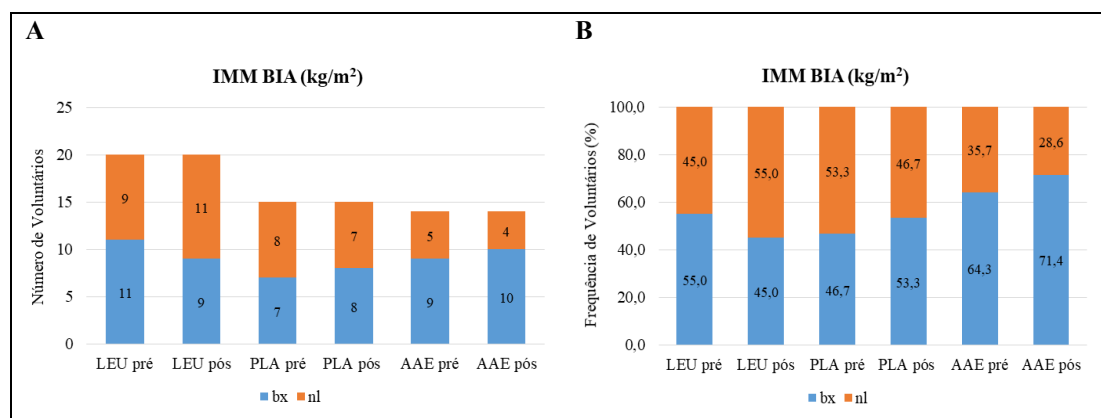
**Gráfico 12 - Número e porcentagem de voluntários por *status* de apreensão palmar (kgf) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, força=força de apreensão palmar, expresso em força (kgf), pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação. bx=baixo, nl=normal. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

O mesmo fenômeno ocorreu com o IMM BIA, em que somente no grupo LEU houve aumento no número de voluntários com valores tidos como normais, sendo que nos outros dois grupos estudados houve uma diminuição do número de voluntários do *status* normal que passaram para valores abaixo dos *cut-off points* estipulados (Gráfico 13).

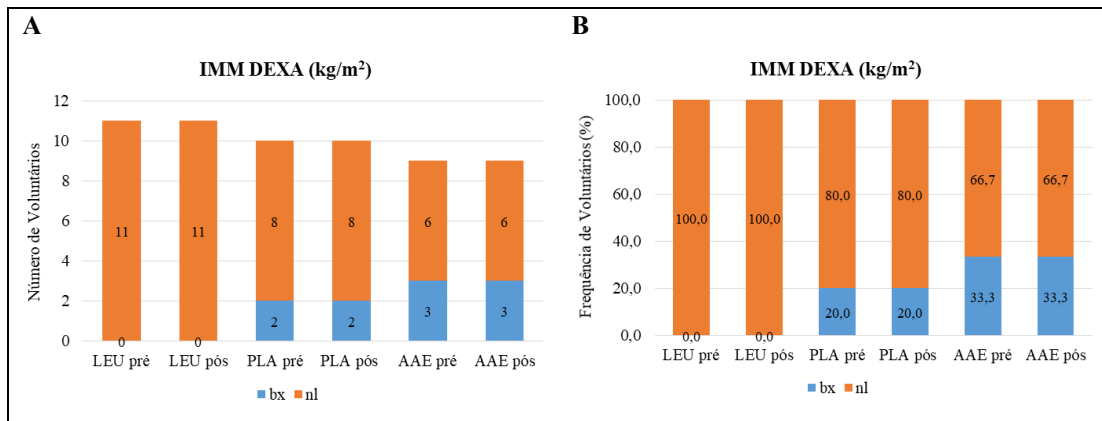
**Gráfico 13 - Número e porcentagem de voluntários por *status* de IMM BIA (kg/m<sup>2</sup>) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, IMM BIA=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de bioimpedância e expresso em quilograma de peso da massa muscular total por metro ao quadrado da altura (kg/m<sup>2</sup>), pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação. bx=baixo, nl=normal. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Em relação ao IMM DEXA, não houve mudança do número de voluntários entre os *status* normal e baixo para os três grupos (Gráfico 14).

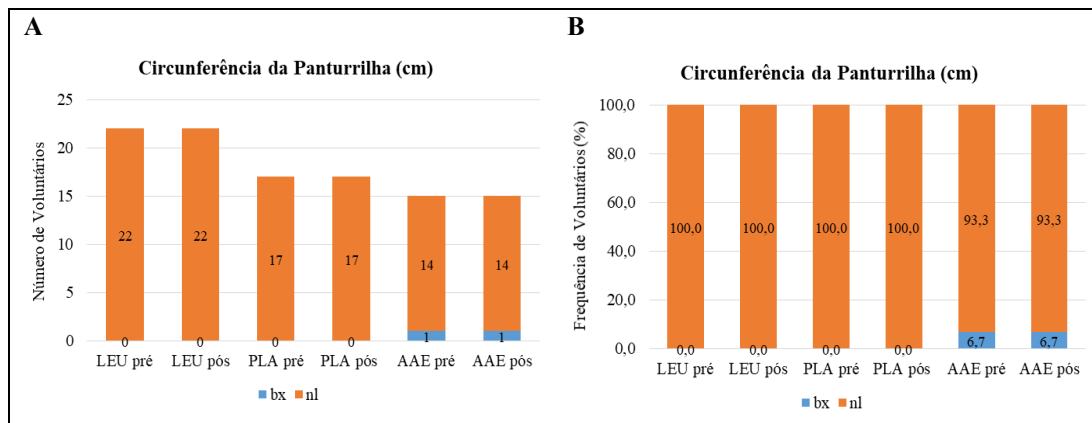
**Gráfico 14 - Número e porcentagem de voluntários por *status* de IMM DEXA ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, IMM DEXA=índice de massa muscular obtido pelo aparelho de densitometria óssea e expresso em quilograma de peso da massa muscular total por metro ao quadrado da altura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação. bx=baixo, nl=normal. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Para a circunferência de panturrilha, também não houve mudança do número de voluntários entre os *status* normal e baixo para os três grupos, ao longo do estudo (Gráfico 15).

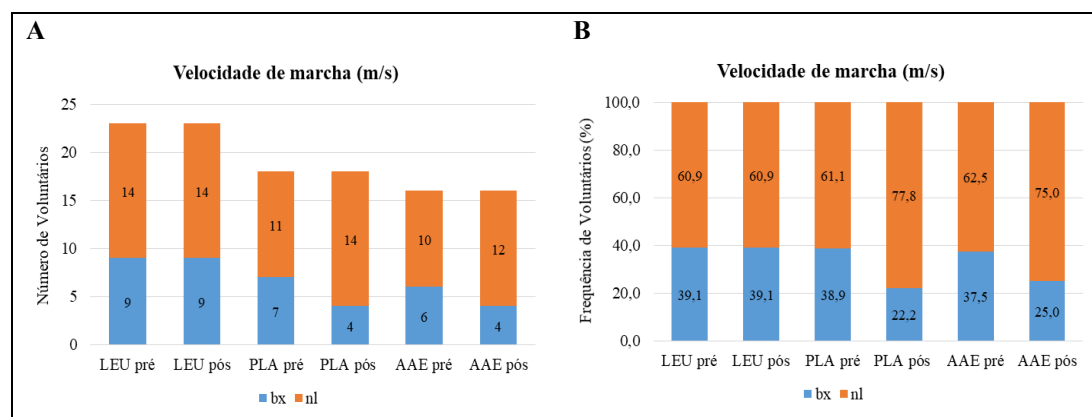
**Gráfico 15 - Número e porcentagem de voluntários por *status* de circunferência da panturrilha (cm) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação. bx=baixo, nl=normal. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Em relação à velocidade de marcha, no grupo LEU não houve mudança do número de voluntários em situação de velocidade normal e velocidade baixa entre pós e pré, já nos outros dois grupos houve aumento do número de voluntários na situação normal e diminuição do número de voluntários na situação baixa da pós em relação à pré-suplementação (Gráfico 16).

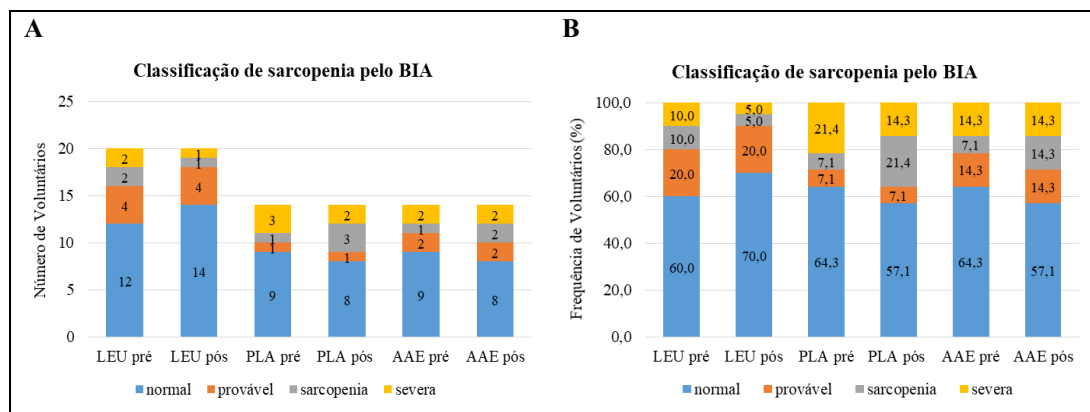
**Gráfico 16 - Número e porcentagem de voluntários por *status* de velocidade de marcha (m/s) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, bx=baixo, nl=normal. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Na classificação de sarcopenia, utilizando-se os critérios do EWGSOP2 (Consenso Europeu de Sarcopenia, atualizado em 2018), com o uso do aparelho de bioimpedância na avaliação da massa muscular, no grupo LEU pós-suplementação houve um aumento do número de voluntários classificados como normais, manutenção dos voluntários prováveis sarcopênicos e diminuição dos sarcopênicos e sarcopênicos severos. Nos demais grupos houve diminuição do número de voluntários normais e manutenção dos prováveis sarcopênicos, sendo que no grupo PLA houve aumento dos sarcopênicos e diminuição dos sarcopênicos severos, já no grupo AAE houve aumento do número de sarcopênicos e manutenção dos severos (Gráfico 17).

**Gráfico 17 - Número e porcentagem de voluntários por classificação de sarcopenia pelos parâmetros do EWGSOP2 com o uso do aparelho de bioimpedância na avaliação da massa muscular nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**

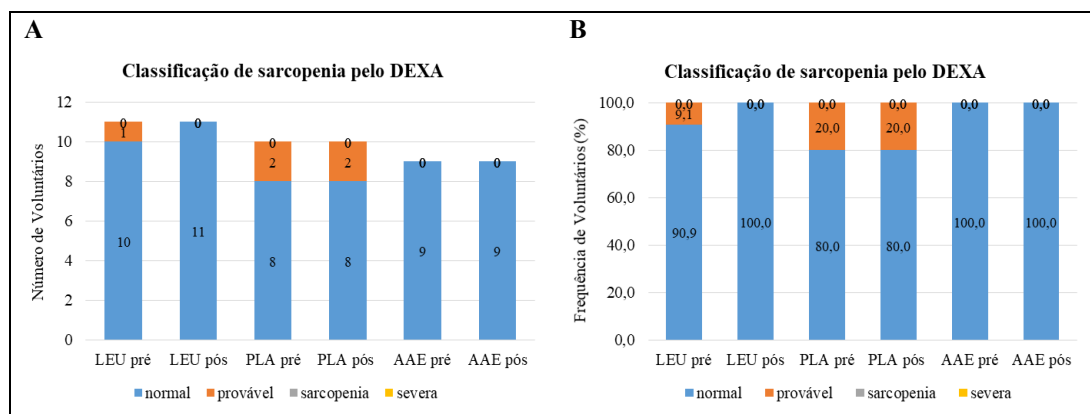


PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, normal=não sarcopênicos, provável=provável sarcopenia, com exclusivamente diminuição da força muscular, sarcopenia=diminuição da força e massa muscular, severa=sarcopenia severa, com diminuição da força, massa e velocidade de marcha . A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Na classificação de sarcopenia, utilizando-se os critérios do EWGSOP2 com o uso do aparelho de densitometria óssea na avaliação da massa muscular, no grupo LEU pós-suplementação, houve um aumento do número de voluntários classificados

como normais, nos demais grupos não houve mudança do número de voluntários nas diferentes classificações de sarcopenia pós-suplementação (Gráfico 18).

**Gráfico 18 - Número e porcentagem de voluntários por classificação de sarcopenia pelos parâmetros do EWGSOP2 com o uso do aparelho de densitometria óssea na avaliação da massa muscular nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**

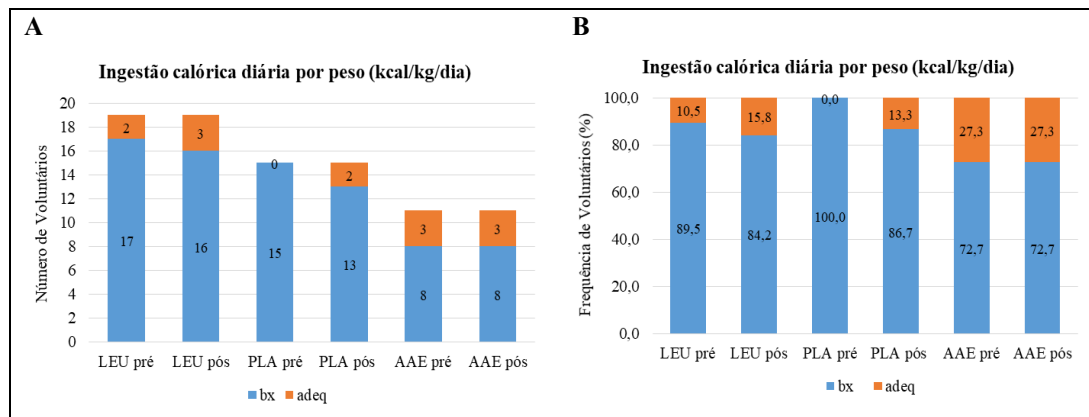


PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, normal=não sarcopênico, provável=provável sarcopenia, com exclusivamente diminuição da força muscular, sarcopenia=diminuição da força e massa muscular, severa=sarcopenia severa, com diminuição da força, massa e velocidade de marcha. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

#### 4.4.3 Avaliação dietética

A classificação da ingestão calórica diária por peso, pós-suplementação, melhorou nos grupos LEU e PLA e se manteve estável no grupo AAE. Ressalta-se que em todos os grupos a maioria dos voluntários (>70%) manteve-se no *status* baixo de ingestão calórica diária por peso corporal (Gráfico 19).

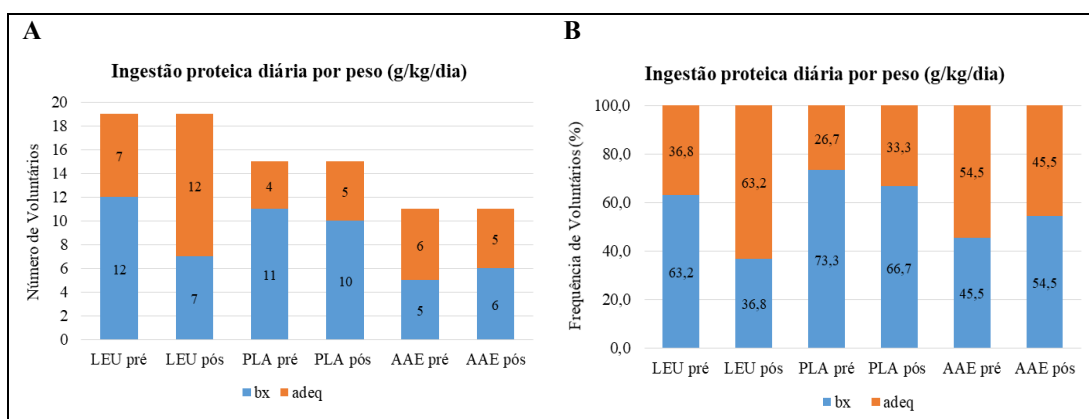
**Gráfico 19 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão calórica diária por peso corporal (kcal/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, bx=baixa, adeq=adequado. A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

O número de voluntários dos grupos LEU e PLA com ingesta proteica diária por peso corporal adequada também aumentou no pós-suplementação, porém no grupo AAE ocorreu o inverso (Gráfico 20).

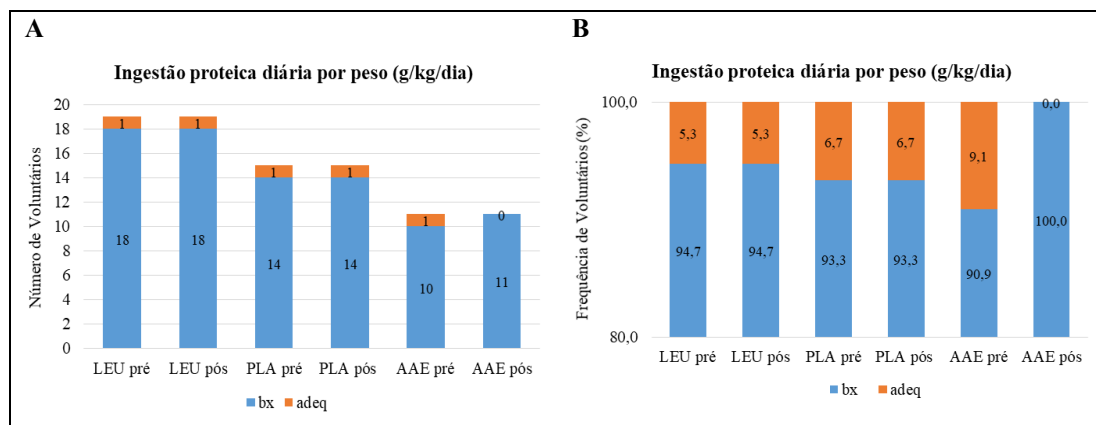
**Gráfico 20 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão proteica diária por peso corporal (g/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, bx=baixa (ingestão proteica diária por quilograma de peso corporal  $\leq 1$ g/kg/dia), adeq=adequado (ingestão proteica diária por quilograma de peso corporal  $> 1$ g/kg/dia). A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

Considerando-se o valor de 1,5 g/kg/dia como *cut-off point* da ingestão proteica diária por peso corporal em relação ao *cut-off point* de 1,0g/kg/dia, há diminuição do número de voluntários com classificação adequada em todos os grupos. Em relação a pós-suplementação, no grupo AAE houve diminuição do número de voluntários com ingestão proteica diária por peso corporal adequada enquanto nos demais grupos manteve-se o número de voluntários com classificação adequada (Gráfico 21).

**Gráfico 21 - Número e porcentagem de voluntários por adequação da ingestão proteica diária por peso corporal (g/kg) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



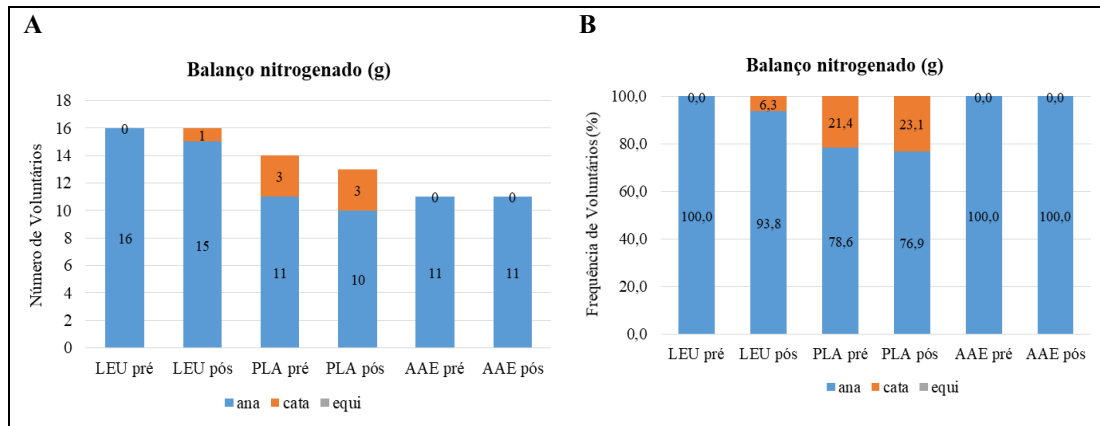
PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, bx=baixa (ingestão proteica diária por quilograma de peso corporal $\leq$ 1,5g/kg/dia), adeq=adequado (ingestão proteica diária por quilograma de peso corporal $>$ 1,5g/kg/dia). A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

#### 4.4.4 Avaliação do estado proteico

O número de integrantes com estado anabólico passando para o catabólico, ao longo do estudo, no grupo LEU foi de zero para um, enquanto no grupo PLA permaneceu em três e no AAE foi de zero pré e pós-suplementação (Gráfico 22).



**Gráfico 22 - Número e porcentagem de voluntários por avaliação do balanço nitrogenado (g) nos grupos LEU, PLA e AAE, pré e pós-suplementação**



PLA=grupo placebo, AAE=grupo mistura de aminoácidos essenciais e LEU=grupo leucina, pré=antes da suplementação e pós=após a suplementação, ana=anabolismo (BN>0), cata=catabolismo (BN<0), equi=equilíbrio (BN=0). A=valores expressos em frequência absoluta, B=valores expressos em frequência relativa.

## **5 DISCUSSÃO**

Por representar um suplemento seguro (doses tóxicas em animais equivalentes a dez vezes a dose recomendada) e bem tolerado, já utilizado em diversos países, para ambos os sexos, jovens, adultos ou idosos, doentes agudos, crônicos ou em estado crítico, sedentários, ativos ou atletas, em utilização aguda ou crônica, em combinação com outras substâncias ou como agente isolado, não beneficiando o crescimento tumoral (Cruz *et al.*, 2016; Viana *et al.*, 2016) e mostrando efeitos locais como diminuição da perda de massa magra na caquexia e sistêmicos com diminuição de alguns marcadores da perda muscular, a leucina, frente a estudos animais e em humanos, é uma substância que se torna elegível para estudo em diferentes estados da fisiopatologia humana. Assim, pode ser investigada quanto à sua efetividade na manutenção de massa magra na sarcopenia associada ao processo de envelhecimento. Foi de interesse para o presente estudo examinar o efeito da suplementação na alteração da força, massa e função muscular em voluntários idosos hígidos ou com sarcopenia associada ao envelhecimento, descrita por vários autores (Nissen *et al.*, 2000; Vukovich *et al.*, 2001; Baxter *et al.*, 2005; Molfino *et al.*, 2013; Wilson *et al.*, 2013; Fitschen *et al.*, 2013; Fuller *et al.*, 2014; Manjarrez-Montes-de-Oca, 2015b). Para evitar crescimento tumoral em função da suplementação, apesar de outros estudos não mostrarem tal efeito, não foram incluídos doentes com câncer (Gomes-Marcondes *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2004; Choudry *et al.*, 2006; Peters *et al.*, 2011).

Trabalho de Abe *et al.* (2015) mostrou aumento significativo em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ) na força de apreensão palmar e na velocidade de marcha ( $p < 0,05$ ), em voluntários adultos que receberam 1,2 g de leucina, 20 mcg de vitamina D e 6 g de triglicérides de cadeia média por 3 meses.

Bauer *et al.* (2015) em estudo multicêntrico, randomizado, duplo cego, controlado com 380 voluntários sarcopênicos primários, identificaram que o grupo que recebeu diariamente por 13 semanas a mistura de 3 g de leucina e 800 UI de vitamina D em relação ao grupo controle obteve melhora no teste do levantar da cadeira ( $p = 0,018$ ) e ganho no IMM DEXA ( $p = 0,045$ ).

Borsheim *et al.* (2008) por sua vez notaram em idosos, o aumento da força dos membros inferiores ( $p < 0,001$ ), do IMM DEXA ( $p = 0,038$ ) e da velocidade de marcha ( $p = 0,002$ ), após suplementação diária de mistura de aminoácidos com 3,95 g de LEU, por período de 4 meses.

Katsanos *et al.* (2016) identificaram em idosos, o aumento da síntese fracional proteica muscular ( $p < 0,05$ ), após a infusão de 2,4 g de leucina marcada.

Rondanelli *et al.* (2016) fizeram com que 130 sarcopênicos primários participassem de um programa de atividades físicas por 12 semanas, em estudo randomizado, duplo cego, controlado com placebo; parte deles recebeu concomitantemente uma mistura de 4 g de leucina e 100 UI de vitamina D, a outra parte placebo. O grupo estudo teve aumento da força de apreensão palmar ( $p = 0,001$ ) e do IMM DEXA ( $p < 0,001$ ).

Verhoeven *et al.* (2018) por sua vez suplementaram idosos com doses diárias de 7,5 g de leucina durante 3 meses, sem encontrar diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) tanto para força quanto para o IMM DEXA em relação ao grupo controle.

Na ausência de um consenso de doses e duração de tratamento para se obter alterações musculares de função e massa, optou-se neste trabalho por uma dose que fosse maior que a maioria já estudada, no intuito de verificar se os resultados apareceriam após período de estudo mais curto do que os já realizados (Katsanos *et al.*, 2006, Borsheim *et al.*, 2008, Verhoeven *et al.*, 2009, Abe *et al.*, 2016, Bauer *et al.*, 2015, Rondanelli *et al.*, 2016).

Como já citado anteriormente, os três grupos estudados não apresentavam diferenças estatisticamente significantes entre si quanto a gênero, idade, estatura, peso e IMC, antes do estudo mostrando que os três grupos eram comparáveis. A avaliação específica do IMC não mostrou diferença estatisticamente significativa entre a pós e pré-suplementação quanto aos valores intra grupo e entre os três grupos estudados, nem entre a variação entre os grupos, isto pois não ocorreram alterações significantes nos pesos dos voluntários e a altura se manteve estável.

A força de apreensão palmar não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, pré e pós-suplementação.

O mesmo fenômeno acima descrito também ocorreu para a velocidade de marcha, entre os grupos em relação a pós-suplementação, porém com uma diferença estatisticamente significativa intra grupo. A velocidade de marcha está associada a saúde e habilidade funcional entre os idosos. É normalmente medida em testes que avaliam a capacidade de caminhar de 4 a 400 metros. É indicador importante do estado clínico, bem-estar e *status* funcional no idoso e quando baixa (<0,8 m/s) é preditor de pobre desfecho clínico, incluindo quedas, hospitalização e internalização, incapacidade funcional e maior mortalidade (Anton *et al.*, 2015; Hortobágyi *et al.*, 2015; Maggio *et al.*, 2016). Não é certo que uma rotina de exercícios físicos aplicada

com o objetivo específico de melhorar a velocidade de marcha possa modificá-la no ritmo habitual ou rápido do caminhar do idoso (Hortobágyi *et al.*, 2015), assim descartando-se qualquer mudança de rotina de atividades físicas, a hipótese para a melhora de velocidade de marcha em todos os grupos, sem diferença entre eles, é que os voluntários estavam mais familiarizados com o teste na segunda avaliação, não se mostrando tão receosos em fazê-lo como na primeira vez, antes da suplementação, sem se descartar também a possibilidade de ser um falso positivo. Além disso o método de análise foi o manual e não com acelerômetro, como muitos estudos indicam, podendo ocasionar erros (Maggio *et al.*, 2016).

Dentre os parâmetros usados no estudo e já consagrados na avaliação massa muscular (Akune *et al.*, 2014) e preconizados pelo EWGSOP2, o único que mostrou alguma variação em relação ao PLA na pós-suplementação, foi o IMM BIA.

A BIA é um método não invasivo e validado na análise da composição corporal, apresentando rápida execução, fácil uso e de baixo custo. Avalia a impedância oferecida pelo corpo humano a passagem de uma corrente elétrica alternada de baixa intensidade a uma frequência fixa. A capacidade de condução é dependente da quantidade de água e eletrólitos presentes no tecido, obtém-se assim a possibilidade de calcular a massa muscular, rica nestes componentes, porém é altamente influenciável pelo estado de hidratação, presença de edema, temperatura ambiente e alterações do fluxo sanguíneo decorrentes a atividade física e ingestão alimentar (Janssen *et al.*, 2000; Rubbieri *et al.*, 2014). O IMM BIA do grupo LEU, antes da suplementação foi igual ao PLA e diferente do AAE. O PLA era igual ao AAE. Após o período de suplementação, o grupo LEU mostrou-se diferente também do PLA. O grupo LEU mostrou perfil diferente em relação aos demais.

Outra alternativa na análise da massa muscular e consequente obtenção do IMM DEXA é a DEXA, considerada um método confiável, altamente reprodutível, de baixo custo e alta acurácia na análise da massa magra e muscular, com vantagens sobre aqueles tidos como padrão ouro, a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância nuclear magnética (RNM), que são mais caros e no caso do primeiro, expõe o analisado a maior carga de radiação (Trutschnigg *et al.*, 2008; Guglielmi *et al.*, 2016; Peppia *et al.*, 2017). Apresenta alta correlação com a RNM ( $r=0,95$ ). O princípio físico em que se baseia é o da transmissão diferencial de raio X nos tecidos corporais de densidade e espessura diferentes, conseguindo identificar três tipos distintos, o tecido gorduroso, a massa magra e o tecido ósseo. O estado de hidratação e alterações do fluxo sanguíneo regional como no exercício podem levar a imprecisões (Guglielmi *et al.*, 2016). Os valores do IMM DEXA obtidos no estudo corroboram os resultados da BIA, apesar do PLA não ter se diferenciado do grupo LEU, ele diferiu do grupo AAE no pós em relação à pré-suplementação.

A avaliação densitométrica ocorreu somente para parte da amostra estudada, e apesar da menor casuística, como é um método mais confiável que a BIA, seus resultados devem ser observados com atenção. Os resultados advindos da BIA, apesar da menor acurácia, foram obtidos através de uma casuística maior e seguem um *Rationale Biologico*.

Vários foram os pesquisadores que mensuraram a CP, e apesar de ser método consagrado, houve variação de resultados na pós-suplementação em relação ao pré que não se justificam, frente a suplementação, assim devem ser observados e avaliados criteriosamente.

Na classificação de sarcopenia, usando-se o aparelho de BIA na avaliação da massa muscular, a presença de voluntários em estágios mais avançados de sarcopenia, em relação aos identificados pelo aparelho de DEXA, mesmo com uma casuística maior, deve ser considerada com ressalvas, pois pode-se tratar de resultados falso positivos.

O BN é tido como marcador do metabolismo proteico, apesar de não ser o método mais fidedigno. Ele correlaciona o aporte e excreção proteicos mostrando anabolismo ou catabolismo (Dickerson, 2015).

O estudo mostrou uma variação estatisticamente significativa do BN do grupo LEU em relação ao grupo AAE e ao grupo PLA.

Há três hipóteses para ter ocorrido variação positiva do BN do grupo LEU, estatisticamente diferente dos demais (Dickerson *et al.*, 2015). Primeira hipótese, antes da suplementação, o grupo LEU como um todo, não ingeria quantidade suficiente de proteínas. Durante o estudo começou a ingerir quantidade adequada, assim o balanço mudou. Para a verificação desta hipótese deve-se avaliar a ingestão de proteína ou calorias. Segunda hipótese, ocorreu um aumento de síntese proteica com a intervenção realizada nos 28 dias do estudo, portanto o grupo passou a reter mais proteína na média, e a leucina sabidamente leva a este efeito (Bennet *et al.*, 1989; Katsanos *et al.*, 2006; Barillaro *et al.*, 2013). Terceira hipótese, ocorreu diminuição do estado catabólico proteico em virtude da suplementação. O grupo de voluntários que apesar de idosos, mostrava baixa porcentagem de sarcopênicos e não apresentavam nenhum voluntário com estado catabólico associado, durante todo o estudo. A variação da ingestão de proteína não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Também não ocorreu variação significativa do consumo de calorias entre os grupos. Assim a hipótese número um não se sustenta, e como não



há nenhum estado catabólico significativo, provavelmente a terceira também não. A diferença na variação do BN provavelmente se deve ao efeito anabólico da LEU, estimulando a síntese proteica.

Outro aspecto a ser levado em consideração é que no idoso ocorrem múltiplos fatores desencadeando o quadro de resistência anabólica após a ingestão proteica, da síntese proteica muscular, entretanto estes fatores podem ser suplantados com a ingestão aumentada de proteínas, proteínas de alto valor biológico ou uso de suplementos como a leucina e HMB (Cuthbertson *et al.*, 2004; Katsanos *et al.*, 2006; Koopman *et al.*, 2006 e 2009; Burd *et al.*, 2013; Deutz *et al.*, 2016). A dose diária de 0,8 g/kg/dia é tida como a quantidade necessária na prevenção de déficits nos adultos, independentemente da idade (Paddon-Jones, 2014). Quando se pensa em indivíduos idosos sem comorbidades, esta quantidade sobe para 1,0 g/kg/dia (Volkert *et al.*, 2019). Vários estudos recentes citam que para se ter uma variação da massa muscular ou mesmo mudanças mínimas no balanço nitrogenado em idosos, a ingestão proteica deve ser maior que 1,5 g/kg/dia (Paddon-Jones, 2014; Dickerson *et al.*, 2015; Dickerson, 2016). Em todos os grupos avaliados, tanto pré quanto pós-suplementação, a maioria dos voluntários encontrava-se com ingestão proteica abaixo de 1,5 g/kg/dia. A variação da ingestão de proteína entre os grupos não mostrou diferença estatisticamente significativa. Assim mesmo sem um aporte proteico adequado e sem diferenças entre os grupos, a grupo LEU apresentou BN diferente, estatisticamente dos demais, que se justificaria pela sua ação anabólica intrínseca.

## **6 CONCLUSÕES**

a) As suplementações com 6 g diários de LEU ou de 6 g diários de AAE com 2 g de LEU, foram incapazes de alterar a força de apreensão palmar e a função muscular dada pela velocidade de marcha, em relação ao grupo PLA, porém o grupo LEU promoveu na pós-suplementação diferença estatisticamente significativa na massa muscular ( $p < 0,05$ ), quando avaliada pela bioimpedância, em relação aos demais grupos.

b) O esquema terapêutico utilizado no estudo foi incapaz de determinar diferença estatisticamente significativa do IMC dos grupos estudados, em relação ao grupo PLA na pós-suplementação, apesar do aumento de voluntários obesos no grupo LEU.

c) Na classificação de sarcopenia utilizando-se os critérios do EWGSOP2, com o uso da BIA, somente no grupo LEU ocorreu aumento do número de voluntários não sarcopênicos, com diminuição de sarcopênicos e sarcopênicos severos. Nos outros dois grupos ocorreu o inverso, em graus variados. Em todos os grupos o número de prováveis sarcopênicos se manteve estável. Na mesma classificação com o uso do aparelho de DEXA na avaliação da massa muscular, no grupo LEU pós-suplementação, houve um aumento do número de voluntários normais, nos demais grupos não houve mudança do número de voluntários nos diferentes *status* na pós em relação a pré-suplementação. Voluntários sarcopênicos e sarcopênicos severos não apareceram nesta classificação. Mesmo a casuística

avaliada pelo aparelho de DEXA sendo menor que o de BIA, o primeiro é considerado como método mais adequado nesta análise, assim pode-se inferir que a presença de estágios mais avançados de sarcopenia detectados pelo aparelho de BIA, nesta casuística, pode estar relacionada a algum erro.

d) O valor do IMM BIA estatisticamente diferente dos demais grupos no pós-suplementação pode representar efeito anabólico do grupo LEU, pois mais de 90% dos voluntários apresentavam ingestão proteica menor que 1,5 g/kg/dia, valor a partir do qual espera-se ter variações positivas do BN em idosos, e não houve diferença estatisticamente significativa entre a variação da ingestão calórico proteica pós-suplementação entre os grupos, mesmo assim identificou-se variação estatisticamente significativa do BN do grupo LEU em relação aos demais, na pós-suplementação.

e) Consequentemente a ingestão de 6 g de leucina deve exercer efeitos anabólicos e talvez de variação de força e velocidade de marcha, de forma significativa caso se estenda o período de administração do suplemento.

**7 ANEXO**

**Anexo A - Randomização**

1. Supplement A \_\_\_\_\_
2. Supplement C \_\_\_\_\_
3. Supplement B \_\_\_\_\_
4. Supplement A \_\_\_\_\_
5. Supplement B \_\_\_\_\_
6. Supplement C \_\_\_\_\_
7. Supplement B \_\_\_\_\_
8. Supplement C \_\_\_\_\_
9. Supplement B \_\_\_\_\_
10. Supplement C \_\_\_\_\_
11. Supplement A \_\_\_\_\_
12. Supplement A \_\_\_\_\_
13. Supplement A \_\_\_\_\_
14. Supplement B \_\_\_\_\_
15. Supplement C \_\_\_\_\_
16. Supplement C \_\_\_\_\_
17. Supplement B \_\_\_\_\_
18. Supplement A \_\_\_\_\_
19. Supplement C \_\_\_\_\_
20. Supplement B \_\_\_\_\_
21. Supplement A \_\_\_\_\_
22. Supplement A \_\_\_\_\_
23. Supplement C \_\_\_\_\_
24. Supplement B \_\_\_\_\_
25. Supplement B \_\_\_\_\_
26. Supplement A \_\_\_\_\_
27. Supplement C \_\_\_\_\_
28. Supplement B \_\_\_\_\_
29. Supplement C \_\_\_\_\_
30. Supplement A \_\_\_\_\_
31. Supplement A \_\_\_\_\_
32. Supplement A \_\_\_\_\_
33. Supplement B \_\_\_\_\_
34. Supplement C \_\_\_\_\_
35. Supplement B \_\_\_\_\_
36. Supplement C \_\_\_\_\_
37. Supplement C \_\_\_\_\_
38. Supplement B \_\_\_\_\_
39. Supplement A \_\_\_\_\_
40. Supplement A \_\_\_\_\_
41. Supplement C \_\_\_\_\_
42. Supplement B \_\_\_\_\_

43. Supplement A \_\_\_\_\_
44. Supplement B \_\_\_\_\_
45. Supplement C \_\_\_\_\_
46. Supplement A \_\_\_\_\_
47. Supplement C \_\_\_\_\_
48. Supplement B \_\_\_\_\_
49. Supplement A \_\_\_\_\_
50. Supplement B \_\_\_\_\_
51. Supplement C \_\_\_\_\_
52. Supplement B \_\_\_\_\_
53. Supplement C \_\_\_\_\_
54. Supplement A \_\_\_\_\_
55. Supplement C \_\_\_\_\_
56. Supplement C \_\_\_\_\_
57. Supplement A \_\_\_\_\_
58. Supplement B \_\_\_\_\_
59. Supplement B \_\_\_\_\_
60. Supplement A \_\_\_\_\_

60 subjects randomized into blocks of

3 3 6 3 6 3 6 6 3 3 3 3 6 6

To reproduce this plan, use the seed 27340

along with the number of subjects per block/number of blocks  
and (case-sensitive) treatment labels as entered originally.

Randomization plan created on 3/5/2018, 7:32:27 PM

## **8 REFERÊNCIAS**



Abe S, Ezaki O, Suzuki M. Medium-chain triglycerides in combination with leucine and vitamin D increase muscle strength and function in frail elderly adults in a randomized controlled trial. *J Nutr*. 2016;146(5):1017-26.

Akune T, Muraki S, Oka H, Tanaka S, Kawaguchi H, Tokimura F, Yoshida H, Suzuki T, Nakamura K, Yoshimura N. Incidence of certified need of care in the long-term care insurance system and its risk factors in the elderly of Japanese population-based cohorts: the Road study. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;14(3):695-701.

Alley DE, Shardell MD, Peters KW, McLean RR, Dam TT, Kenny AM, Fragala MS, Harris TB, Kiel DP, Guralnik JM, Ferrucci L, Kritchevsky SB, Studenski SA, Vassileva MT, Cawthon PM. Grip strength cutpoints for the identification of clinically relevant weakness. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(5):559-66.

Anton SD, Woods AJ, Ashizawa T, Barb D, Buford TW, Carter CS, Clark DJ, Cohen RA, Corbett DB, Cruz-Almeida Y, Dotson V, Ebner N, Efron PA, Fillingim RB, Foster TC, Gundermann DM, Joseph AM, Karabetian C, Leeuwenburgh C, Manini TM, Marsiske M, Mankowski RT, Mutchie HL, Perri MG, Ranka S, Rashidi P, Sandesara B, Scarpace PJ, Sibille KT, Solberg LM, Someya S, Uphold C, Wohlgemuth S, Wu SS, Pahor M. Successful aging: Advancing the science of physical independence in older adults. *Ageing Res Rev*. 2015;24(Pt B):304-27.

- Argilés JM, Busquets S, Stemmler B, López-Soriano FJ. Cachexia and sarcopenia: mechanisms and potential targets for intervention. *Curr Opin Pharmacol*. 2015;22:100-6.
- Bahat G, Ilhan B. Sarcopenia and the cardiometabolic syndrome: a narrative review. *Eur Geriatr Med*. 2016;6:220-3.
- Baptista IL, Silva WJ, Artioli GG, Guilherme JP, Leal ML, Aoki MS, Miyabara EH, Moriscot AS. Leucine and HMB differentially modulate proteasome system in skeletal muscle under different sarcopenic conditions. *PLoS One*. 2013;8(10):e76752.
- Barillaro C, Liperoti R, Martone AM, Onder G, Landi F. The new metabolic treatments for sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*. 2013;25(2):119-27.
- Bauer JM, Kaiser MJ, Sieber CC. Sarcopenia in Nursing Home Residents. *J Am Dir Assoc*. 2008;9(8):545-51.
- Bauer JM, Verlaan S, Bautmans I, Brandt K, Donini LM, Maggio M, McMurdo ME, Mets T, Seal C, Wijers SL, Ceda GP, De Vito G, Donders G, Drey M, Greig C, Holmbäck U, Narici M, McPhee J, Poggiogalle E, Power D, Scafoglieri A, Schultz R, Sieber CC, Cederholm T. Effects of a vitamin D and leucine-enriched whey protein nutritional supplement on measures of sarcopenia in older adults, the PROVIDE study: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Med Dir Assoc*. 2015;16(9):740-7.
- Baumgartner RN, Waters DL. Sarcopenia and sarcopenic-obesity. In: Pathy MSJ, Sinclair AJ, Morley JE, eds. *Principles and practise of geriatric medicine*. 4th ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.; 2006. p.909-34.

- Baxter JH, Carlos JL, Thurmond J, Rehani RN, Bultman J, Frost D. Dietary toxicity of calcium b-hydroxy-b-methyl butyrate (CaHMB). *Food Chem Toxicol.* 2005;43(12):1731-41.
- Beudart C, McCloskey E, Bruyere O, Cesari M, Rolland Y, Rizzoli R, Araujo de Carvalho I, Amuthavalli Thiyagarajan J, Bautmans I, Bertière MC, Brandi ML, Al-Daghri NM, Burlet N, Cavalier E, Cerreta F, Cherubini A, Fielding R, Gielen E, Landi F, Petermans J, Reginster JY, Visser M, Kanis J, Cooper C. Sarcopenia in daily practice: assessment and management. *BMC Geriatr.* 2016;16(1):170.
- Beudart C, Reginster JY, Petermans J, Gillian S, Quabron A, Locquet M, Slomian J, Buckinx F, Bruyère O. Quality of life and physical components linked to sarcopenia: The SarcoPhAge study. *Exp Gerontol.* 2015;69:103-10.
- Bennet WM, Connacher AA, Scrimgeour CM, Smith K, Rennie MJ. Increase in anterior tibialis muscle protein synthesis in healthy man during mixed amino acid infusion: studies of incorporation of [1-13C]leucine. *Clin Sci (Lond).* 1989;76(4):447-54.
- Bifari F, Nisoli E. Branched-chain amino acids differently modulate catabolic and anabolic states in mammals: a pharmacological point of view. *Br J Pharmacol.* 2017;174(11):1366-77.
- Biolo G, Cederholm T, Muscaritoli M. Muscle contractile and metabolic dysfunction is a common feature of sarcopenia of aging and chronic diseases: from sarcopenic obesity to cachexia. *Clin Nutr.* 2014;33(8):737-48.
- Bone AE, Hepgul N, Kon S, Maddocks M. Sarcopenia and frailty in chronic respiratory disease. *Chron Respir Dis.* 2017;14(1):85-99.

Borsheim E, Bui QU, Tissier S, Kobayashi H, Ferrando AA, Wolfe RR. Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly. *Clin Nutr.* 2008;27:189-95.

Buckinx F, Landi F, Cesari M, Fielding RA, Visser M, Engelke K, Maggi S, Dennison E, Al-Daghri NM, Allepaerts S, Bauer J, Bautmans I, Brandi ML, Bruyère O, Cederholm T, Cerreta F, Cherubini A, Cooper C, Cruz-Jentoft A, McCloskey E, Dawson-Hughes B, Kaufman JM, Laslop A, Petermans J, Reginster JY, Rizzoli R, Robinson S, Rolland Y, Rueda R, Vellas B, Kanis JA. Pitfalls in the measurement of muscle mass: a need for a reference standard. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2018;9(2):269-78.

Burd NA, Gorissen SH, van Loon LJC. Anabolic resistance of muscle protein synthesis with aging. *Exerc Sport Sci Rev.* 2013;41(3):169-73.

Burton LA, Sumukadas D. Optimal management of sarcopenia. *Clin Interv Aging.* 2010;5:217-28.

Canteri AL, Gusmon LB, Zanini AC, Nagano FE, Rabito EI, Petterle RR, Jonasson TH, Boguszewski CL, Borba VZC. Sarcopenia in heart failure with reduced ejection fraction. *Am J Cardiovasc Dis.* 2019;9(6):116-26.

Caperauto EC, Tomatieli RV, Colquhoun A, Seelaender MCL, Rosa LFBPC. Beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation affects Walker 256 tumor-bearing rats in a time-dependent manner. *Clin Nutr.* 2007;26(1):117-22.

Cawthon PM, Fox KM, Gandra SR, Delmonico MJ, Chiou CF, Anthony MS, Sewall A, Goodpaster B, Satterfield S, Cummings SR, Harris TB. Do muscle mass, muscle density, strength, and physical similarly influence risk of hospitalization in older adults? *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(8):1411-9.

Cesari M, Kritchevsky SB, Newman AB, Simonsick EM, Harris TB, Penninx BW, Brach JS, Tylavsky FA, Satterfield S, Bauer DC, Rubin SM, Visser M, Pahor M. Added value of physical performance measures in predicting adverse health-related events: results from the Health, Aging And Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(2):251-9.

Chang KV, Hsu TH, Wu WT, Huang KC, Han DS. Association between sarcopenia and cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Dir Assoc.* 2016;17(12):1164.e7-64.e15.

Chevalier S, Winter A. Do patients with advanced cancer have any potential for protein anabolism in response to amino acid therapy? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2014;17(3):213-8.

Choudry HA, Pan M, Karinch AM, Souba WW. Branched-chain amino acid-enriched nutritional in surgical and cancer patients. *J Nutr.* 2006;136(1 Suppl):314S-8S.

Cooper R, Kuh D, Hardy R. Objectively measured physical capability levels and mortality: systemic review and meta-analysis. *BMJ.* 2010;341:c4467.

Cruz BLG, Silva PC, Tomasin R, Oliveira AG, Viana LR, Salomão EM, Gomes-Marcondes MCC. Dietary leucine supplementation minimises tumor-induced damage in placental tissues of pregnant, tumor-bearing rats. *Cancer.* 2016;16:58-71.

Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinková E, Vandewoude M, Zamboni M. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010;39(4):412-23.

Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, Cooper C, Landi F, Rolland Y, Sayer AA, Schneider SM, Sieber CC, Topinkova E, Vandewoude M, Visser M, Zamboni M. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Aging*. 2019;48(4):16-31.

Cuthbertson D, Smith K, Babraj J, Leese G, Waddell T, Atherton P, Wackerhage H, Taylor PM, Rennie MJ. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *FASEB J*. 2005;19(3):422-4.

Da Costa JP, Vitorino R, Silva GM, Vogel C, Duarte AC, Rocha-Santos T. A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Res Rev*. 2016;29:90-112.

De Magalhães JP. *An educational and information resource on the science of aging*. Senescence, UK: 2013 [internet]. 2013 [acesso: 2020 jan 5]. Disponível em [senescence.info](http://senescence.info).

Deutz NE, Matheson EM, Matarese E, Luo M, Baggs GE, Nelson JL, Hegazi RA, Tappenden A, Ziegler TR. NOURISH Study Group. Readmission and mortality in malnourished, older, hospitalized adults treated with a specialized oral nutritional supplement: A randomized clinical trial. *Clin Nutr*. 2016;35:18-26.

- Dickerson RN, Maish GO 3rd, Croce MA, Minard G, Brown RO. Influence of aging on nitrogen accretion during critical illness. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015;39(3):282-90.
- Dickerson RN. Assessing nitrogen balance in older patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015;39(7):759-60.
- Dickerson RN. Nitrogen balance and protein requirements for critically ill older patients. *Nutrients.* 2016;8(4):226-40.
- Dos Santos L, Cyrino ES, Antunes M, Santos DA, Sardinha LB. Sarcopenia and physical independence in older adults: the independent and synergic role of muscle mass and muscle function. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(2):245-50.
- Eley HL, Russel ST, Baxter JH, Mukerji P, Tisdale MJ. Signaling pathways initiated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis in skeletal muscle in response to cachectic stimuli. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(4):E923-E931.
- Fisberg RM, Marchioni DML, Previdelli AN, Carvalho AM de, Mendes A, Timm A de S, Gorgulho BM, Verly Junior E, Steluti J, Brunacio KH, Piovezan LG, Castro MA de, Bigio RS, Selem SS'A de C, Baltar VT. Manual de avaliação do consumo alimentar em estudos populacionais: a experiência do inquérito de saúde em São Paulo (ISA) [Internet]. 2012 [acesso 2019 dez 15]. Disponível em: <http://colecoes.sibi.usp.br/fsp/items/show/2419>.

Fitschen PJ, Wilson GJ, Wilson JM, Wilund KR. Efficacy of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in elderly and clinical populations. *Nutrition*. 2013;29(1):29-36.

Fuller Jr JC, Arp LH, Diehl LM, Landin KL, Baier SM, Rathmacher JA. Subchronic toxicity study of beta-hydroxy-beta-methylbutyric free acid in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*. 2014;67:145-53.

Gomes-Marcondes MCC, Ventrucchi G, Toledo MT, Cury L, Cooper JC. A leucine-supplemented diet improved protein content of skeletal muscle in young tumor-bearing rats. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(11):1589-94.

Gonzalez MC, Heymsfield SB. Bioelectrical impedance analysis for diagnosing sarcopenia and cachexia: what are we really estimating? *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017;8(2):187-9.

Goodpaster B, Won Park S, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, Simonsick EM, Tylavsky FA, Visser M, Newman AB. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: The Health, Aging and Body Composition /study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61(10):1059-64.

Guglielmi G, Ponti F, Agostini M, Amadori M, Battista G, Bazzocchi A. The role of DXA in sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*. 2016;28(6):1047-60.

Guralnik JM, Ferrucci L, Pieper CF, Leveille SG, Markides KS, Ostir GV, Studenski S, Berkman LF, Wallace RB. Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2000;55(4):M221-31.



Ham DJ, Caldwor MK, Lynch GS, Koopman R. Leucine as treatment for muscle wasting: a critical review. *Clin Nutr.* 2014;33(6):937-45.

Holecek M, Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(4):529-41.

Hortobágyi T, Lesinski M, Gäbler M, VanSwearingen JM, Malatesta D, Granacher U. Effects of three types of exercise interventions on healthy old adults' gait speed: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2015;45:1627-43.

Hull H, He Q, Thornton J, Javed F, Allen L, Wang J, Pierson RN Jr, Gallagher D. iDXA, Prodigy, and DPXL dual-energy X-ray absorptiometry whole-body scans: a crosscalibration study. *J Clin Densitom.* 2009;12:95-102.

Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R (2004) The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52(1):80-5.

Jones CJ, Rikli RE, Beam WC. A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. *Res Q Exerc Sport.* 1999;70(2):113-9.

Kasymjanova G, Correa JA, Kreisman H, Dajczman E, Pepe C, Dobson S, Lajeunesse L, Sharma R, Small D. Prognostic value of the six minute walk in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2009;4(5):602-7.

Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A, Wolf RR. 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.* 2006; 291: E381-7.

Keevil VL, Romero-Ortuno R. Ageing weel: a review of sarcopenia and frailty. *Proc Nutr Soc.* 2015;74:337-47.

Kilgour RD, Vigano A, Trutschnigg B, Lucar E, Borod M, Morais JA. Handgrip strength predicts survival and is associated with markers of clinical and functional outcomes in advanced cancer patients. *Support Care Cancer.* 2013(12);21:3261-70.

Kim J, Khamoui AV, Jo E, Park BS, Lee WJ. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate as a countermeasure for cancer cachexia: a cellular and molecular rationale. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13(8):1188-96.

Kim KM, Jang HC, Lim S. Differences among skeletal muscle mass indices derived from height-, weight-, and body mass index-adjusted models in assessing sarcopenia. *Korean J Intern Med.* 2016;31(4):643-50.

Kirkwood TB. Systems biology of ageing and longevity. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci.* 2011;366(1561):64-70.

Kolterman OG, Insel J, Saekow M, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in human obesity. Evidence for receptor and postreceptor defects. *J Clin Invest.* 1980;65(2):1272-84.

Komar B, Schwingshacki L, Hoffmann G. Effects of leucine-rich protein supplements on anthropometric parameter and muscle strength in the elderly: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Health Aging.* 2015;19(4):437-46.

Koopman R, Verdijk L, Mander, RJ, Gijsen AP, Gorselink M, Pijpers E, Wagenmakers, AJ, van Loon LJ. Co-ingestion of protein and leucine stimulates muscle protein synthesis rates to the same extent in young and elderly lean men. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(3):623-32.

Koopman R, Walrand S, Beelen M, Gijsen AP, Kies AK, Boirie Y, Saris WH, van Loon LJ. Dietary protein digestion and absorption rates and the subsequent postprandial muscle protein synthetic response do not differ between young and elderly men. *J Nutr.* 2009;139(9):1707-13.

Landi F, Onder G, Russo A, Liperoti R, Tosato M, Martone AM, Capoluongo E, Bernabei R. Calf circumference, frailty and physical performance among older adults living in the community. *Clin Nutr.* 2014;33(3):539-44.

Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee YI, Thompson W, Kirkland JL, Sandri M. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev.* 2019;99(1):427-511.

Lauretani F, Russo CR, Bandinelli S, Bratali B, Cavazzini C, Di Iorio A, Corsi AM, Rantanen T, Guralnik JM, Ferrucci L. Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. *J Appl Physiol.* 2003;95(5):1851-60.

Lee JS, Auyeung TW, Kwok T, Lau EM, Leung PC, Woo J. Associated factors and health impact of sarcopenia in older Chinese men and women: a cross-sectional study. *Gerontology.* 2007;53(6):404-10.

Leong DP, Teo KK, Rangarajan S, Lopez-Jaramillo P, Avezum A Jr, Orlandini A, Seron P, Ahmed SH, Rosengren A, Kelishadi R, Rahman O, Swaminathan S, Iqbal R, Gupta R, Lear SA, Oguz A, Yusoff K, Zatonska K, Chifamba J, Igumbor E, Mohan V, Anjana RM, Gu H, Li W, Yusuf S. Prognostic value of grip strength: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *Lancet*. 2015;386(9990):266-73.

Liberman K, Njemini R, Luiking Y, Forti LN, Verlaan S, Bauer JM, Memelink R, Brandt K, Donini LM, Maggio M, Mets T, Wijers SLJ, Sieber C, Cederholm T, Bautmans I. Thirteen weeks of supplementation of vitamin D and leucine-enriched whey protein nutritional supplement attenuates chronic low-grade inflammation in sarcopenic older adults: the PROVIDE study. *Aging Clin Exp Res*. 2019;31(6):845-54.

Liu KA, Lashinger LM, Rasmussen AJ, Hursting SD. Leucine supplementation differentially enhances pancreatic cancer growth in lean and overweight mice. *Cancer Metab*. 2014;2(1):6-17.

Louard RJ, Barrett EJ, Gelfand RA. Effect of infused branched-chain amino acids on muscle and whole-body amino acid metabolism in man. *Clin Sci*. 1990;79(5):457-66.

Maggio M, Ceda GP, Ticinesi A, De Vita F, Gelmini G, Costantino C, Meschi T, Kressig RW, Cesari M, Fabi M, Lauretani F. Instrumental and Non-Instrumental Evaluation of 4-Meter Walking Speed in Older Individuals. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153583.

Manjarrez-Montes-de-Oca R, Torres-Vaca M, González-Gallego J, Alvear-Ordenes I. El  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilbutirato (HMB) como suplemento nutricional (I): metabolismo y toxicidad. *Nutr Hosp*. 2015a;31(2):590-6.

Manjarrez-Montes-de-Oca R, Torres-Vaca M, González-Gallego J, Alvear-Ordenes I. El  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilbutirato (HMB) como suplemento nutricional (II): mecanismos de acción. *Nutr Hosp*. 2015b;31(2):597-605.

Martin L, Birdsell L, Macdonald N, Reiman T, Clandinin MT, McCargar LJ, Murphy R, Ghosh S, Sawyer MB, Baracos VE. Cancer cachexia in the age of obesity: skeletal muscle depletion is a powerful prognostic factor, independent of body mass index. *J Clin Oncol*. 2013;31(12):1539-47.

Masanés F, Rojano ILX, Salva A, Serra-Rexach JA, Artaza I, Formiga F, Cuesta F, López Soto A, Ruiz D, Cruz-Jentoft AJ. Cut-off points for muscle mass-not grip strength or gait speed-determine variations in sarcopenia prevalence. *J Nutr Health Aging*. 2017;21(7):825-9.

Mckee A, Morley JE, Matsumoto AM, Vinik A. Sarcopenia: An endocrine disorder? *Endocr Pract*. 2017;23(9):1140-9.

Mijnarends DM, Luiking YC, Halfens RJG, Evers SMAA, Lenaerts ELA, Wallace M, Schols JMGA, Meijers JMM. Muscle, health and costs: a glance at their relationship. *J Nutr Health Aging*. 2018;22(6):766-73.

Mirza KA, Pereira SL, Voss AC, Tisdale MJ. Comparison of the anticatabolic effects of leucine and Ca- $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate in experimental models of cancer cachexia. *Nutrition*. 2014;30(7-8):807-13.

Molfino A, Gioia G, Fanelli FR, Muscaritoli M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in health and disease: a systematic review of randomized trials. *Amino Acids*. 2013;45():1273-92.

Morley JE, Anker SD, von Haehling S. Prevalence, incidence, and clinical impact of sarcopenia: Facts, numbers, and epidemiology-update. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2014a;5(4):253-9.

Morley JE, von Haehling S, Anker SD, Vellas B. From sarcopenia to frailty: A road less traveled. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2014b;5(1):5-8.

Morley JE. Frailty and sarcopenia: The new geriatric giants. *Rev Invest Clin*. 2016;68(2):59-67.

Nair KS, Schwartz RG, Welle S. Leucine as a regulator of whole body and skeletal muscle protein metabolism in humans. *Am J Physiol*. 1992;263(5 Pt 1):E928-34.

Nissen S, Sharp RL, Panton L, Vukocic M, Trappe S, Fuller Jr JC. Beta-Hydroxy-beta-Methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J Nutr*. 2000;130(8):1937-45.

Nunes EA, Kuczera D, Brito GAP, Bonatto SJR, Yamazaki RK, Tanhoffer A, Mund RC, Kryczyk M, Fernandes LC.  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate supplementation reduces tumor growth and tumor cell proliferation ex vivo and prevents cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats by modifying nuclear factor- $\kappa$ B expression. *Nutr Res*. 2008;28(7):487-93.

Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). XXXVI Reunión del Comitê Asesor de Investigaciones en Salud - Encuesta Multicêntrica - Salud Bienestar y Envejecimiento (SABE) en América Latina e el Caribe. Informe preliminar, 2001. [internet]. [acesso: 2020 fev 5]. Disponível em:<http://envejecimiento.csic.es/documentos/documentos/paho-salud-01.pdf>.

Paddon-Jones D, Leidy H. Dietary protein and muscle in older persons. Ageing: biology and nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2014;17(1):5-11.

Peppas M, Stefanaki C, Papaefstathiou A, Boschiero D, Dimitriadis G, Chrousos GP. Bioimpedance analysis vs. DEXA as a screening tool for osteosarcopenia in lean, overweight and obese Caucasian postmenopausal females. *Hormones (Athens)*. 2017;16(2):181-93.

Peters SJ, Van Helvoort A, Kegler D, Argilès JM, Luiking YC, Laviano A, van Bergenhenegouwen J, Deutz NEP, Haagsman HP, Gorselink M, van Norren K. Dose-dependent effects of leucine supplementation on preservation of muscle mass in cancer cachectic mice. *Oncol Rep*. 2011;26(1):247-54.

Peterson SJ, Braunschweig CA. Prevalence of sarcopenia and associated outcomes in the clinical setting. *Nutr Clin Pract*. 2016;31(1):40-8.

Prado CM, Baracos VE, McCargar LJ, Mourtzakis M, Mulder KE, Reiman T, Butts CA, Scarfe AG, Sawyer MB. Body composition as an independent determinant of 5-fluorouracil-based chemotherapy toxicity. *Clin Cancer Res*. 2007;13(11):3264-8.

Rantanen T, Avlund K, Suominen H, Schroll M, Frändin K, Pertti E. Muscle strength as a predictor of onset of ADL dependence in people aged 75 years. *Aging Clin Exp Res*. 2002;14(3 Suppl):10-5.

Rasmussen B, Gilbert E, Turki A, Madden K, Elango R. Determination of safety of leucine supplementation in healthy elderly men. *Amino Acids*. 2006;48(7):1707-16.

Reisinger KW, van Vugt JL, Tegels JJ, Snijders C, Hulsewé KW, Hoofwijk AG, Stoot JH, Von Meyenfeldt MF, Beets GL, Derikx JP, Poeze M. Functional compromise reflected by sarcopenia, frailty, and nutritional depletion predicts adverse postoperative outcome after colorectal cancer surgery. *Ann Surg.* 2015;261(2):345-52.

Reiss J, Iglseider B, Kreutzer M, Weilbuchner I, Treschnitzer W, Kässmann H, Pirich C, Reiter R. Case finding for sarcopenia in geriatric inpatients: performance of bioimpedance analysis in comparison to dual X-ray absorptiometry. *BMC Geriatr.* 2016;16:52.

Rennie MJ, Bohé J, Smith K, Wackerhage H, Greenhaff P. Branched-Chain Amino Acids as Fuels and Anabolic Signals in Human Muscle. *J Nutr.* 2006;136(1Supl):264S-8S.

Rizzoli R, Reginster JY, Arnal JF, Bautmans I, Beudart C, Bischoff-Ferrari H, Biver E, Boonen S, Brandi ML, Chines A, Cooper C, Epstein S, Fielding RA, Goodpaster B, Kanis JA, Kaufman JM, Laslop A, Malafarina V, Manãs LR, Mitlak BH, Oreffo RO, Petermans J, Reid K, Rolland Y, Sayer AA, Tsouderos Y, Visser M, Bruyère O. Quality of life in sarcopenia and frailty. *Calc Tissue Int.* 2013;93(2):101-20.

Robinson SM, Reginster JY, Rizzoli R, Schaw SC, Kanis JA, Bautmans I, Bischoff-Ferrari H, Bruyère O, Cesari M, Dawson-Hughes B, Fielding RA, Kaufman JM, Landi F, Malafarina V, Rolland Y, van Loon LJ, Vellas B, Visser M, Cooper C. Does nutrition play a role in the prevention and management of sarcopenia? *Clin Nutr.* 2018;37(4):1121-32.



Rolland Y, Pillard F. Validated treatments and therapeutic perspectives regarding physical activities. *J Nutr Health Aging*. 2009;13(8):742-5.

Román E, Torrades MT, Nadal MJ, Cárdenas G, Camilo Nieto J, Vidal S, Bascunana H, Juárez C, Guarner C, Córdoba J, Soriano G. Randomized pilot study: effects of an Exercise programme and leucine supplementation in patients with cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2014;59(8):1966-75.

Rondanelli M, Klersy C, Terracol G, Talluri J, Maugeri R, Guido D, Faliva MA, Solerte BS, Fioravanti M, Lukaski H, Perna S. Whey protein, amino acids, and vitamin D supplementation with physical activity increases fat-free mass and strength, functionality, and quality of life and decreases inflammation in sarcopenic elderly. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(3):830-40.

Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr*. 1997;127(5 Suppl):990S-1S.

Rossi AP, Fantin F, Micciolo R, Bertocchi M, Bertassello P, Zanandrea V, Zivelonghi A, Bissoli L, Zamboni M. Identifying sarcopenia in acute care setting patients. *J Am Med Dir Assoc*. 2014;15(4):303.e7-12.

Rubbieri G, Mossello E, Di Bari M. Techniques for the diagnosis of sarcopenia. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2014;11(3):181-84.

Siddiqui R, Pandya D, Harvey K, Zaloga GP. Nutrition modulation of cachexia/proteolysis. *Nutr Clin Pract*. 2006;21(2):155-67.

Slywitch E, Moreno GM, Oliveira PM. Exames laboratoriais. In: Waitzberg DL ed. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. 5 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2017. p.421-240.

Smith HJ, Greenberg NA, Tisdale MJ. Effect of eicosapentaenoic acid, protein and amino acids on protein synthesis and degradation in skeletal muscle of cachectic mice. *Br J Cancer*. 2004;91(2):408-12.

Smith K, Reynolds N, Downie S, Patel A, Rennie MJ. Effects of flooding amino acids on incorporation of labeled amino acids into human muscle protein. *Am J Physiol*. 1998;275(1):E73-8.

Starling RD, Ades PA, Poehlman ET. Physical activity, protein intake, and appendicular skeletal muscle mass in older men. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(1):91-6.

Steffl M, Bohannon RW, Sontakova L, Tufano JJ, Shiells K, Holmerova I. Relationship between sarcopenia and physical activity in older people: a systemic review and meta-analysis. *Clin Interv Aging*. 2017;12:835-45.

Taekema DG, Gussekko J, Maier AB, Westendorp RG, de Craen AJ. Handgrip strength as a predictor of functional, psychological and social health. A prospective population-based study among the oldest old. *Age Ageing*. 2010;39(3):331-7.

Tolea MI, Galvin JE. Sarcopenia and impairment in cognitive and physical performance. *Clin Interv Aging*. 2015;10:663-71.

Tosato M, Marzetti E, Cesari M, Saveria G, Miller RR, Bernabei R, Landi F, Calvani R. Measurement of muscle mass in sarcopenia: from imaging to biochemical markers. *Aging Clin Exp Res*. 2017;29(1):19-27.

Traylor DA, Gorrissen SHM, Phillips SM. Perspective: protein requirements and optimal intakes in ageing: are we ready to recommend more than the recommended daily allowance? *Adv Nutr*. 2018;9:171-82.

Trutschnigg B, Kilgour RD, Reinglas J, Rosenthal L, Hornby L, Morais JA, Viganò A. Precision and reliability of strength (Jamar vs. Biodex handgrip) and body composition (dual-energy X-ray absorptiometry vs. bioimpedance analysis) measurements in advanced cancer patients. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008;33(6):1232-9.

van Norren K, Kegler D, Argilés JM, Luiking Y, Gorselink M, Laviano A, Arts K, Faber J, Jansen H, van der Beek EM, van Helvoort A. *Br J Cancer*. 2009;100(5):713-22.

Vellas B, Fielding RA, Bens C, Bernabei R, Cawthon PM, Cederholm T, Cruz-Jentoft AJ, Del Signore S, Donahue S, Morley J, Pahor M, Reginster JY, Rodríguez Mañas L, Rolland Y, Roubenoff R, Sinclair A, Cesari M. Implications of ICD-10 for sarcopenia clinical practice and clinical trials: report by the International Conference on Frailty and Sarcopenia Research Task Force. *J Frailty Aging*. 2018;7(1):2-9.

Verhoeven S, Vanschoonbeek K, Verdijk LB, Koopman R, Wodzig WK, Dendale P, van Loon LJ. Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(5):1468-75.

Verlaan S, Maier AB, Bauer JM, Bautmans I, Brandt K, Donini LM, Maggio M, McMurdo MET, Mets T, Seal C, Wijers SLJ, Sieber C, Boirie Y, Cederholm T. Sufficient levels of 25-hydroxyvitamin D and protein intake required to increase muscle mass in sarcopenic older adults - The PROVIDE study. *Clin Nutr.* 2018;37(2):551-7.

Vetrano DL, Landi F, Volpato S, Corsonello A, Meloni E, Bernabei R, Onder G. Association of sarcopenia with short- and long-term mortality in older adults admitted to acute care wards: results from the CRIME Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014;69(9):1154-61.

Viana LR, Canevarolo R, Luiz ACP, Soares RF, Lubaczeuski C, Zeri ACM, Gomes-Marcondes MCC. Leucine-rich diet alters the <sup>1</sup>H-NMR based metabolomic profile without changing the Walker-256 tumour mass in rats. *BMC Cancer.* 2016;16(1):764-78.

Volkert D, Beck AM, Cederholm T, Cruz-Jentoft A, Goisser S, Hooper L, Kiesswetter E, Maggio M, Raynaud-Simon A, Sieber CC, Sobotka L, van Asselt D, Wirth R, Bischoff SC. ESPEN guideline on clinical nutrition and hydration in geriatrics. *Clin Nutr.* 2019;38(1):10-47.

von Haehling S, Morley JE, Anker SD. An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. *J Cachex Sarcopenia Muscle.* 2010;1(2):129-33.

Vukovich MD, Slater G, Macchi MB, Turner MJ, Fallon K, Boston T, Rathmacher J. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans. *J Nutr Biochem*. 2001;12(11):631-9.

Waltz TB, Fivenson EM, Morevati M, Li C, Becker KG, Bohr VA, Fang EF. Sarcopenia, aging and prospective interventional strategies. *Curr Med Chem*. 2018;25(40):5588-96.

Wilson JM, Fitschen PJ, Campbell B, Wilson GJ, Zanchi N, Taylor L, Wilborn, C, Kalman DS, Stout JR, Hoffman JR, Ziegenfuss TM, Lopez HL, Kreider RB, Smith-Ryan AE, Antonio J. International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J Int Soc Sports Nutr*. 2013;10(1):6-20.

Yao K, Duan Y, Li F, Tan B, Hou Y, Wu G, Yin Y. Leucine in obesity: therapeutic prospects. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(8):714-27.

Yoshimura Y, Bise T, Shimazu S, Tanoue M, Tomioka Y, Araki M, Nishino T, Kuzuhara A, Takatsuki F. Effects of a leucine-enriched amino acid supplement on muscle mass, muscle strength, and physical function in post-stroke patients with sarcopenia: a randomized controlled trial. *Nutrition*. 2019;58:1-6.

Zeanandin G, Balage M, Schneider SM, Dupont J, Hébuterne X, Mothe-Satney I, Dardevet D. Differential effect of long-term leucine supplementation on skeletal muscle and adipose tissue in old rats: an insulin signaling pathway approach. *Age*. 2012;34(2):371-87.