



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

HELLEN CLAIR GARCÊZ NABUCO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEIN*
ASSOCIADA AO TREINAMENTO COM PESOS SOBRE A
COMPOSIÇÃO CORPORAL, A FORÇA MUSCULAR, A
CAPACIDADE FUNCIONAL E O PERFIL
CARDIOMETABÓLICO EM MULHERES IDOSAS
TREINADAS**

Londrina
2018

HELLEN CLAIR GARCÊZ NABUCO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEIN*
ASSOCIADA AO TREINAMENTO COM PESOS SOBRE A
COMPOSIÇÃO CORPORAL, A FORÇA MUSCULAR, A
CAPACIDADE FUNCIONAL E O PERFIL
CARDIOMETABÓLICO EM MULHERES IDOSAS
TREINADAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física - UEM/UEL, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Educação Física.

Orientador: Dr. Edilson Serpeloni Cyrino.
Co-orientadora: Dra. Crisieli Maria Tomeleri.

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Nabuco, Hellen Clair Garcez.

Efeitos da suplementação de whey protein associada ao treinamento com pesos sobre a composição corporal, a força muscular, a capacidade funcional e o perfil cardiometabólico em mulheres idosas treinadas / Hellen Clair Garcez Nabuco. - Londrina, 2018.
159 f.

Orientador: Edilson Serpeloni Cyrino.

Coorientador: Crisieli Tomeleri.

Tese (Doutorado em Educação Física) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Educação Física e Esportes, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Treinamento com pesos - Tese. 2. Ingestão proteica - Tese. 3. Idosas treinadas - Tese. 4. Massa muscular - Tese. I. Cyrino, Edilson Serpeloni . II. Tomeleri, Crisieli. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Educação Física e Esportes. . IV. Título.

HELLEN CLAIR GARCÊZ NABUCO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *WHEY PROTEIN* ASSOCIADA
AO TREINAMENTO COM PESOS SOBRE A COMPOSIÇÃO
CORPORAL, A FORÇA MUSCULAR, A CAPACIDADE FUNCIONAL E
O PERFIL CARDIOMETABÓLICO EM MULHERES IDOSAS
TREINADAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física - UEM/UEL, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Educação Física.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dr. Edilson Serpeloni Cyrino
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Alex Silva Ribeiro
Universidade Norte do Paraná - UNOPAR

Dr. Roberto Carlos Burini
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Dr. Denilson de Castro Teixeira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Analiza Mônica Lopes de Almeida Silva
Universidade de Lisboa - ULisboa

Londrina, 28 de agosto de 2018.

BANCA EXAMINADORA

PRESIDENTE

Dr. EDILSON SERPELONI CYRINO

UEL



TITULARES

Dr. ALEX SILVA RIBEIRO

UNOPAR



Dr. ROBERTO CARLOS BURINI

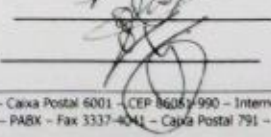
UNESP/BC



Dr. DENILSON DE CASTRO TEIXEIRA

UEL

Dra. ANALIZA MÓNICA LOPES DE ALMEIDA SILVA FMH



Campus Universitário: Rodovia Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380 – Fone (43) 3371-4000 – PABX – Fax 3328-4440 – Caixa Postal 6001 – CEP 86057-900 – Internet <http://www.uel.br>
Hospital Universitário/Centro de Ciências da Saúde: Av. Robert Koch, 60 – Vila Operária – Fone (43) 3371-2000 – PABX – Fax 3337-4041 – Caixa Postal 791 – CEP 86038-440
LONDRINA – PARANÁ – BRASIL

DEDICO

Dedico esse trabalho a minha família: a minha mãe, Zenaide, que sempre me apoiou, me incentivou e me dedicou amor e carinho, apoiando minha jornada de estudos. Ao meu pai, Adailton, pelo apoio e incentivo aos meus estudos. A minha irmã Hérica pela compreensão e apoio.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pelo dom da vida, por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e me suprir em todas as minhas necessidades.

À **minha família**, a qual amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo. Mesmo a distância o apoio de vocês foi fundamental, vocês são meu alicerce.

Ao meu orientador, professor Dr. **Edilson Serpeloni Cyrino**, pelo exemplo de profissional e por ter acreditado no meu potencial. Obrigada pela confiança, amizade, paciência e por me permitir fazer parte do seu grupo.

À minha co-orientadora, professora Dra. **Crisieli Maria Tomeleri**, pela amizade, incentivo nos momentos difíceis e contribuição marcante na construção desse trabalho.

Aos professores que aceitaram fazer parte da comissão julgadora dessa tese de doutorado: Dra. **Analiza Monica Silva**, Dr. **Alex Silva Ribeiro**, Dr. **Denílson de Castro Teixeira** e Dr. **Roberto Carlos Burini**. Obrigada pelas preciosas contribuições para melhora do trabalho.

Ao professor Dr. **Luís B. Sardinha** pela atenção e por me receber na Faculdade de Motricidade Humana/Lisboa/Portugal. Agradeço também aos demais membros do Laboratório de Exercício e Saúde que me acolheram durante meu estágio de doutorado sanduíche.

A todas as **idosas participantes** que aceitaram participar desse projeto, e não mediram esforços para estarem presentes durante todo período e, mesmo em dias de frio e com chuva, não desistiram. Muito obrigada pelo carinho e lição de vida.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, à **Fundação Araucária** e ao **Ministério da Educação** pelo apoio financeiro ao projeto.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da minha bolsa de doutorado sanduíche, e demais bolsas de mestrado e doutorado para os participantes do meu projeto.

Ao **Instituto Federal de Mato Grosso** que aprovou meu afastamento remunerado para desenvolvimento do meu doutorado, o que permitiu dedicação exclusiva e condução de todo o processo que culminou na presente tese.

A todos os integrantes do **Grupo de Estudo e Pesquisa em Metabolismo, Nutrição e Exercício (GPEMENE/UEL)**, amigos e companheiros, Leandro, Gabriel, Paolo, André, João Pedro, David, Melissa, Jorge Luiz, Duda, Júlia, Jonatan, Marcia Dib, enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído. Obrigada pelo comprometimento com meu crescimento e aprendizado. Foi um prazer estar entre colegas e amigos tão competentes. Aprendi muito durante os momentos em que estivemos juntos.

Gostaria, também, de deixar um agradecimento em especial para os meus amigos e companheiros de projeto, **Paulo Sugihara Junior** e **Rodrigo dos Reis Fernandes**, que me receberam de abraços abertos no grupo. Obrigada pela compreensão e pelas conversas animadoras. Obrigada pela paciência e por todos os momentos juntos, preparando as doses dos suplementos para as idosas, lavando as coqueteleiras, enfim por todo trabalho e momentos de alegria e angústia que suportamos juntos.

Agradeço, em particular, a **Edilaine Fungari Cavalcante**, pela amizade, conselhos, paciência e por ter cuidado com todo carinho das fichas de treino e controle da sala de musculação durante o período do meu projeto.

As empresas patrocinadoras que acreditaram e investiram neste projeto: **Arla Foods** (*whey protein*), **New Milen** (maltodextrina) e **Planeta Saúde** (coqueteleiras). Sem o suporte de vocês não teria sido possível a execução do experimento.

Por fim, todos aqueles que acreditaram no meu potencial e me ajudaram com um sorriso, uma palavra de incentivo, um olhar sincero, uma mão estendida! Muito Obrigada!

NABUCO, Hellen Clair Garcez. **Efeitos da suplementação de *whey protein* associada ao treinamento com pesos sobre a composição corporal, a força muscular, a capacidade funcional e o perfil cardiometabólico em mulheres idosas treinadas.** 2018. 159 f. Tese (Doutorado em Educação Física) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A proteína do soro do leite (*whey protein*) tem sido adotada como uma boa alternativa para o aumento da ingestão protéica, visto que possui alta qualidade biológica e digestibilidade, bem como propriedades terapêuticas ainda pouco exploradas, como efeito anti-inflamatório e antioxidante. Assim, a proposta deste estudo foi analisar o efeito da suplementação de *whey protein* (WP) associada ao treinamento com pesos (TP) sobre a força muscular, a composição corporal, a capacidade funcional, a hidratação celular, os fatores de risco cardiometabólico e o estresse oxidativo em mulheres idosas treinadas. Para tanto, 70 mulheres (≥ 60 anos) fisicamente independentes foram selecionadas e separadas aleatoriamente em três grupos, a saber: (1) grupo que ingeriu 35 g de placebo antes e 35 g após sessão de TP (PLA-PLA), (2) grupo que ingeriu 35 g de WP antes e 35 g de placebo após sessão de TP (WP-PLA) e (3) grupo que ingeriu 35 g de placebo antes e 35 g de WP após sessão de TP (PLA-WP). Todos os grupos foram submetidos a um único programa de TP, composto por oito exercícios para o tronco, membros superiores e inferiores que foram executados em três séries de 8-12 repetições máximas, com uma frequência de três sessões semanais durante 12 semanas. Os suplementos de *whey protein* e placebo (maltodextrina) eram isocalóricos e foram consumidos somente nos dias de treinamento. A composição corporal foi avaliada por meio da densitometria de raio de dupla energia (DEXA) e consumo alimentar por meio do recordatório de 24 h. Para avaliação da força muscular foi aplicado o teste de uma repetição máxima (1-RM) e para analisar a capacidade funcional das participantes foram aplicados dois testes: levantar da posição sentada e caminhada de 10 metros. O ângulo de fase e a água corporal total e suas frações (intra e extracelular) foram determinados por bioimpedância multifrequencial. Glicose, insulina, índice HOMA, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol total (CT), triglicerídeos, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 e a proteína C-reativa foram determinados em jejum. A pressão arterial de repouso foi mensurada por meio de equipamento automático. Interação grupo vs. tempo ($P < 0,05$) revelou aumento de massa muscular (WP-PLA = 3,4%; PLA-WP = 4,2%; PLA-PLA = 2,0%), de força muscular (WP-PLA = 8,1%; PLA-WP = 8,3%; PLA-PLA = 7,0%) e de água intracelular (WP-PLA = 5,5%; PLA-WP = 6,6%; PLA-PLA = 3,5%) nos grupos suplementados quando comparados com o grupo placebo, independentemente do momento da oferta de WP. De forma similar, WP proporcionou melhoria do desempenho ($P < 0,05$) no teste de caminhada de 10 m (WP-PLA = -10,8%; PLA-WP = -11,8%; PLA-PLA = -4,3%), redução do ácido úrico (WP-PLA = -8,3%; PLA-WP = -11,0%; PLA-PLA = -2,0%) e da relação CT/HDL (WP-PLA = -12,1%; PLA-WP = -13,2%; PLA-PLA = -0,7%). WP ingerido após o treino quando comparado com o placebo ($P < 0,05$) proporcionou uma redução da massa gorda total (PLA-WP = -3,1% vs. PLA-PLA = -0,3%) e da gordura do tronco (PLA-WP = -3,8% vs. PLA-PLA = -0,1%), além de melhoria da

relação massa magra apendicular/massa gorda apendicular (PLA-WP = 5,8% vs. PLA-PLA = 1,3%). Os resultados sugerem que WP foi efetiva em promover melhorias na massa muscular esquelética, força muscular, água intracelular, capacidade funcional e relação CT/HDL em mulheres idosas pré-condicionadas, independentemente do momento da oferta da suplementação. Além disso, a proteína de soro de leite após o TP contribuiu para a redução da gordura corporal total e de tronco e para a melhoria da relação massa apendicular de massa magra / massa adiposa.

Palavras-chave: Envelhecimento. Treinamento de força. Ingestão proteica. Massa muscular.

NABUCO, Hellen Clair Garcez. **Effects of whey protein supplementation associated with resistance training on body composition, muscular strength, functional capacity and cardiometabolic risk parameters in preconditioned older women.** 2018. 159 p. Thesis (Doctoral Degree in Physical Education) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Whey protein has been adopted as a good alternative for the increase of protein intake, since it has high biological quality and digestibility, as well as therapeutic properties still little explored, such as anti-inflammatory and antioxidant. Thus, the purpose of this study was to analyze the effect of whey protein (WP) supplementation associated with resistance training (RT) on muscular strength, body composition, functional capacity, cellular hydration, cardiometabolic risk factors and oxidative stress in preconditioned older women. To that end, 83 elderly (≥ 60 years) and physically independent women participated in this investigation and were randomly assigned to one of three groups: whey protein pre-RT and placebo post-RT (WP-PLA), placebo pre-RT and whey protein post-RT (PLA-WP), and placebo pre and post-RT (PLA-PLA). Each group ingested 35 g of WP or PLA. The RT program was carried out over 12 weeks (three times per week; 3 x 8–12 repetition maximum). Body composition was assessed by whole-body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and food consumption by 24 hour recall. Maximum repetition test (1-RM) was applied to assess muscular strength and to analyze the functional capacity of the participants, two tests were applied: the 10-m walk test and rising from the sitting position test. The phase angle and total body water and their fractions (intra- and extracellular) were determined by multi-frequency bioimpedance. Glucose, insulin, HOMA index, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), total cholesterol (CT), triglycerides, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-6 and protein C- were determined fasting. The resting blood pressure was measured by means of automatic equipment. A time vs. group interaction ($P < 0.05$) was observed with WP-PLA and PLA-WP presenting greater increases compared with PLA-PLA for skeletal muscle mass (WP-PLA = 3.4%; PLA-WP = 4.2%; PLA-PLA = 2.0%), muscular strength (WP-PLA = 8.1%; PLA-WP = 8.3%; PLA-PLA = 7.0%), and intracellular water (WP-PLA = 5.5%, PLA- 6%, PLA-PLA = 3.5%) when compared with placebo, regardless of the timing of the WP offer. Similarly, WP provided improved performance ($P < 0.05$) in the 10-m walk test (WP-PLA = -10.8%; PLA-WP = -11.8%; PLA- (WP-PLA = -8.3%, PLA-WP = -11.0%, PLA-PLA = -2.0%) and the CT/HDL ratio (WP- PLA = -12.1%, PLA-WP = -13.2%, PLA-PLA = -0.7%). WP ingested after training compared to placebo ($P < 0.05$) resulted in a reduction in total fat mass (PLA-WP = -3.1% vs. PLA-PLA = -0.3%) and trunk fat mass (PLA-WP = -3.8% vs. PLA-PLA = -0.1%), as well as improvement of the appendicular lean mass / appendicular fat mass ratio (PLA-WP = 5.8% vs. PLA-PLA = 1.3%). The results suggest that WP was effective in promoting improvements in skeletal muscle mass, muscular strength, intracellular water, functional capacity, and the CT/HDL ratio in pre-conditioned older women, regardless of when the supplementation was offered. Furthermore, WP after RT contributed to the reduction of total body and trunk fat and to the improvement of appendicular mass / lean mass ratio.

Keywords: Aging. Strength training. Protein intake. Muscle mass.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fatores que afetam o consumo de alimentos em idosos.....	28
Figura 2 – Delineamento experimental	43
Figura 3 – Fluxograma do estudo	45
Figure 4 – Flowchart of the study.....	60
Figure 5 – Relative skeletal muscle mass changes from the first phase and the supplementation phase.....	67
Figure 6 – Flowchart of the study.....	75
Figure 7 – Experimental study design.....	88
Figure 8 – Percentage change in metabolic (a) and inflammatory (b) Z-score after 12 weeks of a combined whey protein supplementation with resistance training	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–Composição nutricional de diferentes fontes proteicas	31
Tabela 2	–Composição nutricional dos suplementos ofertados	52
Table 3	–Participants scores at baseline (pre) and after (post) the 8-week period.....	64
Table 4	–Habitual dietary intake of the older women measured at baseline, during, and after 12 weeks of intervention	65
Table 5	–Body composition and muscular strength of the older women after the 12-week intervention period	66
Table 6	–General characteristics, dietary intake, and clinical history of the participants at baseline by supplementation group.....	79
Table 7	–Participant scores pre and post the 8-week intervention (first phase).....	80
Table 8	–Participant scores at baseline (pre) and after (post) the 12-week intervention (second phase).....	81
Table 9	–General characteristics and clinical history of the participants randomly assigned to the three intervention groups, at baseline	92
Table 10	–Participants’ scores at baseline (pre) and after (post) 8-week intervention period	93
Table 11	–Body composition and dietary intake of the participants at baseline and after 12 weeks of intervention, in the groups that ingested whey protein before or after RT and in the placebo group.....	95
Table 12	–Cardio-metabolic risk factors of older women over 12 weeks of intervention in the groups that ingested whey protein before or after RT and in the placebo group	96
Table 13	–General characteristics of the participants at baseline of supplementation	108
Table 14	–Habitual dietary intake of the older women measured at pre and post-12 weeks of intervention.....	109
Table 15	–Blood markers, renal function and training load at baseline (pre) and after (post) 12-week intervention period of intervention.....	111
Table 16	–Participants’ scores at baseline (pre) and after (post) 12-week intervention period of intervention	112

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACSM	Colégio Americano de Medicina do Esporte
ACT	Água corporal total
AEC	Água extracelular
AIC	Água intracelular
AOPP	Produtos proteicos de oxidação avançada
CCI	Coeficiente de correlação intraclasse
CHO	Carboidratos
DEXA	Absortometria radiológica de dupla energia
DRI	Ingestões Dietéticas de Referência
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EO	Estresse Oxidativo
ESPEN	Sociedade Europeia de Nutrição Clínica e Metabolismo
EPE	Erro técnico de medida
FOX	Concentração dos peróxidos lipídicos
HDL-c	Lipoproteínas de baixa densidade
HOMA	Modelo de Avaliação da Homeostase
ICI	Índices de Castelli I
ICII	Índices de Castelli II
IGF-1	Fator de crescimento Insulina-1
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL-c	Lipoproteínas de baixa densidade
MI	Membros inferiores
MIGOAP	Massa isenta de gordura e osso apendicular
MS	Membros superiores
mTOR	Alvo Mecanístico de Rapamicina
NO	Óxido nítrico
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C-Reativa
PLA-PLA	Placebo-Placebo
PLA-WP	Placebo-whey protein

R24	Recordatório de 24 h
RDA	Doses diárias recomendadas
RM	Repetições máximas
RNS	Espécies reativas de nitrogênio
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SEM	Semana
SOD	Superóxido dismutase
SPPB	Short physical performance battery test
TE	Tamanho do Efeito
TFG	Taxa de filtração glomerular
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TP	Treinamento com pesos
TRAP	Capacidade antioxidante total plasmática
WP-PLA	Whey protein-placebo

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1.	Envelhecimento	19
2.1.1.	Composição corporal e força muscular	20
2.1.2.	Comportamento metabólico	22
2.1.3.	Metabolismo proteico	25
2.1.4.	Consumo alimentar	27
2.2.	<i>Whey protein</i>	30
2.2.1.	Capacidade antioxidante e anti-inflamatória	31
2.2.2.	Obesidade e comorbidades	32
2.2.3.	Síntese proteica	33
2.3.	Treinamento com pesos	34
2.3.1.	Treinamento com pesos e suplementação de <i>whey protein</i> em idosos	36
3	OBJETIVOS	41
4	MÉTODOS	42
4.1.	Delineamento do estudo	42
4.2.	Participantes	42
4.3.	Medidas antropométricas e de composição corporal	46
4.3.1.	Antropometria	46
4.3.2.	Composição corporal	46
4.4.	Força muscular	48
4.5.	Biomarcadores sanguíneos	48
4.6.	Capacidade funcional	50
4.7.	Pressão arterial de repouso	50
4.8.	Consumo alimentar	51
4.9.	Protocolo de suplementação	51
4.10.	Programa de treinamento com pesos	52
4.11.	Análise estatística	53

5	RESULTADOS	54
5.1.	Artigo original 1	55
5.2.	Artigo original 2	71
5.3.	Artigo original 3	84
5.4.	Artigo original 4	102
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	116
	REFERÊNCIAS	118
	APÊNDICES	143
	APÊNDICE A – Entrevista – Projeto Envelhecimento Ativo	144
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	146
	APÊNDICE C – Ficha de treino	148
	APÊNDICE D – Modelo do recordatório 24 Horas	149
	APÊNDICE E – Artigo original publicado	150
	ANEXOS	151
	ANEXO A – Financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.....	152
	ANEXO B – Carta de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética.....	153
	ANEXO C – Laudo do Departamento de Alimentos e Medicamentos	158

1 INTRODUÇÃO

A prática de treinamento com pesos (TP) tem sido amplamente recomendada para a população idosa, uma vez que esse tipo de exercício tem se mostrado bastante efetivo para o aumento e/ou manutenção da força e massa muscular (PETERSON et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015a; SOUZA et al., 2016), melhoria da qualidade muscular (RIBEIRO et al., 2016a) e da saúde celular (DOS SANTOS et al., 2016; SOUZA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017a); aumento ou manutenção da densidade mineral óssea (AHN e KIM, 2016; HUOVINEN et al., 2016); redução da gordura corporal (RIBEIRO et al., 2015a, 2016b; SOUZA et al., 2016; TOMELERI et al., 2016); melhoria do quadro inflamatório (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016); redução do estresse oxidativo (PADILHA et al., 2015a; RIBEIRO et al., 2017b); melhoria do perfil lipídico e da glicemia de jejum (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016, 2017a), entre outros diversos benefícios.

Por outro lado, a nutrição também desempenha um importante papel na prevenção e tratamento de doenças, assim como na manutenção de uma vida saudável, sobretudo, em idosos, visto que essa população é mais susceptível a inadequação nutricional, consequência do isolamento e do uso de medicamentos que podem atrapalhar a absorção de nutrientes, ou ainda, em virtude da redução da produção de suco gástrico, da dificuldade de mastigação e deglutição, da redução do apetite e da capacidade sensorial, entre outros fatores (BROWNIE, 2006; SAFFREY, 2013).

Nesse sentido, o consumo adequado de proteínas em idosos pode contribuir para o aumento ou manutenção da massa muscular (SCOTT et al., 2010; DALY et al., 2014; LOENNEKE et al., 2016; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017) e da força (DALY et al., 2014; ISANEJAD et al., 2016; LOENNEKE et al., 2016; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017), melhoria da capacidade funcional (GREGORIO et al., 2014; ISANEJAD et al., 2016) e da densidade mineral óssea (PROMISLOW et al., 2002; GAFFNEY-STOMBERG et al., 2009; GENARO e MARTINI, 2010), prevenção do desenvolvimento de obesidade sarcopênica (OH et al., 2016) e síndrome metabólica (NABUCO et al., 2018a).

Assim, uma das estratégias para aumentar o consumo de proteínas em idosos tem sido a ingestão de suplementos a base de proteína do soro do leite ou *whey protein* (WP), visto se tratar de uma proteína de fácil digestão e que pode promover aumento na quantidade de aminoácidos circulantes, o que por sua vez contribui para o aumento da síntese muscular proteica (MOORE et al., 2009; SATO e FUJITA, 2013), uma vez que WP é rica em leucina, um aminoácido que desempenha uma importante função na síntese muscular proteica (DEVRIES e PHILLIPS, 2015; FEKETE et al., 2016a).

Whey protein possui, também, importantes propriedades terapêuticas, como por exemplo, efeito anti-inflamatório, antioxidante, poder insulínico e anti-hipertensivo

(ZEMEL, 2004; FOLTZ et al., 2008; VELDHORST et al., 2009; LI et al., 2011; DRAGANIDIS et al., 2016; MACWAN et al., 2016). Logo, o consumo de WP pode contribuir para a melhoria do estado geral de saúde, aumentando a produção endógena de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e a glutathione peroxidase), promovendo alterações positivas em marcadores de estresse oxidativo [produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP), capacidade antioxidante total plasmática (TRAP), concentração dos peróxidos lipídicos (FOX)], e do perfil inflamatório [fator de necrose tumoral alpha (TNF- α), proteína C-reativa (PCR) e Interleucina 6 (IL-6)] em obesos, diabéticos e cardiopatas (SOUSA et al., 2012; SUGAWARA et al., 2012; YANG et al., 2012; FEKETE et al., 2016a; FUKUDA et al., 2016).

Todavia, o real impacto do uso de WP associado ao TP na população idosa ainda está não bem estabelecido na literatura, visto que os resultados encontrados até o presente momento são aparentemente controversos (CANDOW et al., 2006; ELIOT et al., 2008; BEMBEN et al., 2010; ARNARSON et al., 2013; CHALE et al., 2013; RAMEL et al., 2013; VILLANUEVA et al., 2014; KARELIS et al., 2015; COLLINS et al., 2016; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017). Entre esses estudos, somente dois revelaram que a suplementação de WP associada ao TP aumentou a massa muscular (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017) e a força (KARELIS et al., 2015; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017). Uma possível explicação para tais divergências é que a grande maioria dessas investigações se limitou a analisar o efeito desse tipo de suplementação sobre alguns componentes da composição corporal e indicadores de força muscular em idosos não treinados, cujas respostas podem ser influenciadas pelo baixo nível de aptidão física.

Nessa direção, a literatura tem revelado que indivíduos treinados respondem de maneira diferente aos estímulos do treinamento quando comparados com não treinados (MORTON et al., 2017), em virtude do que se denomina "*ceiling effect*", ou seja, o ganho de massa muscular vai se tornando progressivamente mais difícil à medida que o indivíduo se torna mais treinado (SCHOENFELD et al., 2013a). Outro fator que pode contribuir para as diferenças encontradas entre os estudos pode ser o momento da oferta da suplementação que pode maximizar ou não as adaptações induzidas por TP e o processo de recuperação tecidual (ARAGON e SCHOENFELD, 2013). Aparentemente, exercitar-se em estado alimentado pode ter um efeito anti-catabólico, atenuando a degradação proteica induzida pela sessão de treinamento, provavelmente, em virtude do aumento na disponibilidade de aminoácidos na corrente sanguínea, inibindo a ativação AMP-proteína quinase, um regulador negativo da sinalização mTOR (CANDOW e CHILIBECK, 2008; FUJITA et al., 2009). Portanto, acredita-se que a ingestão protéica pré-treino poderia contribuir para

aumento da massa muscular esquelética e força muscular, e também melhorar a capacidade funcional (ISANEJAD et al., 2016; RAHI et al., 2016).

Entretanto, apenas três estudos longitudinais (ESMARCK et al., 2001; CANDOW et al., 2006; VERDIJIK et al., 2009) até o presente momento investigaram os efeitos do tempo de ingestão de proteínas em idosos. Esmarck et al. (2001) reportaram que, ao longo de uma semana de TP, a massa muscular aumentou, quando a proteína foi ingerida imediatamente após o exercício, enquanto não foram observadas alterações significantes quando essa foi ingerida 2 h pós-exercício. Por outro lado, Candow et al. (2006) não identificaram ganhos de força e massa muscular com o uso suplementação proteica antes ou depois do treinamento. Similarmente, Verdijk et al. (2009) relataram que a suplementação proteica tanto imediatamente antes quanto após o TP não aumentou a força e massa muscular. Portanto, além dos resultados encontrados serem controversos, tais estudos foram conduzidos com adultos idosos não treinados, utilizando doses consideradas conservadoras, o que pode não ser o adequado para pessoas idosas (10 a 20 g), visto que idosos necessitam de aportes maiores de proteínas para manter o balanço nitrogenado positivo.

Com base nas informações apresentadas anteriormente, nossas hipóteses são que independente do momento de consumo: (1) a suplementação com WP resultará em maiores ganhos em MME e força muscular com conseqüente melhora na funcionalidade quando comparado ao placebo; (2) a suplementação com WP associada ao TP acarretará em aumento da água intracelular e redução da água extracelular, proporcionando melhora na saúde celular (ângulo de fase) em relação ao grupo placebo; (3) a melhora no perfil metabólico e inflamatório será de maior magnitude nos grupos suplementados com WP; e (d) a suplementação com WP irá maximizar a capacidade antioxidante do TP, regulando positivamente as atividades das enzimas antioxidantes e reduzindo os marcadores de danos oxidativos, em mulheres idosas previamente treinadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Envelhecimento

O envelhecimento é um processo natural que está associado a inúmeras modificações nos sistemas biológicos tais como declínio de massa muscular, força e qualidade muscular (CRUZ-JENTOFT et al., 2010). Tais modificações ocorrem paralelamente a alterações nos fluidos celulares, caracterizadas pela redução da água corporal total e da sua fração intracelular, com ou sem aumento da quantidade de água extracelular (SARAGAT et al., 2014)

Adicionalmente, com o avançar da idade existe uma tendência de acúmulo de massa gorda em depósitos não gordurosos, tais como ossos, fígado e músculos (CRUZ-JENTOFT et al., 2010). O acúmulo de tecido adiposo no tecido ósseo está relacionado com risco de fraturas, redução da massa óssea (osteoporose) e declínio do conteúdo e densidade mineral óssea, tendo como possíveis causas a redução do estrogênio, o desuso, a desnutrição, a interação farmacológica, entre outras (WOLFE et al., 2008; HAMRICK et al., 2016). O incremento do tecido adiposo, também, tende a ocorrer por meio da infiltração adipocitária no tecido muscular (miosteatose), particularmente em membros inferiores (HAMRICK et al., 2016). A miosteatose tem associação com a resistência insulínica, inflamação, estresse oxidativo, alterações no perfil lipídico e redução da capacidade funcional (HAMRICK et al., 2016).

Outra importante modificação associada ao envelhecimento é o declínio na função imune, que afeta várias populações celulares e promove modificações na quantidade de citocinas circulantes, resultando em um estado inflamatório crônico, que se caracteriza, principalmente, pelo aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6 (IL-6) e a proteína C-reativa (PCR), uma proteína de fase aguda (GATTA et al., 2014).

O conjunto de modificações relatadas anteriormente aumenta o risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial, dislipidemias, diabetes tipo 2, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares, além contribuir para o aumento do risco de morte (KOOPMAN e VAN LOON, 2009; GATTA et al., 2014; CHARLTON et al., 2015; CORLEY et al., 2015). Assim, abordaremos a seguir, de forma mais detalhada, as principais modificações biológicas que ocorrem com o envelhecimento e as possíveis contribuições da prática do TP e da suplementação proteica para a atenuação ou reversão desse quadro na população idosa.

2.1.1. Composição corporal e força muscular

O envelhecimento é um processo caracterizado por diversas modificações nos diferentes componentes da composição corporal, sobretudo em mulheres idosas, com destaque para a perda da massa muscular e da gordura corporal, com concomitante aumento da gordura visceral e da gordura intramuscular (infiltração de gordura nos músculos) (CRUZ-JENTOFT et al., 2010), devido à baixa produção de estrogênio (BECHLIOULIS et al., 2009).

O músculo esquelético é um tecido metabolicamente ativo que contribui para a regulação da taxa metabólica basal e do metabolismo pós-prandial da glicose e dos lipídeos, além de ser determinante para a saúde física e funcional, independentemente da idade (MAZZULLA et al., 2015). Entretanto, com o avançar da idade, em particular, por volta dos 40 a 50 anos de idade, tem-se início o processo de redução acentuada da massa muscular associada a um declínio na capacidade funcional, um fenômeno denominado de sarcopenia, com uma taxa de redução na ordem de 0,6% a 0,8% ao ano (BREEN e PHILLIPS, 2011; GALVAN et al., 2016).

Entretanto, a taxa de redução da massa muscular se torna mais acelerada após os 65 anos, atingindo valores próximos a 1,5% ao ano (GALVAN et al., 2016), podendo chegar a 2,5% ao ano em idosos com idades superiores a 75 anos (KOOPMAN e VAN LOON, 2009). Embora a redução de massa muscular seja, em geral, maior em homens, tal modificação é mais crítica em mulheres, uma vez que essas possuem uma menor quantidade desse componente da composição corporal desde o início da fase adulta (MARKOFSKI et al., 2015).

Vale destacar que a taxa de redução da massa muscular não é homogênea na comparação entre membros superiores e inferiores, com os valores atingidos uma relação de 1:2 com o maior declínio ocorrendo em membros inferiores, cuja redução vem acompanhada por um declínio da força muscular, fenômenos que de forma combinada resultam em dificuldade de mobilidade e equilíbrio, aumentando o risco de quedas, fragilidade e dependência em idosos (BREEN e PHILLIPS, 2011; DICKINSON et al., 2013). Outros fatores que podem contribuir para etiologia da sarcopenia são: mudança na sensibilidade da síntese muscular proteica e aumento da degradação muscular proteica ou ainda a combinação de ambos os processos, resultando em um balanço nitrogenado negativo (BREEN e PHILLIPS, 2011; ATHERTON e SMITH, 2012).

A sarcopenia pode ser dividida em três estágios: pré-sarcopenia (redução exclusiva de massa muscular), sarcopenia (diminuição da massa muscular acompanhada de declínio da força ou capacidade física) e sarcopenia severa (diminuição da massa muscular

acompanhada de declínio da força e capacidade física) (CRUZ-JENTOFT et al., 2010). Embora a redução da massa muscular esteja relacionada com o declínio da força ou dismetria (MANINI e CLARK, 2012; MOORE et al., 2015), muitos outros fatores podem estar relacionados com a redução da força em idosos, tais como: deficiências na ativação neural, diminuição do recrutamento de unidades motoras e modificação na estrutura das fibras musculares, devido à infiltração adipocitária (MANINI e CLARK, 2012).

Além disso, com o envelhecimento o declínio da força é muito mais rápido do que a redução da massa muscular, resultando em capacidade funcional reduzida e aumento do risco de morte (CHARLTON et al., 2015). Assim, estima-se que uma redução significativa na força muscular ocorra por volta dos 40 anos, acentuando-se a partir dos 60 anos, alcançando uma taxa de declínio na ordem de 10 a 15% ao ano (HUGHES et al., 2001; GOODPASTER et al., 2006; MITCHELL et al., 2012), independentemente do sexo.

O envelhecimento é acompanhado, também, por alterações nos fluidos celulares, com redução da água corporal total e da água intracelular, concomitantemente, ao aumento da água extracelular (SARAGAT et al., 2014). Embora a diluição de isótopos seja considerado um método padrão-ouro para essas medidas, a bioimpedância elétrica tem se mostrado uma alternativa bastante útil, uma vez que a resistência reflete a oposição do condutor biológico a corrente elétrica alternada e, portanto, indica o estado de hidratação celular, ao passo que a reatância é a resistência capacitiva das membranas celulares e interfaces de tecidos indicando a integridade da membrana celular (NORMAN et al., 2012).

A partir da avaliação por meio do método da bioimpedância elétrica, é possível determinar o ângulo de fase, um importante indicador do estado de saúde celular, hidratação, estado nutricional, sarcopenia, capacidade funcional e risco de mortalidade (KYLE et al., 2012; NORMAN et al., 2012; FUKUDA et al., 2016). O ângulo de fase reflete a relação entre a resistência e reatância, sendo calculado por meio do arco da tangente da reatância/resistência $\times 180^\circ/\pi$ (NORMAN et al., 2012; FUKUDA et al., 2016). O ângulo de fase diminui com a progressão da idade, em virtude do aumento da resistência devido à diminuição da proporção de água corporal à custa do aumento da massa gorda, bem como redução da reatância que é paralela à perda de massa muscular (NORMAN et al., 2012).

Os valores de resistência, reatância e ângulo de fase são dependentes da idade, sexo, estatura, massa livre de gordura, estado nutricional, índice de massa corporal (IMC) e nível de atividade física (NORMAN et al., 2012; FUKUDA et al., 2016). O ângulo de fase também está relacionado com alterações em alguns biomarcadores sanguíneos como albumina, creatinina, proteína C-reativa e ureia sanguínea (NORMAN et al., 2012; STOBBAUS et al., 2012).

Outra importante modificação na composição corporal com o envelhecimento refere-se ao aumento da quantidade de gordura corporal, predominantemente visceral e intramuscular (KOOPMAN e VAN LOON, 2009), aumentando o risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2, hipertensão, dislipidemias e outras comorbidades cardiovasculares (KOOPMAN e VAN LOON, 2009; SATO e FUJITA, 2013). Na sequência serão discutidas importantes modificações no comportamento metabólico com o avançar da idade, particularmente, em mulheres.

2.1.2. Comportamento metabólico

Mulheres na pós-menopausa têm um risco maior de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, devido à redução do estrogênio que é um hormônio protetor e potente estimulador do óxido nítrico sintetase, do fator de crescimento endotelial vascular e da atividade do receptor de LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) (BECHLIOULIS et al., 2009; PAL e ELLIS, 2011). Adicionalmente, redução do estrogênio também promove uma redistribuição da gordura corporal para região abdominal (BEN ALI et al., 2016). Assim, um perfil aterogênico tem sido observado em mulheres pós-menopausadas com um aumento do colesterol total e do LDL-c, diminuição do HDL-c (lipoproteína de alta densidade), aumento da pressão arterial e resistência à insulina (PAL e ELLIS, 2011; TALEB-BELKADI et al., 2016).

Os mecanismos que explicam essas alterações no perfil lipídico ainda não estão bem estabelecidos, embora uma das possíveis explicações possa ser o aumento do tecido adiposo visceral, visto que os adipócitos dessa região são mais sensíveis aos estímulos lipolíticos, aumentando a liberação de ácidos graxos livres na circulação, o que implicaria no aumento da resistência à insulina e das concentrações de LDL, bem como na redução do HDL (ZAMBONI et al., 2013). Ademais, há um aumento dos marcadores inflamatórios produzidos pela massa gorda (BEN ALI et al., 2016), uma vez que os adipócitos localizados na região visceral liberam duas a três vezes mais IL-6 quando comparados aos adipócitos subcutâneos (ORSATTI et al., 2012). Associado a isso, mulheres no período da menopausa têm valores de TNF- α e PCR mais elevados quando comparados a mulheres que não se encontram nessa fase da vida (TALEB-BELKADI et al., 2016).

Vale destacar que o avanço da idade por si só contribui para a desregulação do perfil cardiometabólico, visto que a sarcopenia afeta não só o músculo, mas também o sistema metabólico (SULIGA et al., 2016), provocando um constante estado crônico e sistêmico de inflamação (GATTA et al., 2014), cujos valores de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6 e TNF- α , se apresentam de duas a três vezes mais elevados (DRAGANIDIS et al., 2016).

Essas citocinas ocupam papel de destaque no processo inflamatório crônico e são consideradas importantes marcadores de fragilidade durante o processo de envelhecimento em seres humanos (JOSEPH et al., 2005).

Ademais, idosos geralmente apresentam valores elevados de PCR, uma proteína que é produzida principalmente pelo fígado e, também, pelos adipócitos (DRAGANIDIS et al., 2016). Assim, a alta concentração dessas citocinas pró-inflamatórias e da PCR está relacionada a um maior risco de morte, desenvolvimento de diabetes, aterosclerose, doenças cardiovasculares, má alimentação, redução da capacidade funcional, adiposidade abdominal e declínio da força e massa muscular (REXRODE et al., 2003; SCHAAP et al., 2006; CORLEY et al., 2015).

Outrossim, a TNF- α é uma citocina que tem uma ação direta sobre o músculo esquelético e prejudica a síntese proteica, uma vez que altera a atividade de transcrição, além de aumentar a perda de massa muscular (NICASTRO et al., 2012; FISHER et al., 2014). Todavia, a concentração total e o tipo de receptor presente nas células determinarão os efeitos do TNF- α (NICASTRO et al., 2012). Portanto, baixas concentrações dessa citocina (<1,0 ng/mL) parecem estimular a diferenciação dos mioblastos, ajudar nos processos de reparação e estimular a síntese proteica, enquanto que altas concentrações inibem tais atividades (NICASTRO et al., 2012).

Considerando que a TNF- α em concentrações elevadas colabora com a degradação proteica e que idosas são pessoas que possuem um estado inflamatório constante, a alta concentração dessa citocina nessa população pode contribuir para o aparecimento e/ou agravamento da sarcopenia nessa população, especificamente (NICASTRO et al., 2012). Esse fato foi confirmado em um estudo conduzido por 16 semanas com a prática do TP, no qual mulheres idosas que tinham níveis elevados de TNF- α não aumentaram a massa livre de gordura (FISHER et al., 2014).

Do mesmo modo, a IL-6 também possui diferentes ações sobre a massa muscular, de modo que altas concentrações estimulam atrofia muscular enquanto baixas concentrações estimulam o crescimento muscular (NICASTRO et al., 2012). Estudos têm mostrado que idosos com altas concentrações de IL-6 e TNF- α apresentam menor área muscular, força reduzida e importantes reduções de tecido magro e mole apendicular (SCHAAP et al., 2006; DRAGANIDIS et al., 2016). Ademais, altas concentrações de IL-6 e PCR indicam um risco aumentado para a redução de força muscular (SCHAAP et al., 2009).

No entanto, a IL-6 possui características tanto pró-inflamatórias quanto anti-inflamatórias, dependendo do local de origem (PEDERSEN, 2013). Assim, a IL-6 é considerada uma citocina pró-inflamatória quando é produzida pelos macrófagos em resposta a uma infecção (PRATESI et al., 2013). Por outro lado, quando produzida pelo

músculo, a IL-6 é considerada uma miocina de ação anti-inflamatória, que é dependente do tempo e da quantidade de músculos envolvidos no exercício (BEAVERS et al., 2010). Vale destacar que, quando a IL-6 é liberada no organismo devido a uma infecção, observa-se um aumento concomitantemente de TNF- α . Em contrapartida, quando a IL-6 é liberada em consequência do estresse provocado pelo exercício, as concentrações de TNF- α não são alteradas (BEAVERS et al., 2010). Por fim, a IL-6 produzida pelo músculo ativa a AMPK (adenosina monofosfato proteína quinase), aumentando a captação de glicose e a oxidação de lipídeos (PRATESI et al., 2013).

Além das citocinas, a PCR também é considerada um biomarcador inflamatório bastante importante. Altas concentrações de PCR têm sido relacionadas com obesidade, síndrome metabólica, HDL-c baixa, LDL-c elevada, hábito de fumar e qualidade da alimentação (ZAKYNTHINOS e PAPPA, 2009; CORLEY et al., 2015). Além disso, concentrações elevadas de PCR apresentam associação com doenças cardiovasculares como hipertensão, aterosclerose e disfunção endotelial (REXRODE et al., 2003; ZAKYNTHINOS e PAPPA, 2009).

Adicionalmente, o estresse oxidativo (EO), caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) e os mecanismos de defesa e reparação (RADAK et al., 2008), tem sido frequentemente associado à diminuição da força em idosos e ao desenvolvimento de doenças como aterosclerose, doenças cardiovasculares e neurológicas, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer (ELAHI et al., 2009; DE SOUSA et al., 2016). Os principais radicais livres que são formados nas células são o superóxido e óxido nítrico (POWERS et al., 2011).

Nesse sentido, para combater os efeitos deletérios dos radicais livres, as células possuem dois sistemas de defesas antioxidantes denominados de enzimático e não enzimático, os quais trabalham juntos para manter o equilíbrio da quantidade de radicais livres no organismo (POWERS et al., 2011). O sistema enzimático é composto por várias enzimas antioxidantes, com destaque para a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase.

Desse modo, a SOD é a maior classe de enzimas protetoras do EO e possui três isoformas: SOD 1, 2 e 3, as quais se diferem pela localização celular e pelo metal de transição utilizado como cofator; a SOD1 necessita do cobre e zinco e localiza-se no citosol e no espaço intermembranar mitocondrial, a SOD3 também utiliza o cobre e zinco como cofator, no entanto, está localizado no espaço extracelular; enquanto a SOD2 necessita do manganês e situa-se na matriz mitocondrial. A deficiência de SOD1 está associada a um aumento acentuado do estresse oxidativo no músculo esquelético (POWERS et al., 2011).

A catalase, outra enzima importante no sistema antioxidante, por sua vez, desempenha um papel essencial na defesa das células contra o EO e localiza-se em todos os tecidos utilizando-se do ferro como cofator. Sua função é catalizar a degradação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (POWERS et al., 2011). Por fim, a glutathione peroxidase possui cinco diferentes formas que estão distribuídas pelo organismo. As glutathione peroxidase 1 e 3 estão presentes em todos os tecidos, sendo que a forma 1 está localizada na mitocôndria e no citosol, ao passo que a forma 3 encontra-se no citosol e no espaço extracelular. A glutathione peroxidase 2 encontra-se no citosol das células do intestino e do estômago. A glutathione peroxidase 4 situa-se na mitocôndria das células do coração, espermatozoides e cérebro. Por fim, a glutathione peroxidase 5 localiza-se ligada à membrana das células do fígado, rim e espermatozoide. A função dessas enzimas é catalizar a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxido orgânico em água e álcool, respectivamente (POWERS et al., 2011).

Como relação ao sistema não enzimático, a glutathione é o antioxidante mais importante para as fibras musculares. A glutathione é um tripeptídeo composto por glicina, glutamato e cisteína e é sintetizada principalmente no fígado e transportada para os tecidos via sangue (POWERS et al., 2011). A glutathione desempenha várias funções no organismo, como por exemplo: combate direto as ROS, mediante doação de um átomo de hidrogênio; preservação das vitaminas C e E em suas formas reduzidas, além de ser um substrato da glutathione peroxidase (BOUNOUS, 2000; POWERS et al., 2011).

Mais recentemente alguns estudos têm indicado que o TP pode induzir importantes benefícios em biomarcadores inflamatórios, na glicemia e no perfil lipídico (PADILHA et al., 2015b; TOMELERI et al., 2016), promovendo melhoria no estado geral de saúde da população idosa. Entretanto, as informações produzidas até o presente momento ainda são inconclusivas, o que remete a necessidade de novas investigações, na tentativa de elucidar os efeitos do TP sobre essas variáveis (BEAVERS et al., 2010). A seguir serão discutidas as implicações do envelhecimento sobre o metabolismo proteico.

2.1.3. Metabolismo Proteico

No metabolismo muscular há um equilíbrio dinâmico entre a degradação e a síntese proteica (ATHERTON e SMITH, 2012), de modo que o balanço proteico líquido nada mais é do que a diferença entre a síntese e a degradação (HULMI et al., 2010). Nesse sentido, em um indivíduo jovem, o consumo de proteínas sem a prática de um TP é capaz de manter o balanço proteico líquido positivo, ou seja, a síntese muscular proteica (anabolismo) supera a

degradação muscular proteica (catabolismo), devido à hiperaminoacidemia que é estimulante para a síntese de novas proteínas. Todavia, o idoso não utiliza de maneira eficiente os aminoácidos para a síntese muscular proteica. Essa ineficiência na utilização desses nutrientes é chamada de “resistência anabólica” (BREEN e PHILLIPS, 2011), um fenômeno que provoca um desequilíbrio entre síntese e degradação muscular proteica, facilitando a perda de massa muscular esquelética (CHURCHWARD-VENNE et al., 2014). Desde modo, a resistência anabólica implica na necessidade de doses mais elevadas de aminoácidos para se atingir as taxas máximas de síntese proteica miofibrilar e sarcoplasmática (MOORE e SOETERS, 2015).

Embora os mecanismos responsáveis pela resistência anabólica não estejam bem elucidados, alguns estudos têm sugerido como possíveis causas: dificuldade na digestão e absorção de proteínas/aminoácidos, baixa perfusão dos nutrientes no músculo, baixa captação de aminoácidos pelo tecido muscular, diferença no recrutamento muscular, tipos de fibras musculares, presença de inflamação, redução das vias sinalizadoras para síntese proteica, status hormonal, presença de doenças crônico-metabólicas, tabagismo, composição corporal e atividade física reduzida (KOOPTMAN e VAN LOON, 2009; BURD et al., 2013; CHURCHWARD-VENNE et al., 2014; MOORE et al., 2015; WALL et al., 2015). Adicionalmente, a incapacidade crônica de uma refeição mista (carboidratos e proteínas) em estimular a síntese muscular proteica em idosos, que pode ser derivada da resistência da síntese muscular proteica às ações anabolizantes de insulina não deve ser desprezada, também, como uma possível causa da resistência anabólica (DICKINSON et al., 2013).

Por outro lado, a combinação entre ingestão proteica e exercício físico tem um efeito sinérgico no aumento de massa muscular, uma vez que aumenta a síntese muscular proteica (STEPHENS e BRAUN, 2008). Adicionalmente, alguns estudos têm indicado que o momento de ingestão da proteína pode modular a resposta anabólica, tanto em adultos quanto em idosos (STEPHENS e BRAUN, 2008; IVY e SCHOENFELD, 2014). Nesse sentido, a interação entre o momento de ingestão e a quantidade de proteína a ser ofertada parecem exercer um importante papel para a regulação da capacidade do músculo em responder aos estímulos anabólicos (ARETA et al., 2013). Vale destacar que jovens e idosos possuem taxas pós-prandiais de síntese proteica muito similares (0,058%/h e 0,056%/h, respectivamente) quando a quantidade de proteína ofertada para cada faixa etária é adequada (MOORE et al., 2015).

Desse modo, apesar da importância do estímulo proporcionado pela disponibilidade de aminoácidos essenciais circulantes, existe um momento no qual o músculo se torna não-responsivo ao estímulo nutricional. Esse fenômeno é chamado de “*muscle full*”, ou seja, a síntese muscular proteica é fisicamente limitada pelo colágeno e tecido conjuntivo do

endomíscio que envolve cada fibra (MILLWARD et al., 1994). Observa-se que após duas horas de estimulação da síntese proteica por meio da ingestão de 10 g de aminoácidos essenciais (20 g de *whey protein*), os valores retornam às concentrações basais mesmo que a disponibilidade de aminoácidos permaneça constante (ATHERTON e SMITH, 2012).

Essa situação é mediada pela saturação da via de sinalização da proteína alvo da rapamicina em mamífero (*mammalian target of rapamycin complex 1* - mTORC1). A mTORC1 se desloca para o lisossoma atuando como um mecanismo de retroalimentação negativa, ou seja, ocorre uma regulação negativa no transporte e absorção dos aminoácidos essenciais, sendo estes utilizados em processos oxidativos e não mais para a síntese muscular proteica (MARGOLIS e RIVAS, 2015). A prática do TP consegue retardar o efeito *muscle full*, proporcionando uma maior captação de aminoácidos essenciais por um período maior de tempo, podendo postergar esse fenômeno por mais de 24 h em indivíduos não-treinados (ATHERTON e SMITH, 2012; BURD et al., 2013; SATO e FUJITA, 2013) e por aproximadamente 16 h em indivíduos treinados (KOOPTMAN e VAN LOON, 2009). Esse efeito proporciona um aumento da sensibilidade do tecido muscular aos aminoácidos advindo da alimentação.

Ademais, a digestibilidade e o tipo de proteína são fatores que também influenciam a síntese muscular proteica (MOORE et al., 2009). Proteínas de fácil digestão, como a WP, promovem uma maior quantidade de aminoácidos circulantes e contribuem para o aumento da síntese muscular proteica (MOORE et al., 2009; SATO e FUJITA, 2013). Nesse sentido, doses superiores a 20 g de WP após TP podem aumentar a síntese muscular proteica em idosos (YANG et al., 2012; CHURCHWARD-VENNE et al., 2014). Essa característica tem sido demonstrada especialmente na proteína do soro do leite, quando comparado a outras fontes proteicas (caseína e soja), visto que o WP contém uma quantidade superior de leucina, um aminoácido de grande importância para estimulação da síntese miofibrilar (YANG et al., 2012; SATO e FUJITA, 2013; CHURCHWARD-VENNE et al., 2014). Portanto, devido ao seu papel de destaque para o funcionamento do metabolismo proteico, o consumo alimentar com o avançar da idade será discutido na sequência.

2.1.4. Consumo Alimentar

A nutrição desempenha um importante papel na prevenção e tratamento de doenças assim como na manutenção de uma vida saudável (EDWARDS et al., 2016). Entretanto, com o avanço da idade, o padrão alimentar tende a se alterar acentuadamente, com uma redução do consumo alimentar, principalmente de proteínas (ZHU et al., 2010). No entanto, diversos fatores podem interferir na alimentação em idosos (Figura 1), desde a obtenção do

alimento até o momento de digestão e absorção, tais como: falta de apetite, dificuldades de cocção, redução da absorção de alimentos, desidratação e desnutrição (AGARWAL et al., 2013).

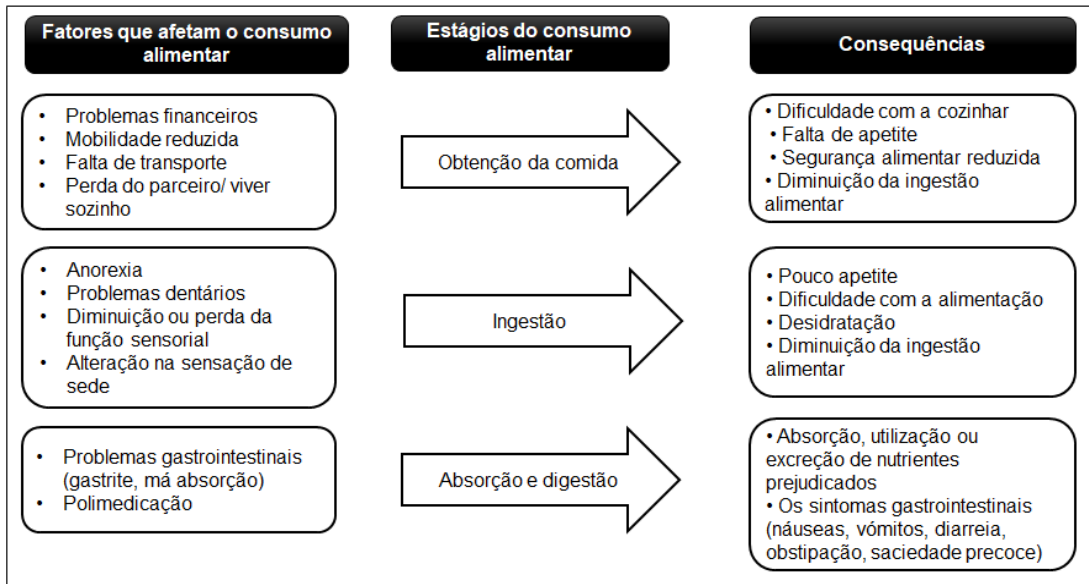


Figura 1 – Fatores que afetam o consumo de alimentos em idosos (adaptado de AGARWAL et al., 2013).

Adicionalmente, com o processo de envelhecimento, também ocorrem alterações na função do sistema gastrointestinal, que impactam diretamente na alimentação, como por exemplo, o enfraquecimento da musculatura da mandíbula, a perda de dentes, a sensação de boca seca e as próteses mal ajustadas, e a redução do tônus muscular na faringe e no esôfago, reduzindo a capacidade de mastigação e deglutição e formação do bolo alimentar (SAFFREY, 2013; FARSHIDFAR et al., 2016). Além disso, o esvaziamento gástrico retardado e a menor produção do suco gástrico também são observados nos idosos (BROWNIE, 2006; SAFFREY, 2013; FARSHIDFAR et al., 2016), contribuindo para a inadequação alimentar nessa população.

Vale ressaltar que a falta de apetite, sobretudo, em idosos, pode ser acarretada por diferentes fatores como a redução da capacidade sensorial, depressão, sentimento de solidão e abandono e, em particular, o uso de poli medicação, que muitas vezes altera não só o apetite, mas, também, a absorção dos nutrientes (interação medicamento-nutriente) (BROWNIE, 2006). Além disso, a inadequação alimentar em idosos tem sido associada com risco de quedas, qualidade de vida reduzida, risco aumentado de desenvolvimento de doenças, perda de massa muscular esquelética e maior risco de mortalidade (GENARO e MARTINI, 2010; AGARWAL et al., 2013; EDWARDS et al., 2016).

Por outro lado, idosos com dieta rica em alimentos mais saudáveis e baixa ingestão de gorduras possuem valores mais baixos de PCR (CORLEY et al., 2015). Bihuniak et al. (2016) demonstraram que mulheres idosas que aderiram a uma dieta mais saudável reduziram os fatores de risco para doenças cardiovasculares. Entretanto, como descrito anteriormente, existe uma grande dificuldade para idosos manterem uma alimentação adequada. Um estudo conduzido com idosos brasileiros revelou que nenhum participante tinha uma dieta adequada, sendo que 74,2% precisavam melhorar a alimentação e 25,8% apresentavam uma dieta totalmente inadequada, com alto consumo de carboidratos, gorduras e sódio, além de baixo consumo de carnes, ovos e frutas (CLOSS et al., 2014).

No Brasil, uma das possíveis explicações para baixa qualidade da dieta é renda familiar, visto que muitos idosos possuem uma baixa renda, dificultando a escolha e aquisição dos alimentos (BRASIL, 2011). Mesmo assim, considerando todos esses fatores, a distribuição média dos macronutrientes da população idosa brasileira está de acordo com as doses diárias recomendadas (RDA) (TRUMBO et al., 2002), apresentando uma distribuição no consumo de carboidratos, proteínas e lipídeos na ordem de 56%, 17% e 27%, respectivamente (SOUZA et al., 2015).

Com relação às proteínas, a dose recomendada para a ingestão habitual diária é de 0,8 g/kg/dia para a população em geral (TRUMBO et al., 2002). No entanto, para manutenção e proteção da massa muscular, essa quantidade recomendada parece ser insuficiente para atender as necessidades diárias da população idosa (BAUER et al., 2013; MOORE e SOETERS, 2015; GALVAN et al., 2016). Campbell et al. (2001) mostraram que idosos que seguiam as recomendações de ingestão proteica de aproximadamente 0,8 g/kg/dia tiveram redução na área de secção transversa muscular do quadríceps femoral após 14 semanas, embora sem alterações na massa corporal total, revelando que a simples manutenção da massa corporal não garante a preservação da massa muscular (BAUER et al., 2013).

As críticas quanto à recomendação da RDA são referentes à superestimação do balanço nitrogenado positivo, levando a uma subestimação das necessidades proteicas que deveriam ser de 20 a 30% maiores do que os valores recomendados (MOORE e SOETERS, 2015). Além do que a quantidade de aminoácidos que são perdidos pelas fezes e na microbiota bacteriana (MOORE e SOETERS, 2015), as mudanças que ocorrem com o avanço da idade tais como a perda progressiva de massa muscular (BAUM et al., 2016), o aumento da frequência de doenças e da massa gorda (GAFFNEY-STOMBERG et al., 2009), são fatores frequentemente desprezados para o estabelecimento dessas recomendações.

Estudos têm mostrado que a ingestão proteica diária em idosos deveria ser na ordem de 1,0 a 2,0 g/kg/dia (GAFFNEY-STOMBERG et al., 2009; BAUER et al., 2013; DEUTZ et

al., 2014; MOORE e SOETERS, 2015), com a oferta de 25 a 30 g por refeição, contendo de 2,5 a 2,8 g de leucina (BAUER et al., 2013). Tais valores parecem favorecer o aumento da massa muscular (SCOTT et al., 2010; LOENNEKE et al., 2016), o incremento da força (ISANEJAD et al., 2016; LOENNEKE et al., 2016), a melhoria da capacidade funcional (GREGORIO et al., 2014; ISANEJAD et al., 2016), a prevenção da obesidade sarcopênica (OH et al., 2016) e o aumento/manutenção da densidade mineral óssea (PROMISLOW et al., 2002; GAFFNEY-STOMBERG et al., 2009; GENARO e MARTINI, 2010).

Em resumo, o idoso necessita de um aporte proteico maior devido a vários fatores, tais como: baixa disponibilidade pós-prandial de aminoácidos, resistência insulínica, resistência anabólica, dificuldades de digestão, diminuição da perfusão sanguínea muscular, sarcopenia, aumento de biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo (BAUER et al., 2013; DEUTZ et al., 2014). Adicionalmente, o idoso necessita de uma maior quantidade de proteínas para estimular a síntese muscular proteica, especialmente a partir da ingestão de proteínas de alto valor biológico (ATHERTON e SMITH, 2012). Nesse sentido, o consumo de *whey protein* será abordado a seguir.

2.2. *Whey protein*

A proteína do soro do leite, conhecida como WP é um subproduto extraído a partir de alimentos lácteos (MARSHALL, 2004), como o leite bovino que é composto de 32 a 34 g de proteínas por litro, das quais 80% é caseína e 20% é WP (FEKETE et al., 2016a). WP é composto pelas seguintes frações proteicas: β -lactoglobulina (50-55%), α -lactalbumina (20-25%), glicomacropéptido (10-15%), imunoglobulinas (10-15%), albumina sérica (5-10%), lactoferrina (1%), lactoperoxidase (<1%) e outras proteínas pequenas, tais como: β -microglobulina, lisozima, fatores de crescimento semelhantes a insulina e γ -globulinas (MARSHALL, 2004; HULMI et al., 2010).

Portanto, WP é considerado uma boa fonte proteica e possui em média quatro vezes mais proteínas quando comparado com as porções de leite semidesnatado e ovo cozido (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição nutricional de diferentes fontes proteicas.

	Whey protein	Leite semidesnatado	Ovo cozido
	35 g	200 mL (um copo)	Unidade grande
Energia (Kcal)	130,9	81,0	72,9
Proteínas (g)	27,1	6,3	6,7
Carboidratos (g)	5,2	9,4	0,3
Gorduras (g)	0,2	1,2	4,0

Fonte: Tabela de composição alimentar IBGE/Laudo fornecido pelo laboratório de composição de alimentos/UFL

A α -lactalbumina e β -lactoglobulina são as grandes fontes de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, iso-leucina e valina). As imunoglobulinas tem um papel importante na modulação do sistema imune. A lactoferrina é um antioxidante e antibacteriano, assim como a lactoperoxidase (MARSHALL, 2004). Sendo assim, estudos sugerem que o WP possui propriedades terapêuticas distintas, que serão abordadas em seguida.

2.2.1. Capacidade antioxidante e anti-inflamatória

A WP possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (DRAGANIDIS et al., 2016). WP é rico em cisteína, que uma vez assimilada pode disponibilizar os seus próprios grupos tiol em nível plasmático e estes, no seu estado reduzido (-SH), constituem uma parte essencial da barreira antioxidante contra os radicais livres e danos nos tecidos (MARSHALL, 2004), prevenindo assim o início de EO e preservando a integridade mitocondrial (DRAGANIDIS et al., 2016). Além do mais, a capacidade antioxidante também pode ser oriunda da estimulação da síntese endógena de GSH (MARSHALL, 2004), um tripeptídeo composto por glicina, glutamato e cisteína, aminoácidos presentes na WP. Essa capacidade tem sido investigada no combate ao câncer (BOUNOUS, 2000), no tratamento da esteatose hepática não alcoólica (CHITAPANARUX et al., 2009) e ao deficit de glutaniona em pacientes com vírus da imunodeficiência humana (MICKE et al., 2001). Não obstante, a lactoferrina tem apresentado propriedades anti-inflamatórias.

Nesse sentido, WP combinada com o exercício pode maximizar a capacidade anti-inflamatória, com redução de TNF- α e IL-6 (SUGAWARA et al., 2012). Outros estudos atribuem a capacidade anti-inflamatória como consequência secundária à perda de massa corporal associada ao consumo de WP (PAL e ELLIS, 2010; SOUSA et al., 2012). Sendo assim, WP pode contribuir para a melhoria do estado geral de saúde, aumentando a produção endógena de enzimas antioxidantes (SOD, catalase e GPx), reduzindo as

concentrações de biomarcadores de EO e de perfil inflamatório em obesos, diabéticos e pacientes com problemas cardiovasculares (PAL e ELLIS, 2010, 2011; SOUSA et al., 2012). A seguir será abordado o papel de WP na obesidade e comorbidades.

2.2.2. Obesidade e comorbidades

Estudos têm revelado a importante participação da WP no combate à obesidade, atuando como agente saciador (ZEMEL, 2004; FOLTZ et al., 2008; VELDHORST et al., 2009), visto que proteínas e aminoácidos estão envolvidos no controle da motilidade gástrica e intestinal, bem como na secreção pancreática, sendo mais potentes na indução de saciedade do que carboidratos ou gorduras (VELDHORST et al., 2009). Além disso, WP contém glicomacropéptídeos, potentes estimuladores da colecistocinina, um hormônio secretado por células I do intestino delgado que tem como uma das suas principais funções controlar a saciedade (FOLTZ et al., 2008; VELDHORST et al., 2009). Outra forma de modulação da saciedade é via triptofano (presente no WP), precursor de serotonina e importante modulador do apetite (VELDHORST et al., 2009).

As proteínas do soro do leite também são ricas em cálcio (aproximadamente 600 mg/100 g). O alto teor de cálcio na dieta reduz as concentrações dos hormônios calcitrópicos (paratireoide e 1,25 (OH) 2D), que atuam no transporte de cálcio para os adipócitos. Os hormônios calcitrópicos atuam na lipogênese e na lipólise, aumentando a reserva de gordura durante dietas com baixa ingestão de cálcio (ZEMEL, 2004). Sendo assim, altas concentrações de cálcio intracelular nos adipócitos levam a redução de lipogênese e aumento da lipólise, visto que o cálcio intracelular é um regulador chave do metabolismo dos lipídeos. Portanto, se a atividade hormonal dos calcitrópicos está reduzida, há um aumento de cálcio no adipócito acarretando diminuição na deposição de gordura nos tecidos adiposos. Esse efeito tem sido observado, a priori, no cálcio advindo de produtos lácteos (ZEMEL, 2004).

Ademais, acredita-se que WP poderia contribuir para a redução da massa corporal aumentando a sensibilidade a leptina, visto que a leucina pode estimular a secreção de leptina via nutriente e a insulina por meio da mTOR (LI et al., 2011). Adicionalmente, WP foi recentemente apontada como um suplemento que pode contribuir para a redução da pressão arterial (KAWASE et al., 2000; PAL e ELLIS, 2010; FEKETE et al., 2016a), em virtude da presença de α -lactalbumina e β -lactoglobulina, ambos precursores dos peptídeos que afetam o sistema renina-angiotensina (MACWAN et al., 2016), além de melhorar a rigidez arterial (FEKETE et al., 2016a). Os peptídeos lactocininas inibem a ação da enzima conversora de angiotensina, que tem um papel fundamental na formação da angiotensina II

(potente vasoconstritor) e inibição da bradicinina (potente vasodilatador) (FITZGERALD et al., 2004). Alguns estudos têm mostrado que o consumo de WP pode auxiliar, também, na redução de LDL, triglicerídeos e colesterol total, em diferentes populações como jovens, pré-hipertensos, hipertensos e obesos (KAWASE et al., 2000; FEKETE et al., 2016a; ZHANG et al., 2016).

WP possui um efeito insulínico pós-prandial em virtude, provavelmente, da rápida absorção dos aminoácidos de cadeia ramificada, reduzindo a captação da glicose pelo músculo (LI et al., 2011). Ademais a leucina fornece substratos para gliconeogênese, além de regular o uso da glicose pelo músculo por meio da estimulação do ciclo glicose-alanina (LI et al., 2011). Dietas com maior relação proteínas/carboidratos parecem ser mais eficientes no controle da glicemia, em razão de que a concentração de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) no plasma pode maximizar a ação do fígado no controle glicêmico (ESMARCK et al., 2001; LAYMAN et al., 2003). O papel da WP na síntese proteica será discutido a seguir.

2.2.3. Síntese proteica

WP é rica em aminoácidos essenciais, principalmente os aminoácidos de cadeia ramificada, que não são metabolizados no fígado, e chegam a corrente sanguínea e aos músculos praticamente na mesma quantidade que foram consumidos (STOKES et al., 2018). Entre os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), a leucina ocupa papel de destaque, visto que desempenha uma importante função na síntese muscular proteica (DEVRIES e PHILLIPS, 2015).

Portanto, a leucina participa da ativação do receptor de sinalização mTORC1, que é uma proteína/enzima e uma via de sinalização chave na regulação do crescimento e sobrevivência celular e, também, das alterações induzidas pelo exercício e nutrientes na síntese muscular proteica (ATHERTON e SMITH, 2012; MARGOLIS e RIVAS, 2015). Sendo assim, a leucina ativa a mTORC1 que fosforila a proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E (4EBP1), um inibidor de fatores de iniciação eucarióticos. Após a fosforilação, a 4EBP1 se dissocia dos fatores de iniciação eucarióticos, que estão então livres, em particular eIF4E, para iniciar a tradução de proteínas relacionadas com o aumento da massa muscular esquelética (MITCHELL et al., 2016). A mTORC1 também estimula p70 ribossomal S6 quinase (p70S6K) para fosforilar proteínas ribossomais, ajudando ainda mais a iniciação da tradução (MARGOLIS e RIVAS, 2015). Assim, mTORC1 e p70S6 k1 são fundamentais para a hipertrofia muscular, uma vez que ativam a tradução do RNA-mensageiro, que codifica as proteínas necessárias para a síntese proteica.

Vale destacar que, o maior consumo de proteínas, especialmente aminoácidos essenciais, estimula uma maior secreção de IGF-1, que por sua vez contribui para uma maior síntese proteica (WOLFE et al., 2008). Além disso, com o envelhecimento, a sensibilidade do músculo esquelético aos aminoácidos essenciais também parece diminuir, principalmente quando pequenas quantidades são ofertadas, contribuindo para a etiologia da sarcopenia, além de acelerar a velocidade da sarcopenia em idosos, os quais rotineiramente consomem pequenas quantidades de proteína (DICKINSON et al., 2013). No entanto, estudos indicam que a ingestão de 30 a 45 g de proteína de alta qualidade, ou uma quantidade maior do que 2 g de leucina pode ultrapassar esta resistência ao aminoácido e estimular a síntese muscular proteica em idosos de forma semelhante a adultos jovens (DICKINSON et al., 2013; DEVRIES e PHILLIPS, 2015; LOENNEKE et al., 2016).

Portanto, WP é uma fonte proteica de alta digestibilidade e sua capacidade aumentada de digestão facilita a entrada dos aminoácidos na corrente sanguínea, sendo essa característica fundamental para o metabolismo proteico de idosos, que já possuem uma função digestiva e absorviva reduzida (DEVRIES e PHILLIPS, 2015).

2.3. Treinamento com pesos em idosos

A prática regular de atividade física é uma estratégia não-farmacológica bastante interessante para preservação das funções físicas e funcionais com o avanço da idade (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009; SEALS et al., 2016), aumentando a expectativa e a qualidade de vida dessa população (HUPIN et al., 2015). Entre os diferentes tipos de exercícios físicos, o TP tem sido a estratégia mais frequentemente recomendada para a população idosa, em virtude dos diversos benefícios proporcionados à sua saúde (PADILHA et al., 2015a, 2015b; RIBEIRO et al., 2015a, 2016a; SOUZA et al., 2016; TOMELERI et al., 2016).

As recomendações do Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM) para a prescrição de TP para idosos incluem a realização de 8-10 exercícios de duas a três vezes por semana (NELSON et al., 2007; AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009). Em idosos, em particular, o TP tem sido efetivo para diferentes finalidades, tais como: aumento da massa muscular esquelética (RIBEIRO et al., 2016a; SOUZA et al., 2016) e força muscular (PETERSON et al., 2010; PADILHA et al., 2015a; RIBEIRO et al., 2015a), melhora da qualidade muscular (RIBEIRO et al., 2016b), aumento do ângulo de fase (DOS SANTOS et al., 2016; SOUZA et al., 2016), melhora da hidratação celular (DOS SANTOS et al., 2016; SOUZA et al., 2016), aumento da densidade mineral óssea (AHN e KIM, 2016; HUOVINEN et al., 2016), aumento da massa livre de gordura (RIBEIRO et al., 2015a, 2016a), redução

da pressão arterial em repouso (MacDONALD et al., 2016), e melhora da capacidade funcional (CIOLAC e RODRIGUES-DA-SILVA, 2016).

Existem indicativos de que a prática regular de TP possa, também, auxiliar na redução da gordura corporal (RIBEIRO et al., 2015a, 2016b; SOUZA et al., 2016; TOMELERI et al., 2016), melhora do comportamento metabólico mediante redução nas concentrações de biomarcadores inflamatórios (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016), de estresse oxidativo (PADILHA et al., 2015a; RIBEIRO et al., 2017b), de perfil lipídico e glicemia de jejum (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016). Todavia, tais adaptações proporcionadas pelo TP podem ser influenciadas pela idade, estado nutricional, fatores genéticos e por outros fatores que podem interferir no *turnover* de proteínas musculares (síntese e degradação proteica) (FISHER et al., 2014).

Nesse sentido, os dois fatores determinantes da síntese muscular proteica são o exercício físico e a disponibilidade de nutrientes (ATHERTON e SMITH, 2012). Assim, estudos têm revelado que a combinação entre o exercício físico e a dieta pode proporcionar benefícios ainda maiores em desfechos relacionados à saúde como melhora dos níveis de HDL-c, redução de LDL-c, colesterol total e triglicérido, aumento ou manutenção da massa muscular esquelética, redução de massa gorda, redução da IL-6 e PCR, bem como atenuação dos efeitos da TNF- α (WHITE e JACQUES, 2007; NICASTRO et al., 2012; RIZZOLI et al., 2014; KIM et al., 2016).

O músculo é um tecido complexo, essencial para a vida e para a manutenção da saúde, além de ser um tecido altamente maleável, capaz de se adaptar a estímulos externos para atender as demandas estruturais, funcionais e metabólicas (NICASTRO et al., 2012; MARGOLIS e RIVAS, 2015), o que se denomina de “plasticidade” (NICASTRO et al., 2012). O músculo esquelético possui várias funções no organismo. Do ponto de vista mecânico, converte a energia química em energia mecânica, gerando assim energia necessária para as atividades básicas como manter a postura, realizar movimentos para as atividades diárias (andar, conversar, limpar casa) e manter a independência funcional (FRONTERA e OCHALA, 2015). Além disso, a massa muscular esquelética contribui para o metabolismo energético, visto que é um grande armazenador de aminoácidos e carboidratos, e também contribui para a regulação térmica (FRONTERA e OCHALA, 2015).

O TP proporciona hipertrofia muscular (FRONTERA e OCHALA, 2015), que se caracteriza pelo aumento do tamanho das fibras musculares, o que acontece como consequência do aumento da síntese proteica. Existem algumas teorias que explicam os processos adaptativos produzidos pelo TP no que tange ao aumento da síntese proteica. Um delas refere-se ao fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), o qual é ativado pelo TP. Assim, o IGF-1 liga-se ao seu receptor no sarcolema ativando a proteína

serina/treonina quinase, que em consequência ativa a mTOR (FRONTERA e OCHALA, 2015). Outra forma de ativação dessa via de sinalização proteica é mediante a disponibilidade de leucina. Dessa forma, abordaremos na sequência os possíveis efeitos da associação entre TP e WP em idosos.

2.3.1. Treinamento com pesos e suplementação de *whey protein* em idosos

Recentes metas-análise investigaram o efeito da suplementação de proteínas associada ao TP na população idosa. As meta-análises de Cermak et al. (2012) e Finger et al. (2015) sugerem que a suplementação de proteínas, quando combinada com TP, aumenta a massa livre de gordura em idosos.

Recentemente, Liao et al. (2017) investigaram também os efeitos da suplementação proteica, advinda de diversas origens, associada ao TP sobre a composição corporal e capacidade funcional em idosos obesos e com sobrepeso. A suplementação proteica foi associada ao aumento da massa livre de gordura (0,58kg; 95% CI: 0,32 – 0,84), volume muscular (1,23; 95% CI: 0,50 – 1,96) e força de membros inferiores (0,69; 95% CI: 0,39 – 0,98) em intervenções de média ($\geq 12 < 24$ semanas) e longa (≥ 24 semanas) duração. Além disso, a suplementação proporcionou a redução de massa gorda (relativa e absoluta) e melhora da capacidade funcional (avaliada pelo *Short Physical Performance Battery test*) independente do período de intervenção. Os autores também concluíram os ganhos em massa magra foram maiores em homens idosos do que em mulheres, contudo ainda há poucos estudos somente com mulheres.

Por outro lado, Hidayat et al. (2017) reportaram que a suplementação de WP associada ao TP aumentou a massa livre de gordura em idosos (0,74 kg; 95% CI 0,30 – 1,17 kg), sem efeito sobre a massa gorda. Desse modo, o Quadro 1 apresenta uma síntese dos estudos que avaliaram a suplementação de WP associada ao TP em idosos. Embora em grande parte dos estudos a efetividade da suplementação proteica sobre diversos parâmetros não tenha sido confirmada, a dose da suplementação, bem como o momento ofertado e o nível de treinabilidade podem explicar, pelo menos em parte, tais resultados.

Assim, considerando que o idoso possui uma resistência anabólica que implica na utilização de doses elevadas, ou seja, acima de 30 g (ATHERTON e SMITH, 2012; CHURCHWARD-VENNE et al., 2016), de proteínas para estimulação da síntese proteica, muitos dos estudos disponíveis com idosos ofertaram quantidades inferiores a 20 g (CANDOW et al., 2006; ARNARSON et al., 2013; RAMEL et al., 2013; KARELIS et al., 2015). Por outro lado, somente três estudos que ofertaram doses de 35 g de WP não encontraram efeitos ergogênicos (ELIOT et al., 2008; BEMBEN et al., 2010; VILLANUEVA et

al., 2014). Possíveis explicações para esses resultados conflitantes podem ser a sobreposição de estímulos anabolizantes, o nível de treinamento e o tempo de ingestão de nutrientes (THALACKER-MERCER et al., 2009; ARAGON e SCHOENFELD, 2013; RIBEIRO et al., 2015b).

Vale ressaltar que a sobreposição de estímulos anabolizantes (alimentação e treinamento) pode acarretar resultados conflitantes, uma vez que em indivíduos não-treinados iniciando um programa de TP, a estimulação fornecida pelo TP pode superar o estímulo proveniente da dieta (considerando uma ingestão proteica e de energia estiver adequada) (THALACKER-MERCER et al., 2009). Nesse sentido, Morton et al. (2017) mostraram que o status do treinamento influencia a eficácia da suplementação proteica nas variáveis de composição corporal e força.

Além disso, outro fator que precisa ser mais bem investigado é o momento da ingestão proteica na condição treinada. Embora uma meta-análise tenha indicado que não há diferenças entre o consumo antes ou após o TP (SCHOENFELD et al., 2013a), a combinação de diversas fontes proteicas (WP, aminoácidos, leite, caseína), diferentes grupos etários (jovens, idosos, atletas) e de indivíduos com diferentes níveis de aptidão física dificulta uma interpretação mais consistente dos resultados. Uma síntese dos estudos que investigaram o uso de suplementação com WP associado com TP em idosos é apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Descrição dos estudos com suplementação com *whey protein* associada com treinamento com pesos em idosos.

Estudo	Amostra	Duração	Exercícios	Dose	Placebo/ISO	Variáveis	Métodos	Efeitos Ergogênicos
Arnarson et al. (2013)	67 homens 94 mulheres NT = 65 a 91 anos	3 dias/sem x 12 semanas	10	20 g Pós-treino	CHO Sim	Composição corporal Capacidade funcional Força de quadríceps	DEXA TUG Caminhada de 6 min Dinamômetro isocinético	Não
Bell et al. (2017)	49 homens NT = 73 ± 1 anos	2 dias/sem x 12 semanas	04	30 g Duas vezes ao dia	CHO Não	Força muscular Capacidade aeróbica Capacidade funcional Composição corporal Parâmetros bioquímicos	Teste de 1-RM Teste de VO ₂ max TUG DEXA Coleta de sangue	Não
Bemben et al. (2010)	42 homens NT = 48 a 72 anos	3 dias/sem x 14 semanas	06	35g Pós-treino	CHO Não	Força muscular Massa magra	Teste de 1-RM DEXA	Não
Candow et al. (2006)	38 homens NT = 59 a 76 anos	3 dias/sem x 12 semanas	9	0,3 g/kg Pré ou Pós-treino	Água saborizada Não	Tecido magro Espessura muscular Força muscular Degradação miofibrilar	Bod Pod Ultrassom Teste de 1-RM Coleta de urina	Não

Nota. Bod Pod: pletismografia por deslocamento de ar; CHO: carboidratos; DEXA: absorptometria radiológica de dupla energia; ISO: isocalórico; NT: não treinados; N/D: não declarado; RM: repetição máxima; Sem: semana; TUG: *Timed up-and-go test*; VO₂max: consumo máximo de oxigênio.

Quadro 1. Descrição dos estudos com suplementação com *whey protein* associada com treinamento com pesos em idosos (continuação).

Estudo	Amostra	Duração	Exercícios	Dose	Placebo/ISO	Variáveis	Métodos	Efeitos Ergogênicos
Chalé et al. (2013)	33 homens 47 mulheres NT = 70 a 85 anos	3 dias/sem x 24 semanas	05	20 g Diariamente Café da manhã e pós-treino	CHO Sim	Força muscular Capacidade funcional Composição corporal	Teste de 1-RM SPPB DEXA Tomografia computadorizada	Não
Collins et al. (2016)	18 homens /mulheres NT = 70 anos	2 dias/sem x 14 semanas	10	N/D	WP N/D	Capacidade funcional Composição corporal Parâmetros bioquímicos	Teste de equilíbrio DEXA Coleta de sangue e urina	Não
Eliot et al. (2008)	42 homens NT = 42 a 78 anos	3 dias/sem x 14 semanas	08	35 g Pós-treino	Gatorade Não	Composição corporal ACT, AEC, AIC	DEXA BIA	Não
Fernandes et al. (2018)	32 mulheres T = 67,6 ± 4,0 anos	3 dias/sem x 12 semanas	08	35 g Pós-treino	CHO Sim	Composição corporal Força muscular CC, CQ, RCQ Parâmetros bioquímicos	DEXA Volume de treino Antropometria Coleta de sangue	Sim

Nota. ACT: água corporal total; AIC: água intracelular; AEC: água extracelular; BIA: bioimpedância; CC: circunferência de cintura; CHO: carboidratos; CQ: circunferência de quadril; DEXA: absorptometria radiológica de dupla energia; ISO: isocalórico; NT: não-treinados; T: treinadas; RM: repetição máxima; Sem: semana; SPPB: *short physical performance battery test*; RCQ: relação cintura/quadril.

Quadro 1. Descrição dos estudos com suplementação com *whey protein* associada com treinamento com pesos em idosos (continuação).

Estudo	Amostra	Duração	Exercícios	Dose	Placebo/ISO	Variáveis	Métodos	Efeitos Ergogênicos
Karelis et al. (2015)	23 homens 76 mulheres NT = 65 a 88 anos	3 dias/sem x 135 dias	06	20 g (10 g no café da manhã e 10 g uma hora após o treino)	Caseína Sim	Composição corporal Força muscular	DEXA Teste de 1-RM	Sim
Ramel et al. (2013)	99 homens 138 mulheres NT = 65 a 92 anos	3 dias/sem x 12 semanas	-	20 g Pós-treino	CHO Sim	Composição corporal Capacidade funcional CC Creatinina sérica TFG	DEXA TUG Caminhada de 6 minutos Antropometria Coleta de sangue	Não
Sugihara et al. (2017)	31 mulheres T = 67,4 ± 4,0 anos	3 dias/sem x 12 semanas	08	35 g Pós treino	CHO Sim	Composição corporal Força muscular Qualidade muscular	DEXA Teste de 1-RM Razão massa magra/força	Sim
Villanueva et al. (2014)	22 mulheres NT = 68,1 ± 6,1 anos	3 dias/sem x 12 sem	5 a 6	35 g Diariamente Pós-treino	Não	Composição corporal Capacidade aeróbica Capacidade funcional Força muscular	DEXA Teste de VO _{2max} Teste de Margaria Teste de 1-RM	Não

Nota. CC: circunferência de cintura; CHO: carboidratos; DEXA: absorptometria radiológica de dupla energia; ISO: isocalórico; NT: não treinados; RM: repetição máxima; Sem: semana T: treinadas; TFG: taxa de filtração glomerular; TUG: *Timed up-and-go test*; VO_{2max}: consumo máximo de oxigênio.

3 OBJETIVOS

Analisar os efeitos da suplementação de *whey protein* consumida imediatamente antes ou após sessões de TP, por mulheres idosas treinadas, sobre:

- a massa muscular, força muscular e capacidade funcional (Artigo 1).
- a hidratação celular e o ângulo de fase (Artigo 2).
- o perfil metabólico e os marcadores inflamatórios (Artigo 3).
- os biomarcadores de estresse oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes (Artigo 4).

4 MÉTODOS

4.1. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo com delineamento longitudinal, duplo-cego, aleatorizado e controlado por placebo, com duração total de 26 semanas, divididos em duas etapas. Na etapa 1 (semanas 1–10), as participantes selecionadas passaram por avaliações basais (Avaliação 1) para a determinação da força, composição corporal, marcadores sanguíneos e o consumo alimentar. Após essa avaliação, as idosas participaram de um programa de TP composto por oito exercícios que foram executados em três séries de 10 repetições máximas (RM), por oito semanas (Intervenção 1), para equiparação do nível de aptidão física das participantes.

Após este período de TP supervisionado, iniciou-se a etapa 2 (semanas 11–26), na qual as participantes foram submetidas a novas avaliações (Avaliação 2). A partir daí as voluntárias foram separadas aleatoriamente, em três diferentes grupos, a saber: WP-PLA (suplementação de *whey protein* pré-exercício e placebo pós-exercício), PLA-WP (placebo pré-exercício e suplementação de *whey protein* pós-exercício) e PLA-PLA (placebo pré e pós-exercício). A aleatorização foi balanceada pela força muscular relativa, ou seja, a força total obtida pelo teste de 1-RM dividida pela massa corporal total. Em seguida, foi feito um sorteio para atribuir cada intervenção a cada grupo por um pesquisador de fora da equipe.

Na segunda etapa, as participantes seguiram o mesmo protocolo de treino, independente do grupo que estavam alocadas. Por fim, a bateria de testes e medidas utilizada nas avaliações anteriores foi repetida (Avaliação 3). A Figura 2 apresenta o delineamento experimental adotado para o presente estudo.

4.2. Participantes

O recrutamento dos participantes foi feito por meio de anúncios em jornais e rádio. A amostra foi então selecionada preliminarmente por meio de entrevista e anamnese clínica. Como critérios iniciais de inclusão, os participantes deveriam ser do sexo feminino, ter idade igual ou superior a 60 anos, ser fisicamente independente e livre de qualquer disfunção cardíaca ou renal. Como critério de exclusão as idosas não poderiam ter uma aderência inferior a 85% nas sessões de treinamento. As participantes selecionadas foram incluídas no estudo somente após serem avaliadas por um médico cardiologista e liberadas sem restrição para a participação em programa de TP. A Figura 3 apresenta o fluxograma do estudo.

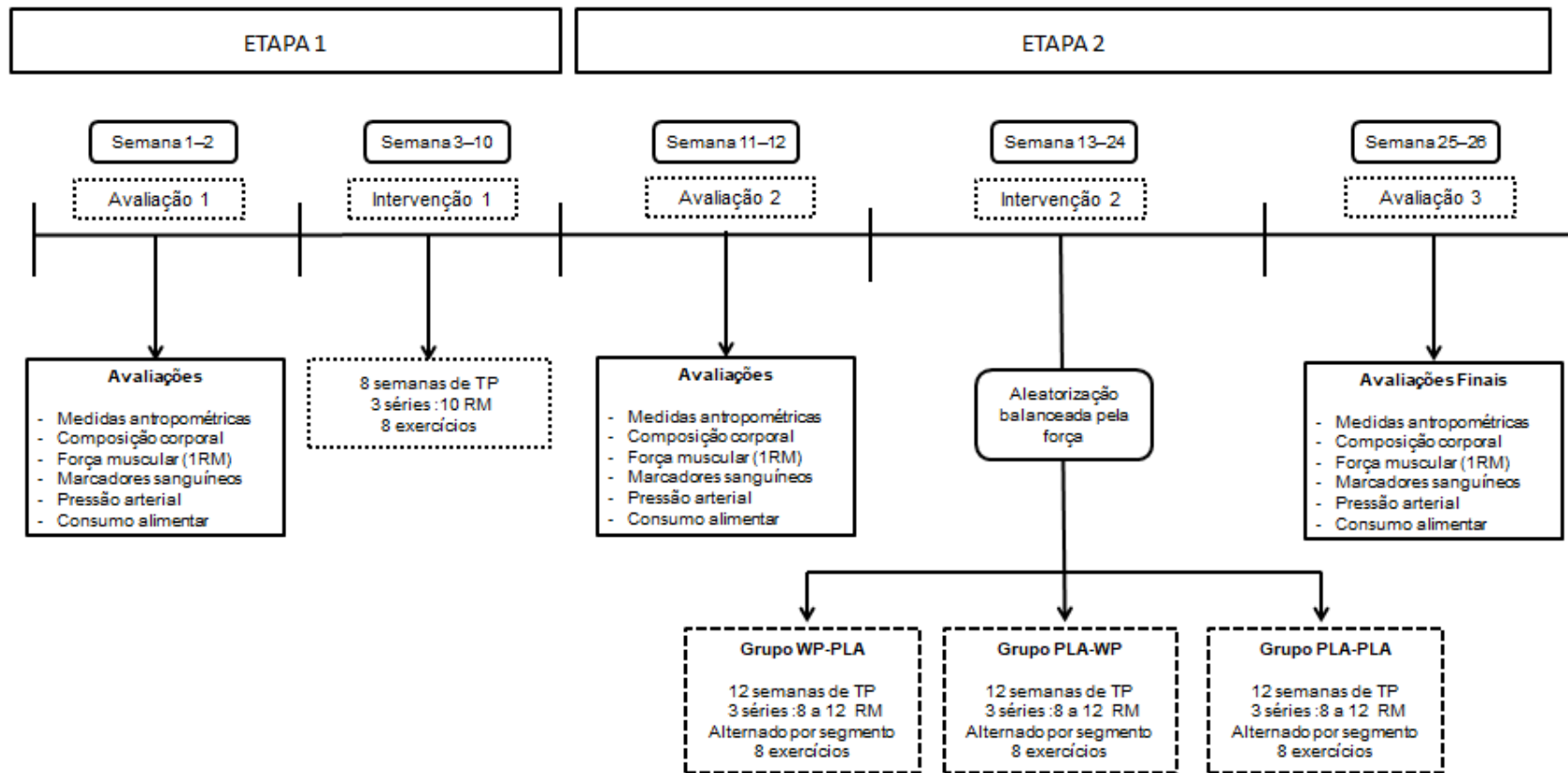


Figura 2 – Delineamento experimental. TP = treinamento com pesos. WP-PLA = ingestão de *whey protein* antes e placebo imediatamente após sessão de TP. PLA-WP = ingestão de placebo antes e *whey protein* imediatamente após sessão de TP. PLA-PLA = ingestão de placebo antes e imediatamente após sessão de TP.

O cálculo do tamanho da amostra foi estabelecido por meio do programa G*Power (versão 3.0.10, Alemanha), utilizando como base o artigo do Borsheim et al. (2008). Considerou-se a probabilidade de erro α de 0,05, poder estatístico de 80% e tamanho do efeito de 0,33. Deste modo, chegou-se a um número mínimo de 72 sujeitos, o qual se adicionou uma porcentagem de 15% referente a possível perda amostral. Dessa forma, 83 sujeitos iniciaram o estudo, sendo que na segunda fase, após as perdas ($n = 13$), 70 idosas foram aleatorizadas em três grupos.

Após receberem informações sobre a finalidade e os procedimentos do estudo, todas as participantes selecionadas assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina, de acordo com as normas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos (Anexo B).

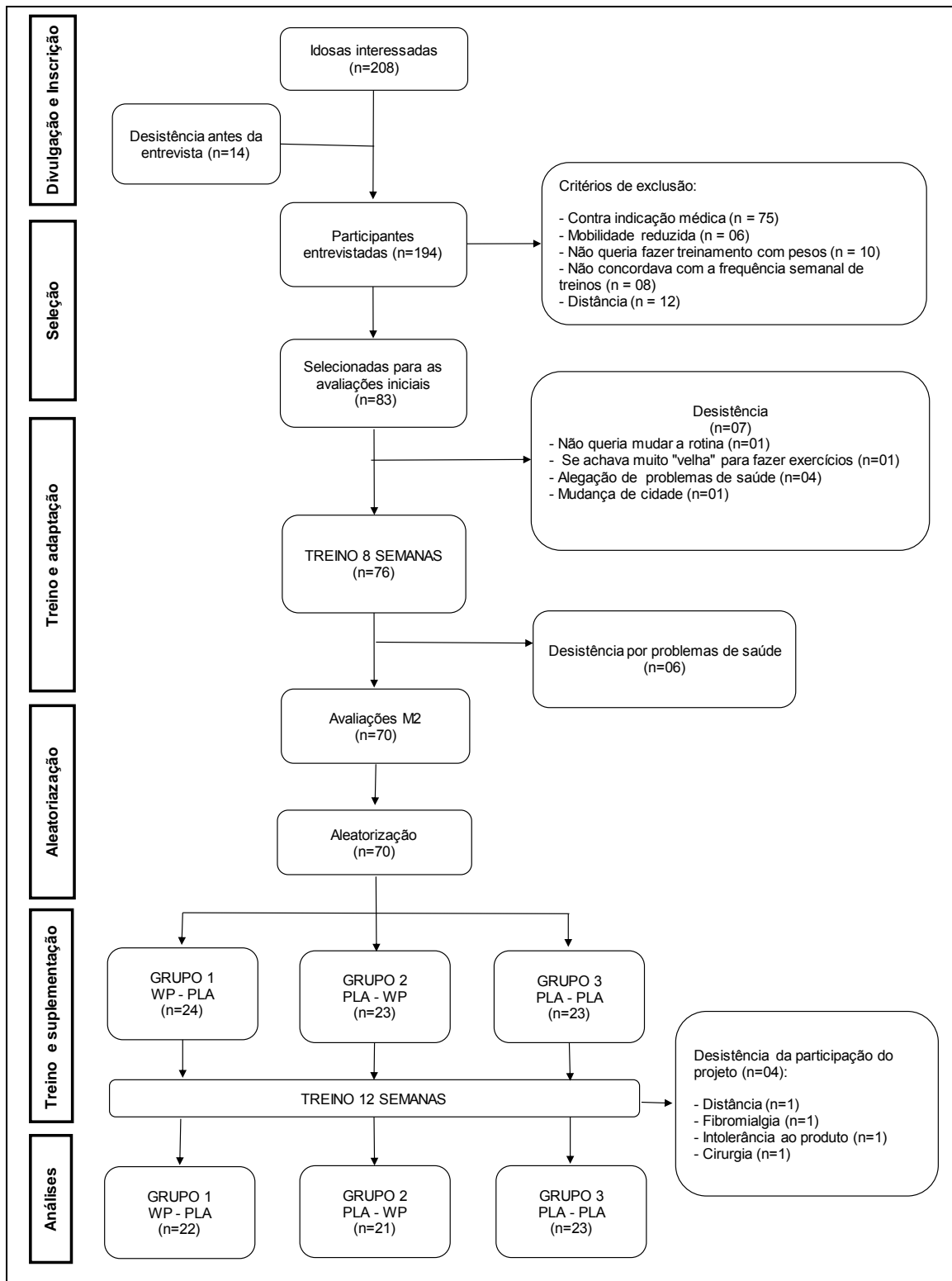


Figura 3 – Fluxograma do estudo.

4.3. Medidas antropométricas e de composição corporal

4.3.1. Antropometria

A massa corporal foi mensurada em uma balança de leitura digital (Balmak, modelo Classe III, Labstore, Curitiba, Paraná, Brasil), com escala de 0,1 kg, ao passo que a estatura foi determinada por meio de um estadiômetro acoplado à mesma, com escala de 0,1 cm, com selo do INMETRO. A partir dessas medidas, foi calculado o índice de massa corporal, por meio da razão entre a massa corporal e o quadrado da estatura, sendo a massa corporal expressa em quilogramas (kg) e a estatura em metros (m).

As circunferências de cintura e quadril foram determinadas por meio de uma fita métrica flexível e inelástica, com escala de 0,1 cm. A circunferência de cintura foi obtida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, no momento da expiração. A circunferência de quadril foi mensurada na região de maior perímetro entre a cintura e a coxa. Duas medidas foram utilizadas para a medida de cada circunferência. Nas situações nas quais a diferença entre as medidas foi superior a 0,5 cm uma terceira medida foi realizada, com o valor da mediana sendo registrado (GORDON et al.,1988). Todas as medidas foram realizadas pelo mesmo avaliador.

Os coeficientes de reprodutibilidade indicaram em um erro padrão de medida (EPM) de 0,51 cm e um coeficiente de correlação intraclasse (CCI) = 0,99 para circunferência da cintura e EPM = 0,38 cm e CCI = 0,99 para circunferência de quadril.

4.3.2. Composição corporal

Absortometria radiológica de dupla energia (DEXA) foi utilizada para a avaliação da composição corporal. As medidas de DEXA foram realizadas em um equipamento da marca Lunar (Prodigy, modelo GE Healthcare, ID 14739, Madison, WI, USA), mediante escaneamento de corpo inteiro. A calibragem do equipamento seguiu as recomendações do fabricante. Tanto a calibragem quanto as análises foram realizadas por um técnico do laboratório com experiência nesse tipo de avaliação. As participantes foram submetidas aos exames trajando roupas leves, descalças e sem portar nenhum objeto metálico ou qualquer outro acessório junto ao corpo. As idosas permaneceram deitadas em decúbito dorsal e imóveis, com os braços ao lado do corpo da posição de supinação, sobre a mesa do equipamento até a finalização da medida. Após a varredura de corpo inteiro, o programa forneceu os dados relativos ao tecido gordo, tecido ósseo e tecido magro e mole, para o

corpo todo e regiões específicas (tronco e membros superiores e inferiores). Os membros foram demarcados e separados do tronco e da cabeça por linhas padrões gerados pelo *software* do próprio equipamento. As linhas foram ajustadas por um técnico em radiologia, por meio de pontos anatômicos específicos, conforme descrição apresentada no manual do equipamento. A massa muscular foi estimada a partir da quantificação do tecido magro e mole apendicular, mediante a utilização da equação preditiva proposta por Kim et al. (2004), a saber:

$$\text{Massa muscular esquelética (kg)} = (1,1896 \times \text{massa isenta de gordura e osso apendicular}) - 1,6534$$

Para os fins do presente estudo, as medidas de reprodutibilidade indicaram EPM = 0,24 kg e CCI = 0,995 para massa muscular e EPM = 0,10 kg e CCI = 0,999 para massa gorda.

A quantidade de água corporal total e suas frações intracelular e extracelular foram estimadas por bioimpedância espectral, utilizando um analisador multifrequencial (BIS, Xitron Hydra, modelo 4200, Xitron Technologies, San Diego, CA, EUA). As participantes foram posicionadas em decúbito dorsal, em uma maca isolada de condutores elétricos, com as pernas abduzidas num ângulo de 45°. Após a limpeza da pele com álcool, dois eletrodos foram colocados na superfície da mão direita e dois no pé direito, de acordo com os procedimentos descritos na literatura (SARDINHA et al., 1998). Na tentativa de minimizar possíveis erros de estimativa, as idosas foram orientadas a urinar cerca de 30 min antes da realização das medidas, absterem-se da ingestão de alimentos ou bebidas nas últimas oito horas, evitar a prática de exercícios físicos vigorosos por pelo menos 24 h, absterem-se do consumo de bebidas alcoólicas e cafeinadas por no mínimo 48 h. A coleta foi realizada no período matutino.

Adicionalmente, medidas de resistência e reatância também foram utilizadas para determinação do ângulo de fase, de acordo com a seguinte equação:

$$\hat{\text{Ângulo de fase}} = [(\text{arco-tangente}(\text{resistência/reatância}) \times 180^\circ/\pi)].$$

Os coeficientes de reprodutibilidade indicaram EPM = 0,42 L e CCI = 0,937 para água corporal extracelular, EPM = 0,48 L e CCI = 0,965 para água corporal intracelular; EPM = 0,71 L e CCI = 0,967 para água corporal total; EPM = 17,83 ohms e CCI = 0,903 para resistência; EPM = 2,20 ohms e CCI = 0,871 para reatância; EPM = 0,13 graus e CCI = 0,939 para ângulo de fase.

4.4. Força muscular

Testes de uma repetição máxima (1-RM) foram aplicados em três exercícios para a avaliação da força máxima dinâmica nos segmentos do tronco, membros inferiores e membros superiores. A ordem de execução dos exercícios testados foi a seguinte: supino vertical, cadeira extensora e rosca *scott*, respectivamente. As idosas foram instruídas previamente sobre todos os procedimentos e técnicas a serem exigidas nos testes e, em seguida, foram submetidas a três sessões de testagem, que foram realizadas no período da manhã, com intervalo de 48 h entre cada sessão (AMARANTE DO NASCIMENTO et al., 2013). Em cada sessão de testagem foi realizado um aquecimento anterior ao início da primeira tentativa, para cada exercício, por meio da realização de uma série de 6 a 10 repetições com aproximadamente 50% da carga a ser utilizada na primeira tentativa (AMARANTE DO NASCIMENTO et al., 2013). Após um intervalo de dois minutos era executada a primeira tentativa.

Todas participantes tiveram três tentativas para cada exercício com intervalos de três a cinco minutos entre elas. Para cada tentativa, as idosas foram encorajadas a realizar duas repetições. Quando duas repetições eram completadas de forma correta, a carga era aumentada para a próxima tentativa. No entanto, quando nenhuma repetição era completada, a carga era reduzida para a próxima tentativa. A carga registrada como 1RM foi aquela na qual cada participante conseguiu completar corretamente uma única repetição máxima (AMARANTE DO NASCIMENTO et al., 2013). Dois avaliadores conduziam os testes de 1-RM, em cada exercício, em todos os momentos do estudo.

Os coeficientes de reprodutibilidade indicaram EPM = 0,46 kg e CCI = 0,97 para supino vertical, EPM = 1,67 kg e CCI = 0,91 para cadeira extensora e EPM = 0,93 kg e CCI = 0,93 para rosca *scott*.

4.5. Biomarcadores sanguíneos

Coletas de sangue foram realizadas por três experientes técnicos do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, nos diferentes momentos do estudo, nas primeiras horas da manhã, com as participantes respeitando um período de jejum de 12 h. Amostras de 14 ml de sangue venoso foram obtidas na porção antecubital. Para a coleta de sangue as idosas foram mantidas sentadas em uma cadeira, com o antebraço apoiado sobre um suporte localizado aproximadamente na altura dos ombros. Após o braço ser garroteado no ponto médio do úmero foi realizada assepsia com algodão

embebido em álcool 70%. A punção foi realizada com agulha descartável de 25 por 8 mm no referido local. O sangue venoso foi aspirado em um tubo de coleta a vácuo e as agulhas foram descartadas de forma segura, assim como todos os outros materiais descartáveis contaminados, tanto nos procedimentos de coleta, quanto nas análises sanguíneas, conforme procedimento padrão do laboratório.

As amostras foram depositadas em tubos a vácuo, com gel separador sem anticoagulante, e centrifugadas por 10 min a 3000 rpm para separação do soro e plasma. Posteriormente foram determinadas as concentrações de colesterol total, HDL-c, triglicerídeos, PCR e glicose. Para a determinação de LDL-c foi utilizada a equação de Friedewald ($LDL-C = \text{colesterol total} - HDL-c + \text{triglicerídeos}/5$). O perfil lipídico foi determinado em um sistema autoanalisador bioquímico Dimension RxL Max – Siemens Dade-Behring, de acordo com métodos consagrados na literatura especializada, seguindo os protocolos recomendados pelos fabricantes. As determinações de IL-6 e TNF- α foram realizadas pela metodologia de ELISA, utilizando kits ELISA READY-SET-GO (eBioscience, Inc. San Diego, USA). A insulina foi determinada por meio do método de quimiluminescência utilizando o equipamento LIASON. O Modelo de Avaliação da Homeostase (HOMA-IR) foi calculado pela fórmula: $\text{Insulina jejum } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{Glicose jejum } (\text{mmol/L}) / 22,5$. O Índice de Castelli I foi calculado a partir da divisão da concentração de colesterol total pela concentração de HDL-c ($\text{colesterol total}/HDL-c$), enquanto o Índice de Castelli II foi determinado a partir da concentração de LDL-c dividido pela concentração de HDL-c ($LDL-c/HDL-c$) (CASTELLI et al., 1983).

Produtos avançados de oxidação proteica (AOPP) foram determinados pelo método semi-automático. As concentrações de AOPP foram expressas em micromoles por litro (mmol/L) de equivalentes de cloramina. As concentrações de hidroperóxidos lipídicos foram determinadas pela técnica *Ferrous Oxidation-xylene/ Orange Assay* (FOX). Os resultados foram expressos em mmol/L. A TRAP foi determinada por meio do método de quimiluminescência para tempo de indução de 2,2 azo-bis (2-amidinopropano) e calibrado com Trolox análogo da vitamina E. Os valores de TRAP foram expressos em μmol de Trolox. Além da determinação da TRAP, foi determinada a capacidade antioxidante enzimática da SOD e da catalase. A atividade da SOD nos eritrócitos foi determinada pelo método do pirogalol. A leitura da reação de SOD foi realizada em espectrofotômetro, marca ThermoSpectronic®, modelo HELIOS- α (Waltham, MA, EUA) a um comprimento de onda de 420 nm. Os resultados foram expressos em U/mgHb. Para análise da catalase foi determinado o decaimento na concentração de peróxido de hidrogênio e a geração de oxigênio. A leitura da reação catalase foi realizada num espectrofotômetro, marca ThermoSpectronic®, modelo HELIOS- α (Waltham, MA, EUA) a um comprimento de onda de

240 nm. Os resultados foram expressos em U/mgHb. Para o cálculo da taxa de filtração glomerular (TFG) foi adotada a equação CKD-EPI proposta por LEVEY et al. (2009).

4.6. Capacidade funcional

A capacidade funcional das idosas foi analisada a partir da aplicação de dois testes do protocolo do Grupo de Desenvolvimento Latino-Americano para Maturidade (GDLAM) para avaliação da autonomia funcional (DANTAS et al., 2014), denominados de Caminhar 10 m e Levantar-se da Posição Sentada. Ambos os testes foram aplicados pelo mesmo avaliador com auxílio de um relógio digital. Para o teste Caminhar 10 m, as participantes foram orientadas a caminhar o mais rápido possível para avaliar a velocidade de marcha. O teste Levantar-se da posição sentada consistiu em levantar e sentar em uma cadeira sem apoio para braços por cinco vezes consecutivas. O intervalo de descanso entre os testes foi de três minutos. Os coeficientes de reprodutibilidade para os testes Caminhar 10 m e Levantar-se da Posição Sentada foram 0,12 e 0,15 com CCI de 0,94 e 0,98, respectivamente.

4.7. Pressão arterial

Medidas de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram realizadas por meio de aparelho automático de medida da pressão arterial da marca Omron, modelo HEM – 7113 (Omron Healthcare, Lake Forest, IL, USA). Para tanto, as participantes compareceram ao laboratório em três dias não consecutivos, no mesmo horário, sempre no período da manhã, para a execução das medidas. Todas as participantes foram orientadas a permanecer sentadas, em repouso e em silêncio por no mínimo 10 min antes do início das medidas. Três medidas foram executadas com intervalo mínimo de dois minutos entre elas sendo registrado o valor médio entre elas. Nos casos cuja variação das medidas foi superior a 4 mmHg para a PAS e/ou PAS, novas medidas foram realizadas até que o critério estabelecido fosse atendido (VI Brazilian Guidelines on Hypertension, 2010). As medidas de reprodutibilidade indicaram EPM = 1,33 mmHg e CCI = 0,991 para PAS e EPM = 1,11 mmHg e CCI = 0,987 para PAD.

4.8. Consumo alimentar

O consumo alimentar foi estimado por meio da aplicação de recordatório de 24 h (R24). As entrevistas foram realizadas em dois dias diferentes, priorizando o consumo do

meio da semana. Para auxiliar as entrevistas foi utilizado um registro fotográfico padronizado (MONEGO et al., 2013) contendo fotos com imagens dos alimentos e porções. Os alimentos consumidos foram registrados na ordem relatada pela participante, anotando o tipo de alimento, quantidade consumida, bem como a forma de preparação. As quantidades dos alimentos, em medidas caseiras, foram convertidas em gramas ou mililitros e analisados no *software* Virtual Nutri®. Alimentos que não foram encontrados no banco de dados do programa foram adicionados assumindo como referência as informações disponíveis na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - 4ª edição (UNICAMP-NEPA, 2011), Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras - 4ª edição (PINHEIRO et al., 2009), Tabela de Composição de Alimentos da ENDF – 5ª edição (IBGE, 1999).

Para melhorar a qualidade das coletas, foi realizado treinamento com a equipe de nutricionistas abordando o método do R24 e somente um nutricionista lançou os dados alimentares no *software*. Para a análise da ingestão de macronutrientes (proteínas, carboidratos, lipídeos e fibras) e micronutrientes (minerais e vitaminas) foi utilizado as *Dietary Reference Intakes* (DRI) do *Institute of Medicine/Food and Nutrition Board* (TRUMBO et al., 2002), exceto as proteínas que foram avaliadas de acordo com as recomendações específicas para os idosos (BAUER et al., 2013; DEUTZ et al., 2014; MOORE e SOETERS, 2015). Os R24 foram coletados antes, durante e após a intervenção (semanas 1, 2, 11, 12, 18, 19, 25 e 26). Todas participantes foram orientadas a manterem seus hábitos alimentares normalmente durante todo o período do estudo.

4.9. Protocolo de suplementação

Após a aleatorização, as participantes foram alocadas em três grupos distintos para receberem as doses da suplementação de *whey protein* e/ou maltodextrina (placebo) de forma individualizada, conforme descrito a seguir:

- a) Grupo WP-PLA: 35 g de *whey protein* (pré-treino) e 35 g de maltodextrina (pós-treino);
- b) Grupo PLA-WP: 35 g de maltodextrina (pré-treino) e 35 g de *whey protein* (pós-treino);
- c) Grupo PLA-PLA: 35 g de maltodextrina (pré e pós-treino).

Cada dose de suplementação foi diluída em 200 ml de água. As participantes foram orientadas a ingerir a solução o mais rapidamente possível 15 min antes e imediatamente após cada sessão de TP. Ambos os suplementos apresentavam composição isocalórica e foram preparados de forma independente.

A *whey protein* utilizada no estudo foi fornecida pela empresa *Arla Foods* (Lacprodan®, Viby J, Aarhus, Jutland, Denmark) e analisado pelo Laboratório de Análise de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina, assim como a maltodextrina, fornecida pela *New Millen* (São Paulo, SP, Brazil). A composição dos suplementos utilizados é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição nutricional dos suplementos ofertados

	<i>Whey protein</i>		Placebo	
	Por 100 g	Por porção de 35 g	Por 100 g	Por porção de 35 g
Energia (Kcal)	373,97	130,9	384,0	134,4
Proteínas (g)	77,5	27,1	0,84	0,3
Carboidratos (g)	14,89	5,2	95,16	33,3
Gorduras (g)	0,49	0,2	0	0
Cinzas (g)	2,87	1,0	0,14	0
Umidade (g)	4,25	1,5	3,86	1,4

4.10. Programa de treinamento com pesos

O programa de TP supervisionado foi conduzido no período da manhã, na academia da Universidade Estadual de Londrina. O programa na etapa 1 teve duração de oito semanas (período pré-suplementação), enquanto na etapa 2 de 12 semanas (período de suplementação). Em cada uma das etapas o treinamento foi realizado em três sessões semanais, em dias não-consecutivos (segundas, quartas e sextas-feiras), no período da manhã. Todas as participantes foram orientadas a manterem os níveis habituais de atividade física ao longo do estudo e não iniciarem novos programas de exercícios físicos durante o período experimental.

Durante as sessões, uma equipe de profissionais de Educação Física realizou todo o acompanhamento do início ao fim da sessão, controlando os intervalos de recuperação e a técnica de execução dos exercícios, bem como ajustando os equipamentos para uso das participantes do estudo. A carga de treinamento de cada sessão e o número de repetições para cada exercício foram registrados na ficha de treinamento de cada participante.

O programa de treinamento foi constituído por oito exercícios para os diferentes segmentos corporais (tronco, membros superiores e inferiores) que foram executados em ambas as etapas do estudo, a saber: supino vertical, *leg press* horizontal, remada baixa, cadeira extensora, rosca *scott*, mesa flexora, tríceps no *pulley* e panturrilha sentada. O intervalo de recuperação entre as séries foi de um a dois minutos e entre os exercícios de dois a três minutos.

Em ambos os períodos de treinamento (pré-suplementação e durante a suplementação), as participantes treinaram um protocolo baseado em uma montagem alternada por segmento, executando três séries de 10 RM no período pré-suplementação e três séries de 8-12 RM, no período de suplementação. As cargas foram ajustadas individualmente, em cada exercício, durante todo o período de treinamento sempre que o limite superior de repetições programadas fosse atingido por duas sessões consecutivas. Os aumentos de carga foram na ordem de 2% a 5% para os exercícios de membros superiores e 5% a 10% para os exercícios de membros inferiores, conforme as recomendações da literatura (ACSM, 2009).

4.11. Análise estatística

Inicialmente, o teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para a análise da distribuição dos dados. O teste de Levene foi utilizado para análise da homogeneidade das variâncias. Teste t-pareado foi utilizado para as comparações pré vs. pós na primeira etapa. Análise de variância (ANOVA) *one way* foi utilizada para as comparações entre os Z-scores dos grupos. O teste de Mauchly foi aplicado para verificar a esfericidade e em caso de violação deste pressuposto, as análises foram ajustadas pela correção de Greenhouse-Geiser. ANOVA *two-way* para medidas repetidas foi utilizada para comparação entre os grupos. Nos casos de diferenças nas medidas basais, análise de covariância (ANCOVA) para medidas repetidas foi utilizada, com as medidas da linha de base sendo adotadas como covariáveis. O teste *post hoc* de Bonferroni para comparações múltiplas foi empregado para a identificação das diferenças encontradas. O nível de significância estatística adotado para todas as análises foi de 5%. A magnitude do tamanho das diferenças foi calculada pelo tamanho do efeito proposto por Cohen (1992). Os dados foram processados no programa estatístico SPSS para Windows, versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5 RESULTADOS

A organização dos resultados da presente tese foi pautada no modelo escandinavo, no qual a contextualização do problema dá origem ao estabelecimento de diferentes objetivos, que por sua vez são analisados a partir da redação de artigos científicos. Considerando a dimensão dos desfechos avaliados, quatro artigos foram desenvolvidos, de modo a compreender a complexidade das respostas à intervenção. O primeiro artigo teve como foco o efeito da suplementação de WP associada ao treinamento com pesos sobre a massa muscular, força e capacidade funcional. O segundo artigo apresenta os efeitos da intervenção sobre o ângulo de fase e a água corporal total e suas frações intra e extracelular. O terceiro artigo analisa os efeitos da intervenção sobre o perfil metabólico e marcadores inflamatórios. O quarto artigo mostra o efeito da suplementação de WP associada ao treinamento com pesos sobre os marcadores de estresse oxidativo.

5.1. Artigo 1 – Effects of whey protein supplementation pre- or post-resistance training on muscle mass, muscular strength and functional capacity in pre-conditioned older women: a randomized clinical trial¹

Abstract

Aging is associated with sarcopenia and dynapenia, with both processes contributing to functional dependence and mortality in older adults. Resistance training (RT) and increased protein intake are strategies that may contribute to health improvements in older adults. Therefore, the aim was to investigate the effects of whey protein (WP) supplementation consumed either immediately pre- or post- RT on skeletal muscle mass (SMM), muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women. Seventy older women participated in this investigation and were randomly assigned to one of three groups: whey protein pre-RT and placebo post-RT (WP-PLA, n = 24), placebo pre-RT and whey protein post-RT (PLA-WP, n = 23), and placebo pre and post-RT (PLA-PLA, n =23). Each group ingested 35g of WP or PLA. The RT program was carried out over 12 weeks (3x/week; 3x 8-12 repetitions maximal). Body composition, muscular strength, functional capacity, and dietary intake were assessed pre- and post-intervention. ANCOVA for repeated measures, with baseline scores as covariates was used for data analysis. A time vs. group interaction ($P < 0.05$) was observed with WP-PLA and PLA-WP presenting greater increases compared with PLA-PLA for SMM (WP-PLA = 3.4%; PLA-WP = 4.2%; PLA-PLA = 2.0%), strength (WP-PLA = 8.1%; PLA-WP = 8.3%; PLA-PLA = 7.0%), and the 10-meter walk test (WP-PLA = -10.8%; PLA-WP = -11.8%; PLA-PLA = -4.3%). Whey protein supplementation was effective in promoting increases in SMM, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women, regardless of supplementation timing. This trial was registered at ClinicalTrials.gov: NCT03247192.

Resumo

O envelhecimento está associado à sarcopenia e dinapenia, com ambos os processos contribuindo para a dependência funcional e mortalidade em idosos. O treinamento com pesos (TP) e aumento da ingestão de proteínas são estratégias que podem contribuir para a melhoria da saúde em idosos. Portanto, o objetivo foi investigar os efeitos da suplementação de *whey protein* (WP) consumida imediatamente antes ou após RT na massa muscular esquelética (MME), força muscular e capacidade funcional em mulheres idosas treinadas.

¹ Nabuco HCG, Tomeleri C, Sugihara Junior P, Fernandes RR, Cavalcante EF, Antunes M, Ribeiro AS, Teixeira DC, Silva AM, Sardinha LB, Cyrino ES. Effects of whey protein supplementation pre- or post-resistance training on muscle mass, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women: a randomized clinical trial. *Nutrients*. 2018;10(5):E563.

Setenta mulheres idosas participaram desta investigação e foram aleatoriamente designadas para um dos três grupos: *whey protein* pré e placebo pós-RT (WP-PLA, n = 24), placebo pré-RT e *whey protein* após RT (PLA-WP, n = 23), e placebo pré e pós-RT (PLA-PLA, n = 23). Cada grupo ingeriu 35g de WP ou PLA. O programa de RT foi realizado durante 12 semanas (3x / semana; 3x 8-12 repetições máxima). A composição corporal, a força muscular, a capacidade funcional e a ingestão alimentar foram avaliadas pré e pós-intervenção. ANCOVA para medidas repetidas, com escores de base como covariáveis, foi usado para análise de dados. A interação tempo vs. grupo ($P < 0,05$) foi observada com WP-PLA e PLA-WP apresentando maiores aumentos em comparação com PLA-PLA para MME (WP-PLA = 3,4%; PLA-WP = 4,2%; PLA-PLA = 2,0%), força (WP-PLA = 8,1%; PLA-WP = 8,3%; PLA-PLA = 7,0%) e teste de caminhada de 10 metros (WP-PLA = -10,8%; PLA-WP = -11,8 %; PLA-PLA = -4,3%). A suplementação com proteína de soro de leite foi eficaz na promoção de aumentos na MME, força muscular e capacidade funcional em mulheres idosas treinadas, independentemente do tempo de suplementação. Este ensaio foi registrado em [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03247192): NCT03247192.

Palavras-chave: Envelhecimento; treinamento de força; hipertrofia; tempo de proteína.

5.1.1. Introduction

Functional dependence, the risk of falls, and development of diseases and mortality occur in older adults during the aging process due to declines in muscle mass (sarcopenia) and muscular strength (dynapenia) (CRUZ-JENTOFT et al., 2010; BREEN e PHILLIPS, 2011). Resistance training (RT) has been widely recommended as an effective strategy to attenuate the deleterious effects of aging (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009; GARBER et al., 2011). Nutritional interventions, using protein supplementation, have been shown to counteract the effects of sarcopenia and dynapenia in older adults (CERMAK et al., 2012; DEVRIES e PHILLIPS, 2015; PHILLIPS, 2015; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017), and hence might decrease the risk of functional limitations (BARBAT-ARTIGAS et al., 2014).

Whey protein (WP) intake plays an important role by providing easy digestion and a higher peak of circulating amino acids, with leucine as the key amino acid for activation of muscle protein synthesis (DEVRIES e PHILLIPS, 2015). It can be assumed that a greater amount of leucine could result in a higher rate of protein synthesis when associated with a training stimulus, which may attenuate the losses related to aging. Information about protein supplementation in older adults is still controversial, mainly on the effectiveness of protein supplementation on muscle mass and strength when associated with training (CERMAK et al., 2012; COLONETTI et al., 2016; NACLERIO e LARUMBE-ZABALA, 2016; MORTON et

al., 2017). Possible explanations for these conflicting results are the anabolic stimulus from the food and training together, amount of baseline protein consumption, level of training, and timing of nutrient intake (THALACKER-MERCER et al., 2009; ARAGON e SCHOENFELD, 2013; SCHOENFELD e CONTRERAS, 2013; RIBEIRO et al., 2015b; MORTON et al., 2017).

Regarding the timing of nutrient intake, the hypothesis of time of protein intake is based on the window of opportunity, with the objective of maximizing RT-induced adaptations and optimizing recovery tissue damage (ARAGON e SCHOENFELD, 2013). An increase in the availability of amino acids in the bloodstream may attenuate the catabolic effect from RT, thus contributing to an increase in skeletal muscle mass (SMM) and muscular strength, and also improving functional capacity, since adequate protein intake has been associated with the aforementioned conditions (ISANEJAD et al., 2016; RAHI et al., 2016).

Only three longitudinal studies have investigated the effects of timing of protein intake on untrained older people, and with conflicting results. Candow et al. (2006) showed no significant differences in SMM or muscular strength between protein supplementation before or after training. Verdijk et al. (2009) found that protein supplementation immediately before and after RT did not enhance SMM or muscular strength. On the other hand, Esmarck et al. (2001) investigated delayed protein intake, and demonstrated that over 12 weeks of RT, SMM increased when protein was ingested immediately after exercise, whereas no significant changes were observed when protein was supplemented 2 h post-exercise. Despite these findings, such studies were conducted with untrained older adults, and conservative doses of administrated protein, which is not ideal for older people (10 to 20 g). Thus, it remains unclear whether training status influences the hypertrophic response to optimal dose (30 to 40 g) pre- or post-exercise, since muscle adaptations tend to be larger in novices (ARAGON e SCHOENFELD, 2013).

In young adults, Cribb & Hayes (2006) showed that the protein supplement timing represents a simple but effective strategy to enhance the adaptations (strength and hypertrophy) that are desired from RT. On the other hand, Hoffman et al. (2009) and Schoenfeld et al. (2017) showed no significant differences in timing protein intake muscular adaptations in well-trained men. So, training status had not yet been tested in women and/or in the elderly.

Our laboratory recently showed, in another cohort of women (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017), that 12 weeks of WP supplementation post-RT performed 3 times per week improved SMM and muscular strength in pre-conditioned older women. However, in this previous study, we were unable to analyze the impact of timing of protein intake. Therefore, the aims of the present study were: 1) to determine whether our previous findings that WP supplementation post-RT improved SMM and muscular strength would be replicated in a

larger cohort of pre-conditioned older women; 2) to investigate the effects of WP supplementation consumed either immediately pre- or post- RT on SMM, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women. Based on the previous findings, we hypothesized that, independent of the timing of consumption; WP supplementation would result in greater gains in SMM and muscular strength with consequent improvement in functionality than the placebo, in a sample of pre-conditioned elderly women.

5.1.2 Methods

5.1.1.1. Experimental design

This three-arm randomized, double-blind, placebo-controlled design was carried out over a period of 26 weeks divided into two phases. The first phase of the study was an eight-week period (weeks 3-10), during which participants were familiarized with RT. This RT period was conducted to standardize training status, and to overcome strong neural adaptations known to occur within the first few weeks of RT (FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

In Phase 2, the supplementation phase, the participants were randomized into three groups and started 12 weeks dedicated to WP supplementation plus RT (weeks 13-24). At the beginning and end of each phase of the experiment, two weeks were allocated for evaluations consisting of anthropometric (weeks 2, 12 and 26), body composition (weeks 2, 12 and 26), one repetition maximum tests (weeks 1, 11 and 25), and dietary intake measurements (weeks 1, 11 and 25). The anthropometric, body composition, and dietary intake measurements were carried out in a temperature-controlled room (22-24 °C), and the RT sessions were conducted at the University training facility. Figure 1 presents a schematic representation of the women recruitment and allocation adopted in this investigation.

5.1.1.2. Participants

The present study is part of the Active Aging Project, a longitudinal cohort study designed to examine the role of RT on older women's health. Recruitment was carried out through newspaper and radio advertising, and home delivery of leaflets in the central area and residential neighborhoods. All participants completed health history and physical activity questionnaires and met the following inclusion criteria: 60 years old or more, physically independent, free from cardiac or orthopedic dysfunction, not receiving hormonal replacement and/or thyroid therapy, not using equipment that would prevent the accomplishment of protocols and tests, and not having performed any regular physical exercise for 6 months preceding the beginning of the study. Participants passed a diagnostic

graded exercise stress test with 12-lead electrocardiogram reviewed by a cardiologist and were released with no restrictions for participation in this investigation.

Eighty-three Brazilian older women (≥ 60 years old) volunteered to participate in this investigation. After individual interviews, thirteen volunteers were excluded as they did not meet the inclusion criteria. Seventy participants were submitted to a standardized resistance training (RT) program, for eight weeks. After the assessments, the participants were randomly divided into three groups according to relative strength (ratio of total strength obtained in 1-RM tests by body mass): (1) whey protein pre- and placebo post- RT (WP-PLA, $n = 24$, 67.5 ± 5.2 years, 69.0 ± 14.8 kg, 26.4 ± 5.2 kg/m²), (2) placebo pre- and whey protein post- RT (PLA-WP, $n = 23$, 66.2 ± 9.4 years, 65.4 ± 16.7 kg, 25.3 ± 5.4 kg/m²), and (3) placebo pre- and post- RT (PLA-PLA, $n = 23$, 66.5 ± 7.2 years, 62.2 ± 10.4 kg, 23.8 ± 3.7 kg/m²). A blinded researcher was responsible for generating random numbers for participant allocation. All groups were submitted to the same RT program and 66 participants completed the experiment. The reasons for withdrawal from the study were reported as personal reasons and transportation issues.

Written informed consent was obtained from all participants after a detailed description of investigation procedures had been provided. This investigation was conducted according to the Declaration of Helsinki and approved by the local University Ethics Committee (n^o 1.700.756).

5.1.1.3. Anthropometry

Body mass was measured to the nearest 0.1 kg using a calibrated electronic scale (Balmak, Laboratory Equipment Labstore, Curitiba, PR, Brazil), with participants wearing light workout clothing and no shoes. Height was measured using a stadiometer to the nearest 0.1 cm while subjects were standing without shoes.

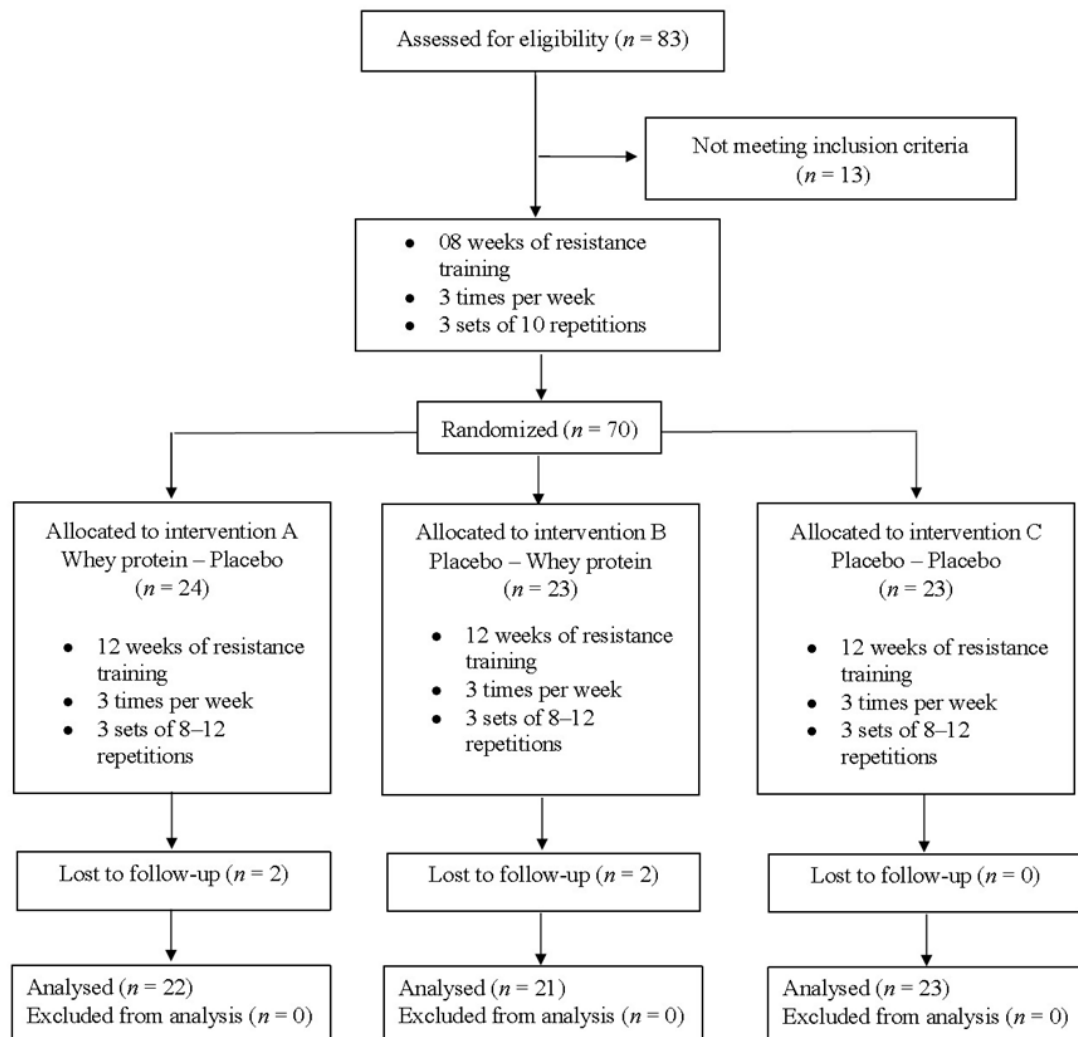


Figure 4 – Flowchart of the study.

5.1.1.4. Body composition

Whole-body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy, model NRL 41990, GE Lunar, Madison, WI) was used to assess lean mass, both total and segmented, according to previously described procedures (TOMELERI et al., 2016). SMM was estimated by the predictive equation proposed by Kim et al. (2004). Previous test-retest scans of 12 older women measured 24-48 h apart resulted in a standard error of measurement (SEM) of 0.24 kg for SMM, 0.20 for lower limb lean soft tissue (ULLST), and 0.10 kg for upper limb lean soft tissue (ULLST), with an intraclass correlation coefficient (ICC) > 0.99 for all variables.

5.1.1.5. Muscular strength

Maximal dynamic strength was evaluated using the 1RM tests assessed in the chest press (CP), knee extension (KE), and preacher curl (PC) exercises, performed in this order, according to previously described procedures (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017). The 1RM was recorded as the final load lifted in which the participant was able to complete only one single maximal execution. Three 1RM sessions were performed separated by 48 hours. The highest load achieved in the 3 sessions was used for analysis in each exercise. Total strength was determined by the sum of the three exercises and divided by body mass to estimate the relative total strength. The SEMs for the CP, KE, and PC were 0.46 kg, 1.67 kg, and 0.93 kg, respectively, and the ICCs for the CP, KE, and PC were 0.97, 0.91, and 0.93, respectively.

5.1.1.6. Functional capacity

Functional capacity was evaluated using two tests from the Latin American Development Group for Maturity protocol (DANTAS et al., 2014): the 10-meter walk test (10MW) and rising from the sitting position test (RSP). For the 10MW, participants were required to walk the distance of 10 m rapidly to evaluate gait speed; and for the RSP, they were required to stand up and sit down five times as quickly as possible. The rest interval between tests was 3 min. A digital timer was used to record the time of the tests. The SEMs for the 10MW and RSP were 0.12 s and 0.15s, with ICCs of 0.94 and 0.98, respectively.

5.1.1.7. Dietary intake

Food consumption was assessed by the 24-hour dietary recall method, applied on two non-consecutive days of the week. A photographic manual of food portion sizes was used to improve the precision of dietary intake reporting (MONEGO et al., 2013). The homemade measurements of nutritional values of food and supplementation were converted into grams and milliliters using the online software Virtual Nutri Plus (Keeple®, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil) for diet analysis. Some foods were not found in the program database and were added from food tables (PINHEIRO et al., 2009).

5.1.1.8. Supplementation protocol

Participants received a dose of 35 g of hydrolyzed WP (Lacprodan®, Arla Foods, Viby J, Aarhus, Jutland, Denmark) and/or placebo pre and post-RT. Maltodextrin (New Millen®, São Paulo, SP, Brazil) was used as a placebo. The hydrolyzed WP drink contained 27.1 g of protein, 5.2 g of carbohydrates, and 0.2 g of fat per portion (200 mL, 131 kcal), whereas the

carbohydrate drink contained 0.3 g of protein and 33.3 g of carbohydrates per portion (200 mL, 134 kcal). The supplements were mixed with non-caloric sugar-free drinks to mask the contents (grape or passion fruit flavor). Participants ingested the drinks under the supervision of the study staff and were instructed to drink the solution as quickly as possible. Participants were instructed to avoid eating 1 h before the supplementation pre-RT and 1 h after supplementation post-RT. Supplementation was only consumed on training days. Both the subjects and the researchers responsible for the RT were blinded as to which supplement was given until the end of the trial.

5.1.1.9. Resistance training program

Supervised RT was performed during the morning hours. The protocol was based on recommendations for RT in an older population to improve muscular strength and hypertrophy (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009; GARBER et al., 2011). Physical education professionals with substantial RT experience personally supervised all participants to help ensure consistent and safe exercise performance. In the two phases, the sessions were performed 3 times per week on Mondays, Wednesdays, and Fridays. The RT program was a whole-body program with eight exercises, including: the chest press, horizontal leg press, seated row, knee extension, preacher curl (free weights), leg curl, triceps pushdown, and seated calf raise. During the pre-supplementation training period (first phase), the participants performed a conventional RT, alternated by segment, which consisted of the execution of three series of 10 repetitions maximal. During the supplementation plus RT period, the participants were submitted to a conventional RT, alternated by segment, which consisted of the execution of three series of 8 to 12 RM, with fixed loads. Throughout the investigation, instructors adjusted the loads of each exercise according to the subject's abilities and improvement in exercise capacity in order to ensure that the subjects exercised with as much resistance as possible while maintaining proper exercise technique. The load was adjusted weekly using procedures described elsewhere (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009). During each RT session, researchers wrote down the load performed by participants for each exercise. Thus, the sum of the load used in the 3 sets of the 8 exercises was considered the total session load, and then the weekly training load was determined by the sum of the 3 sessions of a week (RIBEIRO et al., 2017b).

5.1.1.10. Statistical analyses

The Shapiro Wilk test was used to test data distribution. Data are presented as means, standard deviations, and percentage changes. The paired t-test was used to analyze

the effects (pre- vs post-) of the first phase. For the second phase, two-way analysis of covariance (ANCOVA) for repeated measures was applied for comparisons, with baseline scores used as covariates. When the F-ratio was significant, Bonferroni's post hoc test was employed to identify the mean differences. The effect size (ES) was calculated to verify the magnitude of the differences by Cohen's *d*, where an ES of 0.20–0.49 was considered as small, 0.50–0.79 as moderate, and ≥ 0.80 as large (COHEN, 1992). For all statistical analyses, significance was accepted at $P < 0.05$. The data were analyzed using SPSS software version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

The sample size estimation was conducted using G*Power (version 3.0.10, Universitat Kiel, Germany). Data from a previous investigation (BØRSHEIM et al., 2008) was utilized to perform the sample size estimation. We based the calculation on an effect size of 0.33, α level of 0.05, and power ($1 - \beta$) of 80%, giving a total of 72 volunteers required. Considering a drop-out of ~15%, we recruited 83 older women.

5.1.2. Results

The first 8 weeks of the RT period were used to standardize the training level of the participants. There was a significant ($P < 0.05$) increase in SMM, ULLST, LLLST, and muscular strength, and an improvement in functional tests. There were no significant ($P > 0.05$) main effects in habitual intake during the first phase (Table 3).

Daily intake of total energy and macronutrients at pre-, during, and post- 12wk RT are shown in Table 4. There were no significant ($P > 0.05$) main effects, indicating that the habitual daily energy and macronutrients intake were not different between groups and did not change over time. When dietary intake from food was combined with supplement intake total energy intake was increased at 12 weeks in all groups ($P < 0.05$) and was not different between groups ($P > 0.05$). As expected, significant differences among groups were revealed ($P < 0.05$) for both carbohydrate and protein intake at post-training condition, in which the WP groups ingested higher amount of protein, while the PLA-PLA ingested higher amount of carbohydrate (Table 5).

Body composition, muscular strength, and functional capacity outcomes (12-weeks) are presented in Table 6. A significant ($P < 0.001$) time vs. group interaction was observed for SMM, LLLST, CP, KE, and TS, with both the WP-PLA and PLA-WP presenting greater increases compared with the PLA-PLA, without differences between the timing of protein intake. A significant ($P < 0.05$) time vs. group interaction was observed in the 10 MW, with both WP groups presenting significantly decreased scores compared to the PLA-PLA. In all

groups, a main effect for time ($P < 0.05$) was observed for ULLST, PC, RSP and training load with similar improvements.

Table 3 - Participants' scores at baseline (pre) and after (post) 8-week intervention period (n = 70).

	Pre	Post	$\Delta\%$	ES	P
Protein (g/kg/day)	0.92 \pm 0.28	0.94 \pm 0.28	2.2	0.07	0.499
CHO (g/kg/day)	3.07 \pm 1.0	3.15 \pm 1.0	2.5	0.08	0.324
Lipids (g/kg/day)	0.70 \pm 0.2	0.73 \pm 0.2	4.5	0.14	0.233
Energy (kcal/kg/day)	22.3 \pm 6.5	23.0 \pm 6.5	3.1	0.10	0.178
SMM (kg)	16.6 \pm 2.6	17.1 \pm 2.7	3.1	0.19	< 0.001
ULLST (kg)	3.8 \pm 0.6	4.0 \pm 0.6	3.5	0.21	< 0.001
LLLST (kg)	11.5 \pm 1.6	11.8 \pm 1.7	2.5	0.17	< 0.001
Chest press (kg)	40.6 \pm 8.5	44.8 \pm 8.7	10.3	0.48	< 0.001
Knee extension (kg)	46.0 \pm 11.3	52.6 \pm 11.7	14.4	0.57	< 0.001
Preacher curl (kg)	18.4 \pm 3.8	21.8 \pm 3.7	18.3	0.89	< 0.001
Total strength (kg)	105.0 \pm 19.7	119.3 \pm 20.3	13.6	0.71	< 0.001
10MW (s)	7.8 \pm 1.1	7.4 \pm 0.9	-4.8	0.37	< 0.001
RSP (s)	12.4 \pm 2.2	11.8 \pm 1.7	-5.2	0.33	< 0.001

Note: Paired t-test. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; SMM = skeletal muscle mass; ULLST = upper limb lean soft tissue; LLLST = lower limb lean soft tissue; 10MW = 10-meters walk test; RSP = raising from sitting position.

During the first phase, the changes in SMM were similar between groups ($P > 0.05$), however, after supplementation phase, a significant increase was found ($P < 0.05$) in the WP-PLA and PLA-WP groups compared to the PLA-PLA (Fig. 5).

Table 4 – Habitual dietary intake of the older women measured at baseline, during, and after 12 weeks of intervention (n=66).

	Whey protein – Placebo (n = 22)			Placebo – Whey protein (n = 21)			Placebo - Placebo (n = 23)			Interaction P-value
	0	6-wk	12-wk	0	6-wk	12-wk	0	6-wk	12-wk	
<i>Intake excluding whey/control</i>										
Protein (g/kg/day)	0.92 ± 0.20	0.95 ± 0.36	0.96 ± 0.19	0.94 ± 0.36	0.98 ± 0.52	0.98 ± 0.24	0.95 ± 0.27	0.96 ± 0.26	0.99 ± 0.25	0.914
CHO (g/kg/day)	3.1 ± 0.96	3.1 ± 0.91	3.0 ± 0.77	3.2 ± 1.12	3.1 ± 1.24	3.1 ± 1.13	3.1 ± 0.94	3.1 ± 0.84	3.1 ± 0.72	0.968
Lipids (g/kg/day)	0.77 ± 0.29	0.72 ± 0.27	0.69 ± 0.19	0.76 ± 0.30	0.72 ± 0.21	0.74 ± 0.32	0.67 ± 0.17	0.73 ± 0.14	0.75 ± 0.34	0.485
Energy (kcal/kg/day)	22.9 ± 6.29	23.1 ± 7.76	23.2 ± 6.28	22.4 ± 7.75	23.3 ± 7.76	23.3 ± 6.28	22.4 ± 5.90	23.2 ± 4.6	23.4 ± 6.3	0.810
<i>Intake including whey/control</i>										
Protein (g/kg/day)	0.92 ± 0.20	1.38 ± 0.42* [§]	1.38 ± 0.26* [§]	0.94 ± 0.36	1.42 ± 0.57* [§]	1.49 ± 0.46* [§]	0.95 ± 0.27	0.98 ± 0.30	1.0 ± 0.25	< 0.001
CHO (g/kg/day)	3.1 ± 0.96	3.7 ± 0.93*	3.6 ± 0.85* [§]	3.2 ± 1.12	3.4 ± 1.5 [§]	3.6 ± 1.2* [§]	3.1 ± 0.94	4.2 ± 1.0*	4.2 ± 0.90*	< 0.001
Lipids (g/kg/day)	0.77 ± 0.29	0.72 ± 0.27	0.70 ± 0.17	0.76 ± 0.30	0.70 ± 0.29	0.74 ± 0.31	0.67 ± 0.17	0.72 ± 0.14	0.75 ± 0.33	0.279
Energy (kcal/kg/day)	22.9 ± 6.29	26.6 ± 7.0	26.1 ± 5.6*	22.4 ± 7.75	25.3 ± 10.4	28.0 ± 6.7*	22.4 ± 5.90	27.2 ± 4.6*	27.8 ± 6.8*	0.435

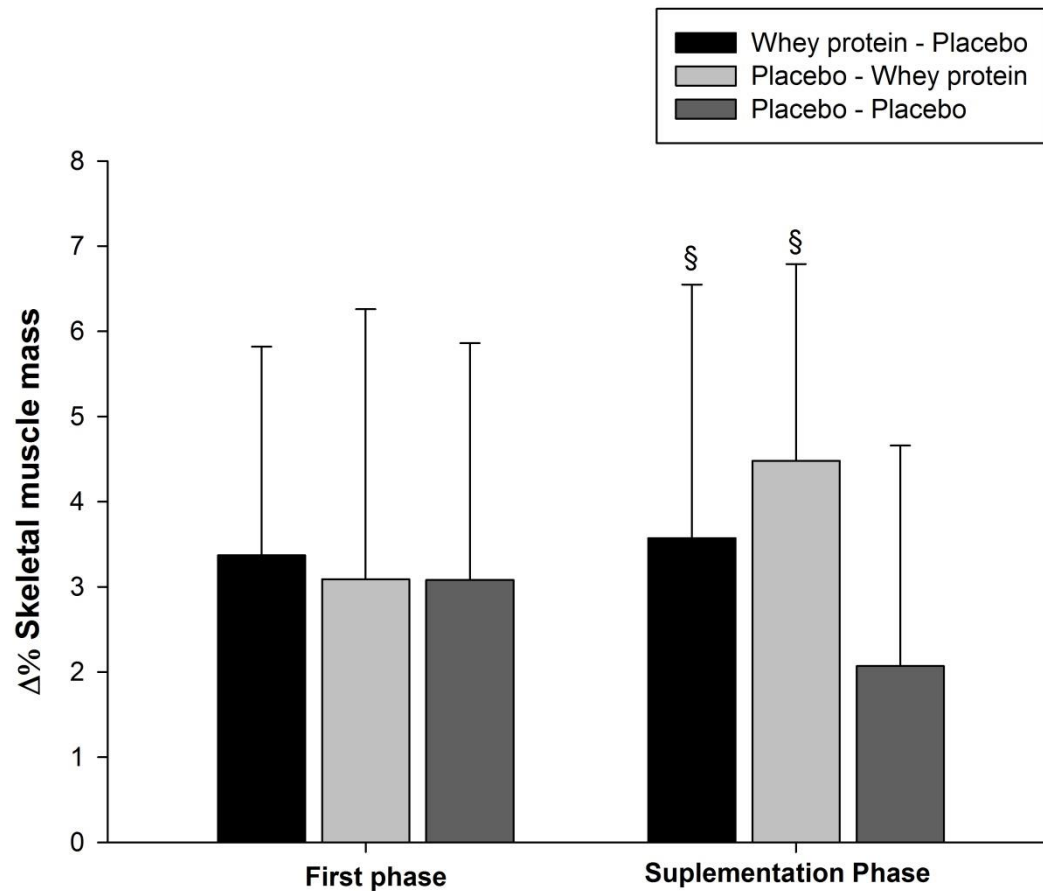
Note: ANOVA two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; wk = weeks; CHO = carbohydrates. * $P < 0.05$ vs. pre-training;

[§] $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

Table 5 – Body composition and muscular strength of the older women after the 12-week intervention period (n= 66).

	Whey protein – Placebo (n = 22)				Placebo – Whey protein (n = 21)				Placebo - Placebo (n = 23)				Interaction <i>P</i> -value
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	
SMM (kg)	17.7 ± 2.5	18.4 ± 2.4*§	3.4 ± 2.9	0.25	17.4 ± 3.2	18.2 ± 3.2*§	4.2 ± 2.3	0.23	16.2 ± 2.2	16.6 ± 2.2*	2.0 ± 2.1	0.14	< 0.001
ULLST (kg)	4.1 ± 0.47	4.2 ± 0.45*	3.4 ± 3.0	0.29	3.9 ± 0.54	4.1 ± 0.58*	5.9 ± 4.3	0.40	3.7 ± 0.53	3.9 ± 0.53*	4.1 ± 3.5	0.29	0.156
LLLST (kg)	11.8 ± 1.2	12.1 ± 1.1*§	3.2 ± 2.9	0.30	11.6 ± 1.4	12.0 ± 1.5*§	3.7 ± 2.2	0.30	11.3 ± 1.4	11.4 ± 1.4*	1.1 ± 2.2	0.08	< 0.001
CP (kg)	46.0 ± 9.0	49.0 ± 10.0*§	5.6 ± 1.7	0.28	45.0 ± 9.0	48.0 ± 10.0*§	5.9 ± 1.6	0.28	43.0 ± 8.0	45.0 ± 8.0*	4.5 ± 1.2	0.24	< 0.05
KE (kg)	52.0 ± 11.0	56.0 ± 12.0*§	9.2 ± 2.5	0.39	55.0 ± 11.0	59.0 ± 12.0*§	8.8 ± 2.2	0.41	52.0 ± 13.0	56.0 ± 13.0*	7.5 ± 1.0	0.32	< 0.001
PC (kg)	23.0 ± 4.0	25.0 ± 4.0*	11.3 ± 5.7	0.59	22.0 ± 3.0	25.0 ± 4.0*	12.4 ± 6.6	0.75	21.0 ± 3.0	23.0 ± 4.0*	10.5 ± 5.3	0.63	0.376
TS (kg)	121.0 ± 20.0	131.0 ± 21.0*§	8.1 ± 1.6	0.48	122.0 ± 21.0	132.0 ± 22.0*§	8.3 ± 2.3	0.47	115.0 ± 21.0	124.0 ± 22.0*	7.0 ± 2.7	0.38	< 0.05
Training load (kg)	1735 ± 232	2505 ± 292*	45.3 ± 14.8	2.93	1698 ± 224	2429 ± 377*	43.6 ± 18.3	2.44	1630 ± 276	2367 ± 442*	44.7 ± 14.2	2.05	0.916
10MW (s)	7.5 ± 0.9	6.7 ± 0.9*§	-10.8 ± 11.3	0.90	7.5 ± 1.0	6.6 ± 1.0*§	-11.8 ± 8.6	0.89	7.3 ± 0.9	6.9 ± 0.7*	-4.3 ± 8.4	0.41	< 0.05
RSP (s)	12.0 ± 1.6	10.8 ± 1.1 *	-10.0 ± 12.4	0.89	11.7 ± 1.5	10.5 ± 1.7*	-10.1 ± 5.4	0.73	11.7 ± 1.8	11.0 ± 1.8*	-5.7 ± 7.6	0.36	0.176

Note: ANCOVA two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; SMM = skeletal muscle mass; ULLST = upper limb lean soft tissue; LLLST = lower limb lean soft tissue; CP = Chest press; KE = Knee extension; PC = Preacher curl; TS = total strength; 10MW = 10-meter walk test; RSP = rising from sitting position. **P* < 0.05 vs. pre-training; §*P* < 0.05 vs. placebo-placebo.



Figure

5 – Relative skeletal muscle mass changes from the first phase and the supplementation phase. During the first phase no supplementation was provided, data are presented separately to show that both groups demonstrated the same behavior during the pre-supplementation phase in the same training phase. [§] $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

5.1.3. Discussion

This is the first randomized double-blind controlled trial to investigate the effects of WP intake pre- or post-RT on pre-conditioned older women. The major finding of the current investigation was that WP supplementation increased SMM, ULLST, and functional capacity in pre-conditioned older women, independent of the time of administration around each training session. Our hypothesis was confirmed, as SMM, muscular strength, and functional capacity improved in the protein supplementation groups when compared to the PLA-PLA. Our study corroborates with previous results from our laboratory that showed that WP post-RT improved SMM and muscular strength in pre-conditioned older women (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017).

In this study, we were able to stabilize the initial gains provided by RT, as participants underwent an initial 8 weeks of RT. At the beginning of RT, the preliminary adjustment will be

the neurological. The initial increase in muscular strength occurs more rapidly than muscle hypertrophy, relating to motor learning (CARROLL et al., 2001; MAIOR and ALVES, 2003). After these neural adaptations, in a progressive way, the muscular hypertrophy starts to exert a larger part of contribution in the increases of muscular strength (PHILLIPS, 2000). Supplementation was provided only after this initial phase. The design of this study enabled us to isolate the effects of supplementation. Naclerio and Larumbe-Zabala (2016) conducted a meta-analysis on the effects of WP supplementation on trained individuals. The authors reported that WP supplementation in resistance-trained individuals favors superior gains in lean body mass and muscular strength, in young and middle-age adults, however the numbers of studies with trained individuals are scarce, especially among older adults. Morton et al. (2017) have shown that training experience increases the effectiveness of protein supplementation in body composition and muscular strength, and that the increase in fat free mass is larger in trained. Bell et al. (2017) showed that WP plus creatine was effective for increasing lean body mass and total muscular strength in older men, however, when starting an exercise program, protein supplementation was no longer relevant.

If adequate protein and energy intake occurs in untrained individuals starting a RT program, the stimulation provided by RT overcomes the stimulus coming from diet (THALACKER-MERCER et al., 2009). Therefore, the lack of favorable results for WP supplementation associated with RT (COLONETTI et al., 2016) may be due to the competition of anabolic stimuli (feeding and training together).

On training days, our participants reached an average protein intake of 1.5 g/body weight/day (habitual intake + supplementation). This amount is in accordance with the protein recommendations that have been proposed for the elderly (DEUTZ et al., 2014). Previous meta-analysis reported that a protein dose above 1.2 g/body weight/day is sufficient to increase fat-free mass in older people (CERMAK et al., 2012). Moreover, higher quality protein was provided, as WP, especially hydrolyzed, promotes rapid release of amino acids into the bloodstream (DEVRIES and PHILLIPS, 2015), a very important feature for improving the digestion process (MOORE and SOETERS, 2015). WP contains high quantities of branched chain amino acids, in particular leucine, a key amino acid for the activation of muscle protein synthesis (DEVRIES and PHILLIPS, 2015). It has been suggested that 30 to 35 g of WP is required to provide appropriate stimulation of postprandial muscle protein synthesis in older individuals (PENNINGS et al., 2012; D'SOUZA et al., 2014). We provided a 35g dose of WP, containing 3.8 g of leucine, an amount expected to be sufficient to promote protein synthesis stimulation (≥ 2 g leucine) (MURPHY et al., 2016; MORTON et al., 2017).

We showed that protein supplementation provides a larger increase in muscular strength when compared with a placebo, providing a possible explanation for the better

performance in the functional tests. These results are in agreement with previous studies with untrained (KARELIS et al., 2015; LIAO et al., 2017) and trained (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017) elderly people. Indeed, gains in strength are extremely important for health status in older adults, as strength improvements are associated with a reduced risk of mortality (NEWMAN et al., 2006) as well as higher lean body mass (BROWN et al., 2017).

We observed improvements in functional capacity, specifically for the 10WM-test, across the groups, with large increases in the protein groups when compared with the placebo. Improvements in functional capacity are of important clinical relevance and reduce the risk of institutionalization and mortality (TAKATA et al., 2007). It could be speculated that such improvements in functional capacity in the WP-PLA and PLA-WP are due to improvements in SMM (which influences muscle quality) and neuromuscular action (MANINI and CLARK, 2012; BARBAT-ARTIGAS et al., 2014), and also due to improvements in muscular strength (SANTOS et al., 2017). In fact, Liao et al (2017) have shown protein supplementation combined with RT promoted improvements in lean soft tissue, muscular strength and functional capacity. However, the effect on strength gain was not associated with improvements in most components of physical mobility (LIAO et al., 2017). On the other hand, the authors state that there are few available studies comparing protein supplementation and RT with physical function and mobility. With respect to protein timing, although the SMM, functional capacity, and total strength gains were higher in the PLA-WP, no significant differences were observed between the WP groups. These results are in agreement with previous studies with older adults (CANDOW et al., 2006; VERDIJK et al., 2009) and well-trained young individuals (SCHOENFELD et al., 2017). Moreover, Dideriksen et al. (2011) have shown protein supplementation 30 min before or after exercise did induce a solid anabolic stimulus, which persisted beyond the time point where the essential aminoacids availability had returned to basal concentrations. We used maltodextrin to blind the study e to promote an isocaloric condition. Maltodextrin has been used as a control in several studies, since it is a good source of energy. However, despite carbohydrate supplementation stimulates a greater insulin release than protein supplementation; the insulin is not as effective as aminoacids in stimulating muscle anabolic pathways (FIGUEIREDO and CAMERON-SMITH, 2013), therefore, maltodextrin does not play an important role in muscle hypertrophy. On the other hand, carbohydrates supplementation can improve physical performance. But in exercise less than 1 hour, muscle glycogen is not limiting and the type and (or) amount of CHO appears to be irrelevant to improve physical performance (JEUKENDRUP and MCLAUGHLIN, 2011; STELLINGWERFF and COX, 2014).

This study is not without limitations. The results are specific to healthy pre-conditioned older women and should not be extrapolated to other populations. Physical activity was not assessed during the free living condition, although additional RT, beyond that provided by the university, was not expected. Nevertheless, the present study is the first to investigate the effects of WP supplementation pre- and post-RT on SMM, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women. We also monitored dietary intake pre-, during, and post-intervention ensuring the participants did not change their habitual intake throughout the study, even after the supply of supplements.

5.1.4. Conclusion

In conclusion, this investigation showed that WP supplementation pre- or post- RT is effective in promoting increases in SMM, LLLST, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women. Thus, in clinical practice, WP intake, before or after RT, is a strategy that may be adopted to prevent sarcopenia and dynapenia, and also improve physical functioning of older adult women. Further studies are necessary to investigate the timing of protein intake based on pre-sleep supplementation protein, since resistance training during the day increases the overnight muscle protein synthetic response (TROMMELEN and VAN LOON, 2016).

5.2. Artigo 2 – Effect of whey protein supplementation combined with resistance training on cellular health in pre-conditioned older women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial²

Abstract

Aim: The purpose of study was to analyze the effects of a combined whey protein (WP) and RT intervention on cellular health in pre-conditioned older women.

Methods: The protocol is a randomized controlled clinical trial with a sample of seventy older women, divided into 3 groups: WP-placebo (WP-PLA, n = 24), placebo-WP (PLA-WP, n = 23), and placebo-placebo (PLA-PLA, n =23). Each group drank 35g of product (placebo or WP) pre- and post- training. The RT program was carried out over 12 weeks (3x/week; 3x 8-12 repetitions maximum). Total body water (TBW), intra (ICW) and extracellular (ECW) water, resistance (R), reactance (Xc), and phase angle (PhA) assessed by bioimpedance spectroscopy. Lean soft tissue (LST) was measured using dual energy X-ray absorptiometry; and food consumption was assessed by means of the average of two 24-hour recalls. ANCOVA for repeated measures was applied for comparisons, with baseline scores used as covariates. **Results:** A group by time interaction ($P < 0.05$) was observed for LST, ICW and the ECW/ICW ratio. There was a time effect ($P < 0.05$) for TBW, Xc, and PhA. A reduction ($P < 0.05$) in R was found only in the WP-PLA and PLA-WP groups. **Conclusion:** Whey protein supplementation (pre- or post-) combined with RT promoted an increase in ICW and LST, and also a reduction in ECW/ICW ratio in pre-conditioned older women. Regardless of the supplementation intake, the RT regimen improved PhA in older adult women. This trial was registered at ClinicalTrials.gov: NCT03247192.

Keywords: Aging; bioimpedance spectroscopy; cellular hydration; dietary supplements; strength training.

Resumo

O objetivo do estudo foi analisar os efeitos do whey protein combinada com treinamento com pesos (TP) na saúde celular em mulheres idosas treinadas. O protocolo é um ensaio clínico randomizado controlado com uma amostra de setenta mulheres idosas, divididas em três grupos: placebo-WP (WP-PLA, n = 24), placebo-WP (PLA-WP, n = 23) e placebo-placebo (PLA-PLA, n = 23). Cada grupo bebeu 35g de produto (placebo ou WP) antes e depois do treinamento. O programa de TP foi realizado durante 12 semanas (3x/semana; 3

² Nabuco HCG, Tomeleri C, Sugihara Junior P, Fernandes RR, Cavalcante EF, Santos L, Silva AM, Sardinha LB, Cyrino ES. Effect of whey protein supplementation combined with resistance training on cellular health in pre-conditioned older women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Geriatrics & Gerontology International*. Submetido em 29/06/2018.

X 8-12 repetições máximas). Água corporal total (ACT), água intra (AIC) e extracelular (AEC), resistência (R), reatância (Xc) e ângulo de fase (AF) avaliados por bioimpedância multifrequencial. O tecido magro (MM) foi medido usando absorciometria de raios X de dupla energia; e o consumo alimentar foi avaliado por meio da média de dois recordatórios de 24 horas. A ANCOVA para medidas repetidas foi aplicada para comparações, com os escores da linha de base usados como covariáveis. Uma interação grupo por tempo ($P < 0,05$) foi observada para MM, AIC e a relação AEC/AIC. Houve um efeito no tempo ($P < 0,05$) para ACT, Xc e AF. Uma redução ($P < 0,05$) em R foi encontrada apenas nos grupos WP-PLA e PLA-WP. A suplementação de proteína de soro de leite (pré ou pós) combinada com RT promoveu um aumento no AIC e MM, e também uma redução na relação AEC/AIC em mulheres idosas treinadas. Independentemente da ingestão de suplementos, o TP melhorou o AF em mulheres idosas. Este ensaio foi registrado em ClinicalTrials.gov: NCT03247192.

Palavras-chave: Envelhecimento; espectroscopia de bioimpedância; hidratação celular; suplementos dietéticos; treinamento de força.

5.2.1. Introduction

The aging process predisposes individuals to a reduction in total body water (TBW) and its intracellular fraction (ICW), and a concomitant increase in extracellular water (ECW) (SARAGAT et al., 2014). Bioimpedance spectroscopy (BIS) has been shown to be a very useful alternative to evaluate cellular fluids as well as the phase angle (PhA) (NORMAN et al., 2012). Phase angle has been considered an important indicator of nutritional status, sarcopenia, functional capacity, and mortality risk (KYLE et al., 2012; NORMAN et al., 2012; FUKUDA et al., 2016), besides which, a decline in the phase angle has been associated with a decline in muscle mass in the elderly (NORMAN et al., 2012).

Resistance, reactance, and PhA are dependent on age, sex, height, fat-free mass, nutritional status, body mass index (BMI), and level of physical activity (NORMAN et al., 2012; FUKUDA et al., 2016). In this context, the combination of resistance training (RT) and protein supplementation plays an important role, since these represent the most common non-drug strategies with important implications for the health of older adults (BREEN and PHILLIPS, 2013; MORTON et al., 2017). Resistance training has been widely recommended for the older population, since this type of exercise has been shown to be effective for increasing muscle mass (SOUZA et al., 2016; TOMELERI et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017a, 2017c), ICW (SOUZA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017a, 2017c), and PhA (SOUZA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017a, 2017c), as well as, for decreasing ECW (SOUZA et al.,

2016). Moreover, increased protein intake has been associated with an increase in fat-free mass in older adults (MORTON et al., 2017; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017; NABUCO et al., 2018b), which may influence ICW and ECW, as well as favor increases in PhA.

To optimize the beneficial results of this combination strategy on the health of older adults, it is imperative to consider the training program, quality of the protein offered, and time of ingestion (BREEN and PHILLIPS, 2013). Regarding the RT program to increase muscle mass, training regimes that induce the greatest metabolic stress, with sets of 6 to 12 repetitions, rest intervals of 60 to 90 seconds, and multiplane and multiangular exercises to stimulate as many muscle fibers as possible, seem to be the most highly indicated (SCHOENFELD, 2010).

The quality of the protein consumed also has great influence on the adaptive responses to RT. In this sense, whey protein (WP) is a protein that has been associated with increased muscle mass in older people due to its composition rich in leucine, a protein synthesis activator (DEVRIES and PHILLIPS, 2015; SUGIHARA JUNIOR et al., 2017; NABUCO et al., 2018b). Moreover, WP has antioxidative effects, because of its ability to increase the availability of reduced glutathione and the activity of the endogenous antioxidative enzyme system, which can promote an improvement in cellular health (DRAGANIDIS et al., 2016).

Whey protein and creatine plus RT was found to decrease ECW in men aged 48 to 72 years, without significant changes in lean soft tissue (ELIOT et al., 2008). However, this investigation was conducted in both middle-aged and older adults, in an untrained condition. This is an important issue as the adaptive response to RT is dependent on training experience, with untrained individuals being more responsive (SCHOENFELD and CONTRERAS, 2013; RIBEIRO et al., 2015b). Moreover, there is a correlation between baseline scores of PhA and the percentage change from pre- to post-training in PhA, indicating that the greatest responsiveness in PhA occurs in those older women with a lower PhA at baseline (MORTON et al., 2017; RIBEIRO et al., 2017a).

Another relevant aspect is the time of protein intake that can be used as a tool for maximizing RT-induced adaptations and optimizing recovery from tissue damage (ARAGON and SCHOENFELD, 2013). Resistance training in the fed state has the potentiated effect of antioxidant amino acids attenuating the formation of free radicals, protecting the cell membrane.

To our knowledge, no research has been conducted to assess changes in body water and cellular health after a combined intervention of WP supplementation and RT in pre-conditioned older women. Therefore, the purpose of this randomized, double-blind, placebo-controlled design was to analyze the effects of a combined WP and RT intervention on

cellular health and body water in pre-conditioned older women. We hypothesized that WP plus RT would result in improvements in body water (increased ICW and reduced ECW) and cellular health (PhA) over a placebo and that the order of supplementation intake (pre or post RT session) would not influence the results.

5.2.2. Methods

5.2.2.1. Experimental design

This three-arm randomized, double-blind, placebo-controlled design was carried out over a period of 26 weeks divided in two phases. The first phase consisted of an eight-week period where participants underwent a pre-conditioning RT program (weeks 3-10), which participants were familiarized with RT. This period had the objective of standardizing training status, including the neural adaptations that occur within the first few weeks of training (FOLLAND e WILLIAMS, 2007). In the second phase (supplementation phase) the participants were randomized into three groups and then started the WP plus RT for 12 weeks (weeks 13-24).

At the beginning and end of each phase of the experiment, two weeks were allocated for evaluations (weeks 1-2, 11-12, and 25-26) consisting of anthropometric, body composition and dietary intake measurements, performed at the university in a temperature-controlled room (22–24 °C), whereas the RT sessions were conducted at the university facilities. Supplementation was also conducted in a temperature-controlled room at the university. Figure 6 presents a schematic representation of the participant recruitment and allocation adopted in this investigation.

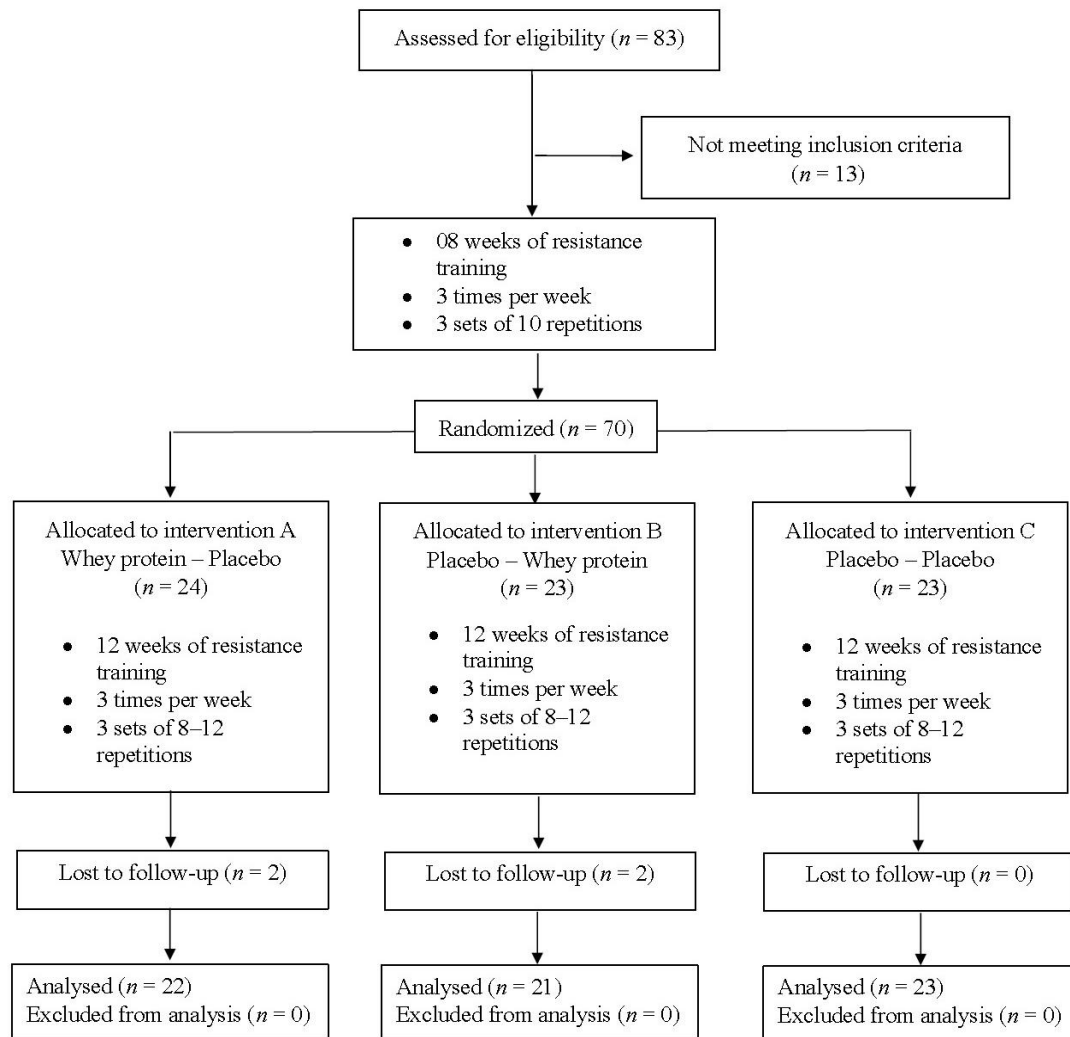


Figure 6 – Flowchart of the study

5.2.2.2. Participants

Recruitment was carried out through newspaper and radio advertising. All participants completed health history and physical activity questionnaires and met the following inclusion criteria: 60 years old or more, physically independent, free from cardiac or orthopedic dysfunction, not receiving hormonal replacement and/or thyroid therapy, not using equipment that would prevent the accomplishment of protocols and tests, and not performing any regular physical exercise for 6 months preceding the beginning of the investigation. Participants underwent a diagnostic graded exercise stress test with a 12-lead electrocardiogram reviewed by a cardiologist and were released with no restrictions for participation in this investigation. Eighty-three Brazilian older women (≥ 60 years old) volunteered to participate in this investigation. After individual interviews, thirteen volunteers were excluded as they did not meet the inclusion criteria. Seventy participants were

submitted to a standardized RT program, for eight weeks. After the assessments, the participants were randomly divided into three groups according to their relative strength [ratio of total strength obtained in one repetition maximal tests (1-RM) by body mass]: (1) WP pre- and placebo post- RT (WP-PLA, n = 24), (2) placebo pre- and WP post- RT (PLA-WP, n= 23), and (3) placebo pre- and post- RT (PLA-PLA, n = 23). A blinded researcher was responsible for generating random numbers for participant allocation. All groups were submitted to the same RT program and 66 participants completed the experiment. The reasons for withdrawal from the investigation were reported as personal reasons and transportation issues.

Written informed consent was obtained from all participants after provision of a detailed description of investigation procedures. This investigation was conducted according to the Declaration of Helsinki and was approved by the local University Ethics Committee (no. 1.700.756).

5.2.2.3. Anthropometry

Body mass was measured to the nearest 0.1 kg using a calibrated electronic scale (Balmak, Laboratory Equipment Labstore, Curitiba, PR, Brazil) and height was measured using a stadiometer to the nearest 0.1 cm. The participants wore light clothing without shoes. Body mass index was calculated as the body mass in kilograms divided by the square of the height in meters.

5.2.2.4. Body composition

Whole-body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy, model NRL 41990, GE Lunar) was used to assess lean soft tissue (LST) according to previously described procedures (TOMELERI et al., 2016). A BIS device (Xitron Hydra, model 4200, Xitron Technologies, USA) was used to estimate resistance (R) and reactance (Xc) at a single frequency (50 kHz), and subsequently the PhA was calculated as the arc-tangent $(Xc/R) \times 180^\circ/\pi$. The TBW, ECW, and ICW were obtained from the BIS measurements.

All BIS measurements were performed during the morning period. Before measurement the participants were instructed to remove all objects containing metal. Participants were instructed to lie in a supine position, legs abducted at an angle of 45° relative to the body midline, and hands pronated. After cleaning the skin with alcohol, two electrodes were placed on the surface of the right hand and two on the right foot in accordance with procedures described by Sardinha et al. (1998). Participants were instructed to urinate about 30 min before the measures, refrain from ingesting food or drink in the previous 4 h, avoid strenuous physical exercise for at least 24 h, and refrain from

consumption of alcoholic and caffeinated beverages for at least 48 h. To ensure that participants were in a neutral hydration state, combined information on the first-morning body weight prior to the body composition visit and observation of urine color were used (CASA et al., 2005).

Previous test-retest scans of 12 older women measured 24-48 h apart resulted in a standard error of measurement (SEM) of 0.38 kg for LST, 0.42 L for ECW, 0.48 L for ICW, 0.71 L for TBW, 17.86 ohms for resistance, 2.2 ohms for reactance, and 0.13 degrees for PhA, with an intraclass correlation coefficient (ICC) > 0.94 for all these variables.

5.2.2.5. Dietary intake

Food intake was assessed by the 24-hour dietary recall method applied on two non-consecutive days of the week, with the aid of a photographic record taken during an interview (MONEGO et al., 2013). The homemade measurements of the nutritional values of food and supplementation were converted into grams and milliliters using the online software program Virtual Nutri Plus (Keeple[®], Rio de Janeiro, Brazil). Some foods were not found in the program database and were therefore added from food tables (PINHEIRO et al., 2009).

5.2.2.6. Supplementation protocol

Participants received a dose of 35 g of hydrolyzed WP (Lacprodan[®], Arla Foods, Denmark) and/or placebo pre and post-RT. Maltodextrin (New Millen[®], São Paulo, SP, Brazil) was used as a placebo. The hydrolyzed WP drink contained 27.1 g of protein, 5.2 g of carbohydrates, and 0.2 g of fat per portion (200 mL, 131 kcal), whereas the carbohydrate drink contained 0.3 g of protein and 33.3 g of carbohydrates per portion (200 mL, 134 kcal). The supplements were mixed with non-caloric sugar-free drinks to mask the contents (grape or passion fruit flavor). Participants ingested the drinks under the supervision of the research staff and were instructed to drink the solution. Supplementation was consumed only on training days. Both the subjects and the researchers responsible for RT were blinded as to which supplement was given until the end of the trial. Participants were asked to provide any information if they felt any side effects related to supplement administration, but they report no side effects.

5.2.2.7. Resistance training program

Supervised RT was performed during the morning hours. The protocol was based on recommendations for RT in an older population to improve muscular strength and hypertrophy (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009). In both phases, the sessions were performed 3 times per week on Mondays, Wednesdays, and Fridays. The RT program was a

whole-body program with eight exercises, including: chest press, horizontal leg press, seated row, knee extension, preacher curl (free weights), leg curl, triceps pushdown, and seated calf raise. During the first phase, the participants trained following a protocol of three series of 10 RM, alternated by segment. During the supplementation plus RT period (second phase), the participants were submitted to conventional RT, alternated by segment, which consisted of the execution of three series of 8 to 12 repetitions, with fixed loads. Instructors adjusted the loads of each exercise according to the subject's ability and improvement in exercise capacity throughout the investigation in order ensure that the subjects were exercising with as much resistance as possible while maintaining proper exercise technique. The load was adjusted weekly using procedures described elsewhere (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009).

5.2.2.8. Statistical analyses

The Shapiro Wilk test was used to assess data distribution. Descriptive statistics are presented as means and standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) and the chi-square test were used to compare groups regarding the general characteristics, dietary intake, and clinical history (categorical variables) at baseline. The paired t-test was used to analyze the effects (pre- vs. post-) of the first phase. For the second phase, two-way analysis of covariance (ANCOVA) for repeated measures was applied for comparisons, with baseline scores used as covariates. When the F-ratio was significant, the Bonferroni post hoc test was employed to identify the mean differences. The effect size (ES) was calculated to verify the magnitude of the differences, with an ES of 0.20–0.49 considered as small, 0.50–0.79 as moderate, and ≥ 0.80 as large (COHEN, 1992). For all statistical analyses, significance was accepted at $P < 0.05$. The data were analyzed using SPSS software version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

The sample size estimation was conducted using G*Power (version 3.0.10, Universitat Kiel, Germany). Data from a previous investigation (BØRSHEIM et al., 2008) were utilized to perform the sample size estimation. We based the calculation on an ES of 0.33, α level of 0.05, and power ($1 - \beta$) of 80%, giving a total of 72 volunteers required. Considering a drop-out of ~15%, 83 older women were recruited.

5.2.3. Results

The general characteristics of the supplementation groups are described in Table 6.

Table 6 - General characteristics, dietary intake, and clinical history of the participants at baseline by supplementation group (n=66).

	Whey protein- placebo (n = 22)	Placebo-whey protein (n = 21)	Placebo- placebo (n =23)	P
General characteristics^a				
Age (years)	67.5 ± 5.2	66.2 ± 9.4	66.5 ± 7.1	0.825
Body mass (kg)	69.0 ± 14.8	65.4 ± 16.6	62.2 ± 10.4	0.271
Height (cm)	156.8 ±4.6	155.5 ±6.5	155.7 ±5.4	0.698
Body mass index (kg/m ²)	26.3 ± 5.2	25.3 ± 5.4	23.8 ± 3.7	0.256
Dietary intake^a				
Protein (g/kg/day)	0.92 ± 0.20	0.94 ± 0.36	0.95 ±0.27	0.949
Carbohydrates (g/day)	203.3 ± 48.8	202.7 ± 45.5	187.1 ± 35.9	0.374
Lipids (g/day)	51.9± 18.1	47.4 ± 13.1	41.2 ± 10.0	0.060
Total energy (kcal/day)	1532 ± 347	1467 ± 283	1348 ± 239	0.111
Sodium (mg/day)	1820.7 ± 753.7	1764.0 ± 666.3	1509.6 ± 306.1	0.190
Potassium (mg/day)	2219.0 ± 663.1	2343.8 ± 658.3	2097.3 ± 494.4	0.410
Clinical history^b				
Hypertension (n)	10	12	11	0.721
Dyslipidemia (n)	10	14	15	0.280
Type 2 diabetes (n)	03	03	03	0.933

Note. Data are presented as mean and standard deviation. Clinical history is presented as absolute number. ^aANOVA one-way; ^bchi-square test.

The changes from pre to post first 8 weeks of RT (first phase) are displayed in Table 7. Changes ($P < 0.001$) in all outcomes were observed after this first phase of 8 weeks of RT.

Table 8 displays the changes from pre- to post-intervention after the second intervention phase. A group by time interaction was observed ($P < 0.05$) for LST, ICW and the ECW/ICW ratio, in which the WP groups presented higher increases when compared with the placebo-placebo. There was a time effect interaction ($P < 0.05$) for TBW, reactance, and PhA.

Table 7 - Participant scores pre and post the 8-week intervention (first phase) (n = 70).

	Pre	Post	Δ%	ES	P
LST (kg)	34.7 ± 5.5	35.1 ± 5.0	2.6	0.17	< 0.001
ECW (L)	13.4 ± 2.1	13.2 ± 2.1	-1.4	0.08	< 0.001
ICW (L)	13.9 ± 2.7	14.2 ± 2.5	1.9	0.09	< 0.001
TBW (L)	27.4 ± 4.5	27.5 ± 4.5	0.3	0.02	< 0.001
ECW/ICW ratio	0.97 ± 0.11	0.93 ± 0.09	-3.6	0.33	< 0.001
Resistance (ohms)	603.9 ± 76.1	591.8 ± 73.0	-2.0	0.16	< 0.001
Reactance (ohms)	53.5 ± 9.2	55.1 ± 8.4	2.9	0.17	< 0.001
PhA (degree)	5.1 ± 0.8	5.3 ± 0.6	4.6	0.34	< 0.001

Note: Paired t-test. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; LST = lean soft tissue; ECW = extracellular water; ICW = intracellular water; TBW = total body water; PhA = phase angle.

Table 8 – Participant scores at baseline (pre) and after (post) the 12-week intervention (second phase) (n= 66).

	Whey protein-placebo (n = 22)				Placebo- whey protein (n = 21)				Placebo-placebo (n = 23)				Interaction
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	P-value
LST (kg)	36.5 ± 5.2	37.6 ± 5.1*§	2.7	0.19	35.1 ± 6.0	36.5 ± 6.1*§	3.7	0.22	35.6 ± 3.5	36.2 ± 3.7*	1.5	0.17	< 0.001
ECW (L)	13.7 ± 2.0	13.4 ± 1.9	-2.4	0.16	13.4 ± 2.6	13.1 ± 2.5	-2.6	0.13	12.6 ± 1.6	12.3 ± 1.4	-2.1	0.17	0.937
ICW (L)	15.0 ± 2.4	15.9 ± 2.1*§	5.5	0.36	14.1 ± 2.9	15.0 ± 2.9*§	6.6	0.30	13.5 ± 2.0	13.9 ± 2.1*	3.5	0.21	< 0.001
TBW (L)	28.8 ± 4.1	29.3 ± 3.9*	1.8	0.13	27.5 ± 5.4	28.1 ± 5.4*	2.1	0.11	26.1 ± 3.5	26.3 ± 3.4*	0.7	0.05	0.473
ECW/ICW ratio	0.92 ± 0.12	0.85 ± 0.08*§	-8.0	0.71	0.96 ± 0.09	0.87 ± 0.07*§	-9.1	1.05	0.93 ± 0.06	0.89 ± 0.07*	-4.9	0.71	0.014
R (ohms)	573.7 ± 68.5	563.2 ± 61.2	-1.8	0.16	579.4 ± 85.1	567.3 ± 82.2	-2.1	0.15	620.2 ± 58.2	607.9 ± 61.1	-2.0	0.21	0.885
Xc(ohms)	53.5 ± 8.6	56.6 ± 8.8*	5.9	0.36	54.5 ± 9.4	58.2 ± 9.8*	6.7	0.38	57.6 ± 6.2	60.5 ± 5.6*	5.0	0.48	0.701
PhA (degree)	5.3 ± 0.7	5.7 ± 0.7*	7.6	0.58	5.4 ± 0.6	5.8 ± 0.5*	8.8	0.85	5.3 ± 0.5	5.7 ± 0.5*	7.3	0.78	0.545

Note: ANCOVA two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; ECW = extracellular water; ICW = intracellular water; TBW = total body water; R= resistance; Xc = reactance; PhA = phase angle. * $P < 0.05$ vs. pre-training; § $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

5.2.4. Discussion

The main finding of this investigation was that supplementation with WP combined with RT resulted in increases in ICW and LST and reductions in ECW/ICW ratio in the WP groups, compared to the placebo group. Thus, our hypothesis that the effects of combined supplementation plus RT would be superior to the placebo was partially confirmed.

To our knowledge, only one investigation has evaluated the effects of WP plus RT on cellular hydration (ELIOT et al., 2008), in which protein supplementation was found to reduce ECW without effects on LST. However, the sample consisted of middle-aged men and the results cannot be extrapolated to other populations.

Our investigation showed that WP resulted in a significant increase in ICW and decrease in the ECW/ICW ratio. A possible mechanism that may explain the effect of WP on ICW may be related to the increase in LST. Hydrolyzed WP is rapidly digested and absorbed and also contains high leucine content, a key anabolic amino acid for muscle protein synthesis (DEVRIES and PHILLIPS, 2015). Thus, an increase in LST will result in an increase in ICW, since it is a well-hydrated tissue, contributing to the decrease in the ECW/ICW ratio. Moreover, we found a positive correlation between changes in LST and ICW ($r = 0.28$, $P < 0.05$), which is in agreement with previous work from our laboratory with RT in a different cohort of older adult women (SOUZA et al., 2016).

No differences between groups were found in changes in PhA. However, a main effect of time was observed, i.e., RT improved PhA, which is in agreement with previous investigations that concluded that RT enhances PhA in older women (SOUZA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017c). The mechanisms that explain the influence of RT on PhA are still not well elucidated. However, some facts may be explained this phenomenon. Phase angle is derived from resistance and reactance, both influenced by the electrical conductivity of the tissues, thus an alteration in cellular membrane integrity (reactance) or body fluid (resistance) consequently results in PhA changes (KYLE et al., 2004; XU et al., 2016). It is worth noteworthy that the reduction observed in reactance in this study occurred without significant changes in resistance values probably led to an increase in PhA. Gonzalez et al. (2016) documented that LST is the body composition compartment that most influences PhA, both in men and women. When an electrical current passes through a biological system at a certain frequency, the LST act as conductors, mainly due to the large amount of water and electrolytes these tissues contain. Moreover, the increase in ICW, due to an increase in LST, also results in better conductivity, contributing to improve PhA.

This investigation is not without limitations. The results are specific to healthy pre-conditioned older women and should not be extrapolated to other populations. Physical

activity was not assessed during the free-living condition, although performance of RT beyond that provided by the university was not expected. A major strength of our investigation was the inclusion in the design of a first phase of standardization of participants' training status as well as the randomized, double-blind, placebo-controlled design.

5.2.5. Conclusion

Whey protein supplementation (pre- or post-) combined with RT promoted an increase in ICW and LST and a reduction in ECW/ICW ratio in pre-conditioned older women. Regardless of the supplementation intake, the RT regimen improved PhA in older adult women. These findings suggest that WP supplementation is a good strategy to maximize the response to RT in pre-conditioned older adult woman, in particular cellular hydration.

5.3. Effects of pre- or post-exercise whey protein supplementation on metabolic profile and inflammatory markers in pre-conditioned older women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial³

Abstract

Protein supplementation and resistance training (RT) are interventions that may counteract the decline in muscle mass and increase in fat mass, thus reducing the risk of developing chronic diseases during the aging process. The objective of this study was to investigate the effects of whey protein (WP) supplementation pre- or post-RT on the metabolic profile and inflammatory markers in pre-conditioned older women. Seventy older women (≥ 60 years) participated in this investigation and were randomly assigned to one of three groups: WP pre-RT and placebo post-RT (WP-PLA, $n = 24$), placebo pre-RT and WP post-RT (PLA-WP, $n = 23$) and placebo pre and post-RT (PLA-PLA, $n = 23$). Each groups ingested 35 g of PLA or WP. The RT was carried out over 12 weeks. Body composition, blood pressure, blood samples and dietary intake were assessed pre- and post-intervention. After 12 weeks of intervention, the WP groups showed greater improvements in appendicular lean soft tissue (ALST) and total cholesterol/high density lipoprotein cholesterol ratio (TC/HDL-C) when compared with PLA-PLA. The group with whey protein administered post-RT also showed improvements ($P < 0.05$) in the ALST/appendicular fat mass ratio (ALST/AFM), total body fat (BF), and trunk fat mass when compared with PLA-PLA. Whey protein supplementation post-RT is more effective in improving body composition and metabolic profile in pre-conditioned older women. This trial was registered at ClinicalTrials.gov: NCT03247192.

Keywords: Aging; strength training; protein timing; lipid metabolism; metabolic diseases.

Resumo

A suplementação proteica e o treinamento com pesos (TP) são intervenções que podem contrabalancear o declínio da massa muscular e o aumento da massa gorda, reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças crônicas durante o processo de envelhecimento. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da suplementação com *whey protein* (WP) pré ou pós-TP sobre o perfil metabólico e inflamatório em mulheres idosas treinadas. Setenta mulheres idosas (≥ 60 anos) participaram desta investigação e foram aleatoriamente designadas para um dos três grupos: WP pré-TP e placebo pós-TP (WP-PLA, $n = 24$),

³ Nabuco HCG, Tomeleri C, Sugihara Junior P, Fernandes RR, Cavalcante EF, Venturini D, Barbosa DS, Silva AM, Sardinha LB, Cyrino ES. Effects of pre- or post-exercise whey protein supplementation on body composition and metabolic profile in pre-conditioned older women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrition, Metabolic and Cardiovascular Diseases**. Submetido em 27/06/2018.

placebo pré-TP e WP pós-TP (PLA-WP, n = 23) e placebo pré e pós-TP (PLA-PLA, n = 23). Cada grupo ingeriu 35 g de PLA ou WP. O TP foi realizado durante 12 semanas (três vezes por semana; 3 X 8-12 repetições máximas). A composição corporal, a pressão arterial, as amostras de sangue e a ingestão alimentar foram avaliadas pré e pós-intervenção. Após 12 semanas de intervenção, os grupos *whey protein* mostraram maiores melhorias na massa magra apendicular (MMA) e na relação colesterol total/lipoproteína de alta densidade (CT/HDL-C) quando comparado com o PLA-PLA. A suplementação de *whey protein* administrada pós-TP também apresentou melhora ($P < 0,05$) na relação MMA/massa gorda apendicular (MMA /MGA), gordura corporal total e massa gorda do tronco quando comparada ao PLA-PLA. A suplementação com *whey protein* pré ou pós-RT promove aumento da MMA e redução da relação CT/HDL-C em mulheres idosas treinadas. *Whey protein* administrada após TP foi mais eficaz na melhoria do Z-score do perfil metabólico e na redução da gordura corporal em comparação com o grupo placebo. Este ensaio foi registrado em ClinicalTrials.gov: NCT03247192.

Palavras-chave: Envelhecimento; treinamento de força; tempo de proteína; metabolismo lipídico; doenças metabólicas.

5.3.1. Introduction

Aging is a process associated with different physiological alterations, such as a decline in muscle mass (sarcopenia) and increase in fat mass, mainly visceral fat and intramuscular fat (CRUZ-JENTOFT et al., 2010; HAMRICK et al., 2016). As a consequence, older individuals present an increased risk of developing dyslipidemia, type 2 diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases favoring a higher risk of death (BEAUDART et al., 2014; GATTA et al., 2014). It is worth noting that advancing age is a major cause of deregulation of the cardio-metabolic profile, as sarcopenia affects the metabolic system (SULIGA et al., 2016), contributing to chronic and systemic inflammation (GATTA et al., 2014). Higher plasmatic levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) are found in older adults (DRAGANIDIS et al., 2016). Indeed, these inflammatory cytokines are relevant markers of frailty during the aging process in humans (JOSEPH et al., 2005).

Lifestyle interventions are non-pharmacological therapeutic approaches that may attenuate or counteract the adverse effects of age on metabolic and body composition parameters. Resistance training (RT) has been considered an effective strategy for increasing muscle mass (RIBEIRO et al., 2015b; TOMELERI et al., 2016) and reducing fat mass (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016), inflammatory markers (RIBEIRO et

al., 2015) and blood pressure (TOMELERI et al., 2017b), as well as improving lipid and glycemic profiles in older people (RIBEIRO et al., 2015b; TOMELERI et al., 2016).

Previous studies have reported that increased dietary protein intake can reduce body fat, glucose, the lipid profile and abdominal fat, as well as increase lean soft tissue (LST) and energy expenditure in overweight/obese adults, postmenopausal women, adults with hypertension, and sarcopenic older adults (PAL et al., 2010, 2011; FEKETE et al., 2016b; BO et al., 2018). Among several dietary approaches to increase protein intake, whey protein has been widely used to improve the metabolic profile and LST (PAL et al., 2010; FEKETE et al., 2016b; BO et al., 2018), and reduce fat mass (BAER et al., 2011; PAL and RADAVELLI-BAGATINI, 2013). However, these studies did not combine whey protein supplementation with RT.

Our laboratory recently showed, in another cohort of women (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017; FERNANDES et al., 2018), that 12 weeks of WP supplementation post-RT performed 3 times per week improved muscle mass, muscular strength, and the total cholesterol/high density lipoprotein (TC/HDL) ratio in pre-conditioned older women. However, in these studies, we were unable to analyze the impact of timing of protein intake.

In this sense, in a recent study, we showed that WP pre- or post- RT is effective in promoting increases in skeletal muscle mass and muscular strength, and improves functional capacity in pre-conditioned older women (NABUCO et al., 2018b). Nevertheless, we did not analyze the metabolic and inflammatory profile variables, which we believe may be influenced by protein supplementation. (FEKETE et al., 2016b). Moreover, a previous study from our research group showed that low protein consumption is related to altered metabolic syndrome components in older women (NABUCO et al., 2018b). In addition, trained individuals respond differently to training stimuli when compared to untrained individuals, both with respect to hypertrophic responses (MORTON et al., 2017) and in metabolic responses (RIBEIRO et al., 2015b). In this sense, we decided to evaluate the effect of protein supplementation combined with RT on inflammatory and metabolic markers, considering an optimal dose for the elderly population, the best ingestion time and the level of training.

Based on the previous findings, our hypothesis was that regardless of the time of whey protein administration, before or after RT, improvements in the metabolic and inflammatory profile would be similar. Therefore, the aim of this investigation was to analyze the effects of whey protein supplementation, pre- or post- RT, on the metabolic and inflammatory profile in pre-conditioned older women.

5.3.2. Methods

5.3.2.1. Experimental design

This three-arm randomized, double-blind, placebo-controlled design was carried out over a period of 26 weeks divided into two phases. The first phase of the study was an eight-week period (weeks 3-10), during which subjects were familiarized with RT. In phase 2, the supplementation phase, the participants were randomized into three groups and started 12 weeks dedicated to supplementation plus RT (weeks 13-24). At the beginning and end of each phase of the experiment, two weeks were allocated for evaluations (weeks 1-2, 11-12 and 25-26) consisting of body composition, blood sample and dietary intake measurements. Figure 7 presents the experimental design adopted for the present study.

5.3.2.2. Participants

The present study is part of the Active Aging Project, a longitudinal cohort study designed to examine the role of RT on older women's health. Recruitment was carried out through newspaper and radio advertising. All participants completed health history and physical activity questionnaires and met the following inclusion criteria: 60 years old or more, physically independent, free from cardiac or orthopedic dysfunction, not using equipment that would prevent the accomplishment of protocols and tests, and not performing any regular physical exercise for 6 months preceding the beginning of the study. Participants passed a diagnostic graded exercise stress test with a 12-lead electrocardiogram reviewed by a cardiologist and were released with no restrictions for participation in this investigation. Eighty-three Brazilian older women (≥ 60 years old), volunteered to participate in this investigation. After individual interviews, thirteen volunteers were excluded as they did not meet the inclusion criteria. Seventy participants were submitted to a standardized RT program, for eight weeks. After the assessments, the participants were randomly divided into three groups according to their relative strength (ratio of total strength obtained in 1-repetition maximum tests by body mass): (1) whey protein pre- and placebo post- RT (WP-PLA, $n = 24$), (2) placebo pre- and whey protein post- RT (PLA-WP, $n = 23$), and (3) placebo pre- and post- RT (PLA-PLA, $n = 23$). A blinded researcher was responsible for generating random numbers for participant allocation. All groups were submitted to the same RT program and 66 participants completed the experiment. The reasons for withdrawal from the study were reported as personal reasons and transportation issues.

Written informed consent was obtained from all participants after provision of a detailed description of investigation procedures. This investigation was conducted according

to the Declaration of Helsinki and approved by the local University Ethics Committee (n° 1.700.756).

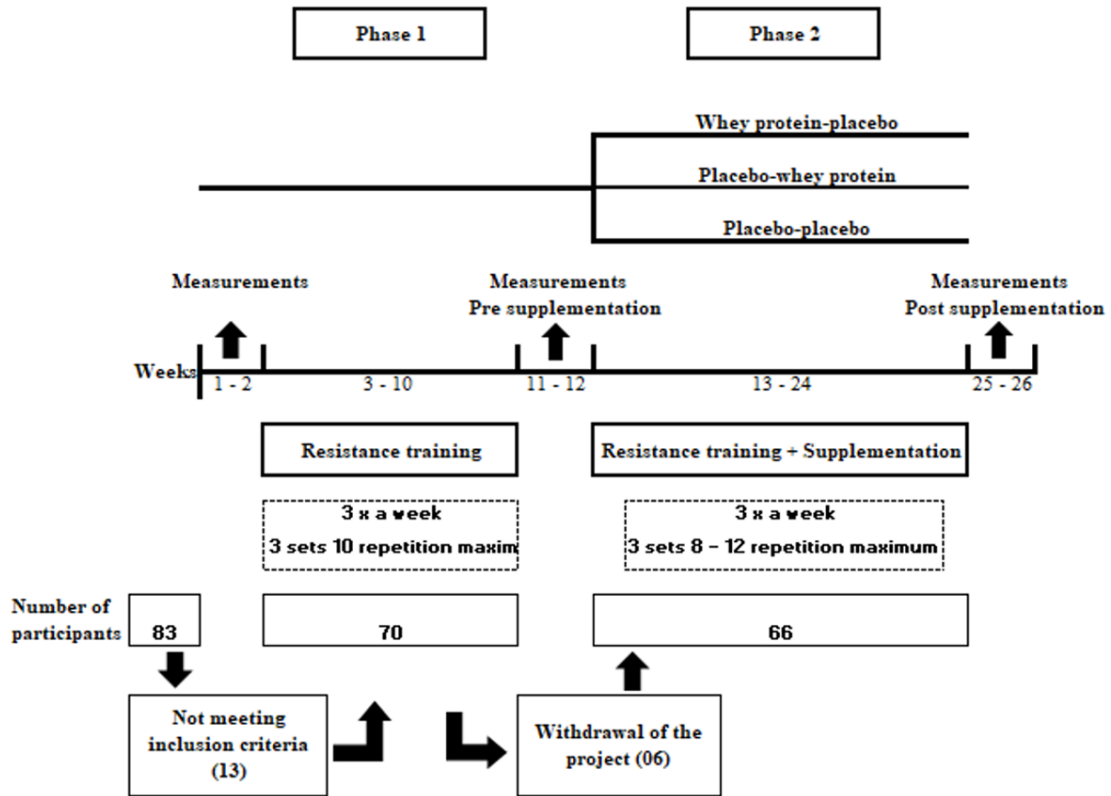


Figure 7 – Experimental study design.

5.3.2.3. Anthropometry

Body mass, height, waist circumference (WC) and hip circumference (HP) were measured according to previously described procedures. Body mass index was calculated as the body mass in kilograms divided by the square of the height in meters. The waist-hip ratio was calculated by dividing WC by HP. The previous test-retest of 12 older women measured 24-48 h apart resulted in a standard error of measurement (SEM) of 0.51 and 0.38 for WC and HP, respectively, with an intraclass correlation coefficient (ICC) > 0.99 for both variables.

5.3.2.4. Body composition

Whole-body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy, model NRL 41990, GE Lunar, Madison, WI) was used to assess appendicular lean soft tissue (ALST), total body fat (BF), trunk fat mass and appendicular fat mass (AFM) according to previously

described procedures (TOMELERI et al., 2016). An SEM of 0.19 for ALST, 0.10 kg for BF, 0.67 kg for trunk fat and 0.23kg for AFM were found, with an ICC > 0.99 for all these variables.

5.3.2.5. Biochemical analysis

Venous blood samples were collected between 7:00 am and 8:20 am after a 12 h fast and at least 72 h after the last physical exercise performed, according to previously described procedures (REPETTO et al., 1996; WITKO-SARSAT et al., 1996; TOMELERI et al., 2016) to determine glucose, total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL-C), triglycerides (TG), high-sensitivity C-reactive protein (CRP), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6). For determination of low-density protein (LDL-c) the Friedewald equation was used: $LDL-C = TC - (HDL-C + TG/5)$. Insulin was determined by the chemiluminescence method using LIASON equipment and the Homeostasis Assessment Model (HOMA-IR), calculated by the formula: $Fasting\ insulin\ (\mu UI/mL) \times Fasting\ glucose\ (mmol/L) / 22.5$. All samples were determined in duplicate to guarantee the precision of the results. Inter- and intra-assay coefficients of variation were < 10% as determined in human plasma.

5.3.2.6. Blood pressure

The resting blood pressure (BP) assessment was performed using automatic, oscillometric equipment (Omron HEM - 7113). Participants attended the laboratory on three different days and, during each visit, remained seated at rest for 10 min with the cuff of the equipment in place on the right arm, according to previously described procedures (TOMELERI et al., 2017b; NABUCO et al., 2018a). The SEMs for systolic BP and diastolic BP were 1.33 mmHg and 1.11 mmHg, with ICCs of 0.99 and 0.98, respectively.

5.3.2.7. Dietary intake

Food consumption was assessed by the 24-hour dietary recall method applied on two non-consecutive days of the week during a personal interview. A photographic manual of food portion size was used to improve the precision of dietary intake reporting (MONEGO et al., 2013) The homemade measurements of the nutritional values of food and supplementation were converted into grams and milliliters using the online software Virtual Nutri Plus (Keeple[®], Rio de Janeiro, RJ, Brazil) for diet analysis. Some foods were not found in the program database and were therefore added from food tables (PINHEIRO et al., 2009).

5.3.2.8. Supplementation protocol

Participants received a dose of 35 g of hydrolyzed whey protein (Lacprodan®, Arla Foods, Viby J, Aarhus, Denmark) and/or placebo pre and post-RT. Maltodextrin (New Millen®, São Paulo, SP, Brazil) was used as a placebo. The hydrolyzed whey protein drink contained 27.1 g of protein, 5.2 g of carbohydrates and 0.2 g of fat per portion (200 mL, 131 kcal), whereas the carbohydrate drink contained 0.3 g of protein and 33.3 g of carbohydrates per portion (200 mL, 134 kcal). The supplements were mixed with non-caloric sugar-free drinks to mask the contents (grape or passion fruit flavor). Participants ingested the drinks under the supervision of the study staff and were instructed to drink the solution as quickly as possible. Supplementation was consumed only on training days. Both the subjects and the researchers responsible for RT were blinded as to which supplement was given until the end of the trial.

5.3.2.9. Resistance training program

Supervised RT was performed during the morning hours. The protocol was based on recommendations for RT to improve muscular strength and hypertrophy in an older population (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009). In both phases, the sessions were performed 3 times per week on Mondays, Wednesdays, and Fridays. The RT program was a whole-body program with eight exercises, including: chest press, horizontal leg press, seated row, knee extension, preacher curl (free weights), leg curl, triceps pushdown, and seated calf raise. During the pre-supplementation training period (first phase), the participants performed training of three series of 10 repetition maximum (RM), in a protocol alternated by segment. During the supplementation plus RT period, the participants were submitted to conventional RT, alternated by segment, which consisted of the execution of three series of 8 to 12 RM, with fixed loads. Instructors adjusted the loads of each exercise according to subject's ability and improvements in exercise capacity throughout the investigation in order to ensure that the subjects were exercising with as much resistance as possible while maintaining proper exercise technique. The load was adjusted weekly using the procedures described (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009).

5.3.2.10. Z-score of metabolic and inflammatory profile

A Z-score of the percentage changes (from pre- to post-training) of the raw data for each metabolic and inflammatory parameter was calculated. A composite Z-score, derived from the average of the components was calculated as per the following formula:

Metabolic health: [(TC Z-score) + (TG Z-score) + (LDL-C Z-score) + (-1 x HDL-C Z-score) + (glucose Z-score) + (insulin Z-score)]/6

Inflammatory markers: [(TNF- α Z-score) + (IL-6 Z-score) + (CRP Z-score)]/3.

5.3.2.11. Statistical analyses

The Shapiro Wilk test was used to assess data distribution. Data are presented as mean, standard deviations, Z-scores, and percentage changes. One-way analysis of variance (ANOVA) and the chi-square test were used to compare groups regarding the general characteristics, Z-scores, and clinical/medical history (categorical variables). Two-way ANOVA for repeated measures was applied for comparisons pre and post 12 weeks of intervention. When the F-ratio was significant, the Bonferroni post hoc test was employed to identify the mean differences. The effect size (ES) was calculated to verify the magnitude of the differences by Cohen's *d*, with an ES of 0.20–0.49 considered as small, 0.50–0.79 as moderate, and ≥ 0.80 as large (COHEN, 1992). For all statistical analyses, significance was accepted at $P < 0.05$. The data were analyzed using SPSS software version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

5.3.3. Results

Table 9 displays the general characteristics and clinical conditions of the participants at baseline. No differences ($P > 0.05$) were observed between groups for any characteristics at baseline.

Table 9 – General characteristics, clinical history and dietary intake of the participants randomly assigned to the three intervention groups, at baseline (n=66).

	Whey protein- placebo (n = 22)	Placebo-whey protein (n = 21)	Placebo- placebo (n =23)	<i>P</i>
General characteristics^a				
Age (years)	67.5 ± 5.2	66.2 ± 9.4	66.5 ± 7.1	0.825
Body mass (kg)	68.7 ± 14.2	61.5 ± 11.5	63.9 ± 9.0	0.338
Height (cm)	156.8 ±4.6	155.5 ±6.5	155.7 ±5.4	0.698
Body mass index (kg/m ²)	26.3 ± 5.2	25.3 ± 5.4	23.8 ± 3.7	0.256
Clinical history^b				
Hypertension (n)	10	12	11	0.721
Dyslipidemia (n)	10	14	15	0.280
Type 2 diabetes (n)	03	03	03	0.993
Medical treatment^b				
Statins (n)	04	04	06	0.776
Calcium blockers (n)	02	01	01	0.765
ACE – inhibitors/angiotensin II- antagonists (n)	09	06	08	0.698
Diuretic (n)	01	02	02	0.801
Antidiabetic agents (n)	03	03	03	0.476
Dietary intake^a				
Protein (g/kg/d)	0.92 ± 0.21	0.94 ± 0.34	0.95 ± 0.27	0.902
CHO (g/kg/d)	3.1 ± 0.96	3.3 ± 1.1	3.1 ± 0.94	0.703
Lipids (g/kg/d)	0.77 ± 0.29	0.77 ± 0.28	0.70 ± 0.17	0.221
Energy (kcal/kg/d)	22.9 ± 6.3	23.8 ± 7.4	22.4 ± 5.9	0.728

Note. Data are presented as mean and standard deviation Clinical history is presented as a percentage.^a = ANOVA one-way; ^b = chi-square test.

The first eight weeks of the RT period were used to standardize the training level of the participants (Table 10). There was a significant ($P > 0.05$) increase in ALST and HDL,

and decrease in AFM, trunk fat mass, total fat mass, LDL, glucose and systolic blood pressure. There were no significant ($P > 0.05$) main effects in total cholesterol, triglycerides, insulin, HOMA-IR, diastolic blood pressure, the waist-hip ratio or CRP during the first phase.

Table 10 - Participants' scores at baseline (pre) and after (post) 8-week intervention period (n= 70).

	Pre	Post	$\Delta\%$	ES	P
ALST (kg)	15.3 \pm 2.2	15.8 \pm 2.3	3.0	0.20	<0.001
AFM (kg)	10.8 \pm 3.8	10.6 \pm 3.7	-2.0	0.08	<0.001
Trunk fat (kg)	14.2 \pm 5.6	14.1 \pm 5.8	-1.0	0.02	<0.05
Total fat mass (kg)	25.4 \pm 9.1	24.7 \pm 9.4	-2.7	0.07	<0.05
TC (mg/dL)	204.7 \pm 39.5	203.2 \pm 33.0	-0.07	0.04	0.609
TG (mg/dL)	124.2 \pm 46.4	124.6 \pm 48.4	0.3	0.01	0.937
LDL-C (mg/dL)	132.2 \pm 38.4	127.0 \pm 30.3	-4.0	0.15	<0.001
HDL-C (mg/dL)	52.0 \pm 14.1	52.9 \pm 14.6	1.8	0.06	<0.05
Glucose (mg/dL)	115.8 \pm 26.7	110.3 \pm 19.8	-4.7	0.23	<0.001
Insulin (μ U/mL)	11.3 \pm 5.9	11.4 \pm 5.7	1.0	0.02	0.664
HOMA-IR	3.4 \pm 2.5	3.2 \pm 2.1	-5.6	0.08	0.08
SBP (mmHg)	122.5 \pm 13.3	118.4 \pm 11.5	-3.3	0.32	<0.001
DBP (mmHg)	67.0 \pm 7.5	66.0 \pm 7.0	-1.5	0.14	0.115
WC (cm)	86.6 \pm 12.2	85.8 \pm 12.4	-0.9	0.07	<0.001
HC (cm)	101.2 \pm 10.2	100.1 \pm 9.1	-1.1	0.12	<0.001
Waist-hip ratio	0.85 \pm 0.1	0.85 \pm 0.1	0.2	0.03	0.694
TNF- α (pg/mL)	5.6 \pm 5.2	4.4 \pm 3.6	-22.7	0.29	<0.001
IL-6 (pg/mL)	3.5 \pm 1.8	3.1 \pm 1.5	-11.6	0.24	<0.05
CRP (mg/L)	3.2 \pm 2.6	2.8 \pm 2.0	-10.3	0.14	0.055

Note: Paired t-test. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; ALST = appendicular lean soft tissue; AFM = appendicular fat mass; TC = Total cholesterol; TG = Triglycerides; LDL-c = low density lipoprotein; HDL-c = high density lipoprotein; SBP = systolic blood pressure. DBP = diastolic blood pressure; WC = Waist circumference; HC = Hip circumference; TNF- α = Tumor necrosis factor- α ; IL-6 = interleukin-6; CRP = C-reactive protein. * $P < 0.05$ vs. pre intervention. § $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

Table 11 presents the body composition of the participants at baseline and after 12 weeks of intervention. An interaction of time vs. group was observed ($P < 0.001$) for ALST with the whey protein supplementation groups showing greater increases compared with the

PLA-PLA group (PLA-WP = 3.9%; PLA-PLA = 1.8%), without differences between the timing of protein intake. Participants supplemented with whey protein post-RT presented a decrease ($P < 0.05$) in total fat mass (-3.1% vs. -0.3%), trunk fat mass (-3.8% vs. -0.1%), and the ALST/AFM ratio (5.8% vs. 1.3%) compared with the PLA-PLA group. In all the groups, a main effect of time ($P < 0.05$) was observed for ALST, ALST/AFM ratio and trunk fat mass.

The metabolic profile assessed before and after the intervention is presented in Table 12. A time vs. group interaction was observed ($P < 0.001$) for the TC/HDL-C ratio, with both WP-PLA and PLA-WP presenting higher decreases compared with the PLA-PLA, without differences ($P > 0.05$) between the timing of protein intake. In all the groups, a main effect of time ($P < 0.05$) was observed for HDL-c, TC, glucose, the LDL-c/HDL-c ratio, WC, and inflammatory biomarkers.

Table 11 – Body composition of the participants at baseline and after 12 weeks of intervention, in the groups that ingested whey protein before or after RT and in the placebo group (n = 66)

	Whey protein-placebo (n = 22)				Placebo- whey protein (n = 21)				Placebo-placebo (n = 23)				Interaction
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	P-value
AFM (kg)	11.2 ± 3.8	11.3 ± 3.7	0.9	0.03	10.8 ± 4.5	9.8 ± 3.0	-0.9	0.02	9.8 ± 3.0	9.9 ± 3.1	0.8	0.03	0.581
ALST/AFM ratio	1.62 ± 0.61	1.65 ± 0.64*	2.1	0.06	1.67 ± 0.57	1.76 ± 0.64*§	5.8	0.16	1.64 ± 0.43	1.66 ± 0.44*	1.3	0.05	< 0.05
Trunk fat (kg)	15.2 ± 6.0	14.8 ± 5.6*	-2.5	0.06	14.1 ± 6.7	13.5 ± 6.6*§	-3.8	0.08	12.9 ± 4.8	12.9 ± 4.8*	-0.1	0	< 0.05
Total fat mass (kg)	25.2 ± 7.8	24.9 ± 7.6	-1.2	0.04	23.2 ± 8.4	22.6 ± 8.3*§	-3.1	0.09	22.9 ± 7.5	22.8 ± 7.6	-0.3	0.01	< 0.05

Note: Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; ALST = appendicular lean soft tissue; AFM = appendicular fat mass; CHO = carbohydrates. * $P < 0.05$ vs. pre intervention; § $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

Table 12 – Cardio-metabolic risk factors of older women over 12 weeks of intervention, in the groups that ingested whey protein before or after RT and in the placebo group. (n = 66)

	Whey protein-placebo (n = 22)				Placebo- whey protein (n = 21)				Placebo-placebo (n = 23)				Interaction
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	P-value
Lipid profile													
TC (mg/dL)	200.2 ± 34.7	190.6 ± 33.7*	-4.8	0.28	214.4 ± 30.8	203.2 ± 28.3*	-5.2	0.38	200.8 ± 31.3	201.2 ± 40.2	0.2	0.01	0.157
TG (mg/dL)	132.0 ± 43.1	123.5 ± 41.0	-6.5	0.20	111.5 ± 55.4	105.8 ± 42.0	-5.2	0.12	124.6 ± 40.7	118.4 ± 39.8	-5.0	0.15	0.953
LDL-C (mg/dL)	124.1 ± 32.9	119.4 ± 33.7	-3.8	0.14	131.2 ± 28.7	123.8 ± 32.6	-5.7	0.24	128.0 ± 27.2	127.5 ± 38.5	-0.4	0.02	0.479
HDL-C (mg/dL)	46.5 ± 11.5	50.2 ± 11.2*	7.9	0.32	55.6 ± 12.3	60.3 ± 11.1*	8.3	0.39	52.3 ± 12.9	54.5 ± 13.1*	4.2	0.17	0.382
TC/HDL-C	4.5 ± 1.2	3.9 ± 0.9*§	-12.1	0.51	3.7 ± 1.1	3.3 ± 0.7*§	-13.2	0.57	3.9 ± 1.1	3.9 ± 1.2*	-0.7	0.02	0.010
LDL-C/HDL-C	2.4 ± 1.0	2.5 ± 0.8*	-13.4	0.41	2.3 ± 0.8	2.1 ± 0.7*	-11.5	0.34	2.5 ± 0.9	2.5 ± 1.0	-2.0	0.05	0.077
Insulin resistance index													
Glucose (mg/dL)	106.5 ± 8.8	102.0 ± 9.6*	-4.2	0.49	102.8 ± 9.0	97.9 ± 8.0*	-4.8	0.57	107.4 ± 11.4	105.5 ± 11.2	-1.7	0.16	0.266
Insulin (μU/mL)	11.6 ± 4.1	11.6 ± 4.2	0.1	0	12.0 ± 6.7	11.3 ± 6.3	-6.0	0.11	9.5 ± 5.1	10.2 ± 5.0	7.2	0.14	0.401
HOMA-IR	3.2 ± 1.2	3.1 ± 1.3	-3.8	0.09	2.8 ± 1.6	2.6 ± 1.6	-7.5	0.13	2.7 ± 1.6	2.8 ± 1.6	3.6	0.06	0.596
Blood pressure													
SBP (mmHg)	119.8 ± 11.3	122.4 ± 12.9	2.2	0.21	117.6 ± 11.0	118.5 ± 10.4	+0.8	0.09	117.9 ± 12.6	120.6 ± 14.3	2.5	0.22	0.651
DBP (mmHg)	67.0 ± 6.8	67.2 ± 6.9	0.3	0.03	64.6 ± 7.0	63.2 ± 8.6	-2.0	0.16	66.3 ± 7.2	65.7 ± 8.9	-0.9	0.08	0.747
Anthropometric measurements													
WC (cm)	88.9 ± 13.7	87.5 ± 12.5*	-1.7	0.11	83.7 ± 12.5	83.6 ± 11.7*	-2.1	0.15	83.1 ± 10.7	82.4 ± 10.1*	-0.8	0.07	0.276
HC (cm)	101.9 ± 8.4	102.0 ± 8.1	0.1	0.02	100.1 ± 11.2	100.2 ± 10.9	0.1	0.01	98.4 ± 7.2	99.4 ± 7.6	1.1	0.15	0.143

Waist-hip ratio	0.87 ± 0.07	0.85 ± 0.07	-1.8	0.21	0.85 ± 0.07	0.83 ± 0.05	-2.2	0.31	0.84 ± 0.07	0.83 ± 0.06	-1.9	0.24	0.878
<i>Inflammatory biomarkers</i>													
TNF-α (pg/mL)	4.2 ± 3.4	3.3 ± 4.2*	-21.2	0.23	4.7 ± 3.2	3.9 ± 2.5*	-18.3	0.31	4.3 ± 3.2	3.6 ± 3.3*	-15.9	0.21	0.961
IL-6 (pg/mL)	3.2 ± 1.8	2.9 ± 1.8*	-10.9	0.19	3.2 ± 1.4	2.6 ± 1.2*	-18.8	0.45	2.9 ± 1.4	2.7 ± 1.3*	-5.3	0.11	0.545
CRP (mg/L)	2.8 ± 1.9	2.3 ± 1.3*	-18.2	0.32	3.2 ± 2.6	2.3 ± 1.7*	-27.7	0.41	2.6 ± 1.5	2.1 ± 1.7*	-17.9	0.29	0.582

Note: ANOVA two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; TC = Total cholesterol; TG = Triglycerides; LDL-c = low density lipoprotein; HDL-c = high density lipoprotein; SBP = systolic blood pressure. DBP = diastolic blood pressure; WC = Waist circumference; HC = Hip circumference; TNF-α = Tumor necrosis factor-α; IL-6 = interleukin-6; CRP = C-reactive protein. * $P < 0.05$ vs. pre intervention. § $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

The composite Z-score of the percentage changes from pre- to post-training for metabolic and inflammatory profile are displayed in Figure 2. The PLA-WP displayed an improvement in metabolic profile ($P < 0.05$) compared to the PLA-PLA (Metabolic Z-score: WP-PLA = -0.11 ± 0.47 ; PLA-WP = -0.15 ± 0.39 ; PLA-PLA = 0.25 ± 0.70). No difference was found in inflammatory Z-score.

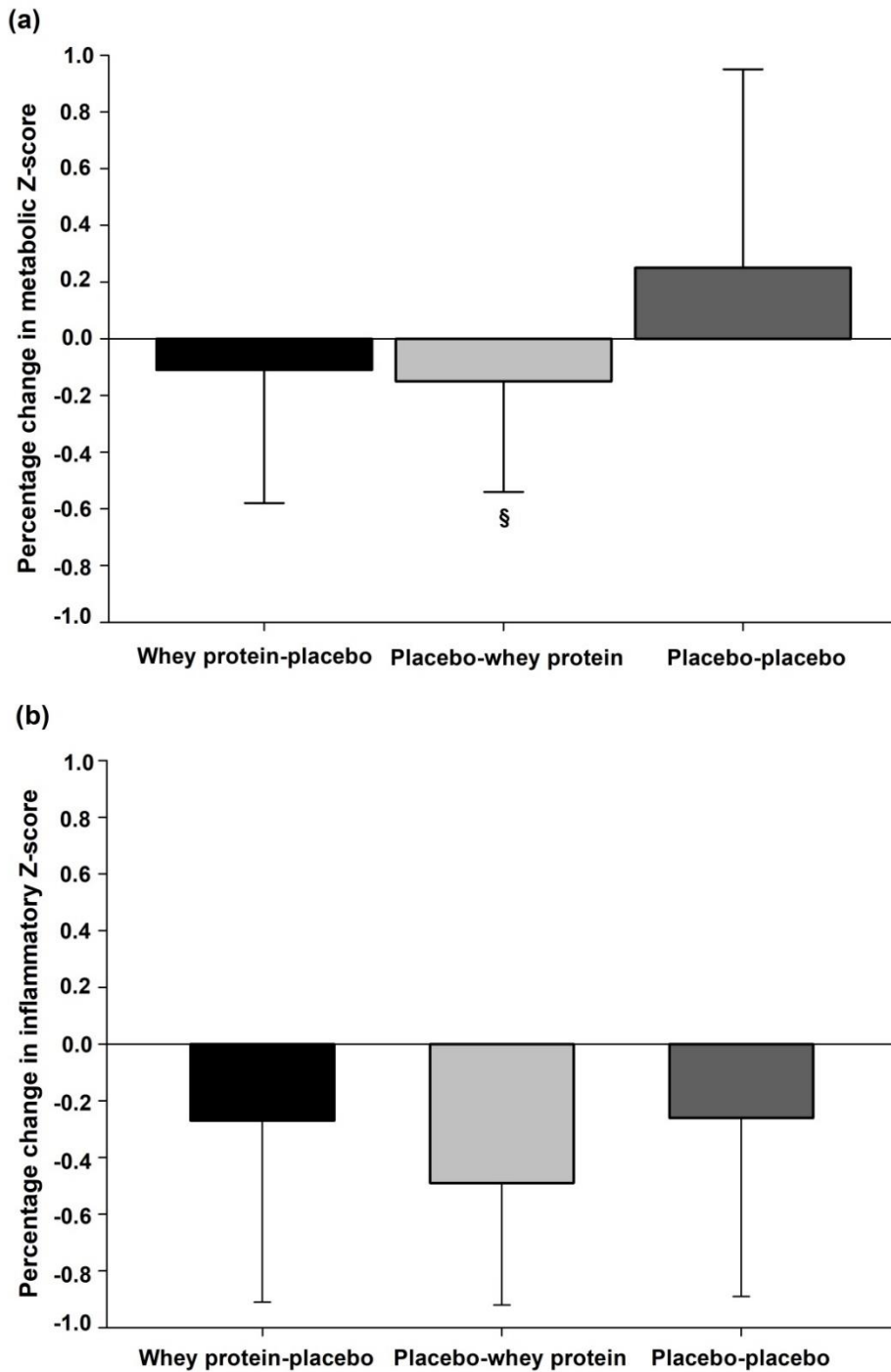


Figure 8 – Percentage change in metabolic (a) and inflammatory (b) Z-score after 12 weeks of a combined whey protein supplementation with resistance training. § $P < 0.05$ vs. placebo-placebo.

5.3.4. Discussion

The findings from this investigation showed that combined WP supplementation with RT led to greater ALST gains and a reduction in the TC/HDL-C ratio in pre-conditioned older women. In addition, whey protein supplementation after RT significantly improved fat mass and the metabolic Z-score compared with the PLA-PLA. Our hypothesis was partially confirmed, as no significant differences between the WP-PLA and PLA-WP groups were observed.

This is the first study to investigate the effects of whey protein supplementation, administered before and after RT, on fat mass, and the metabolic and inflammatory profile of pre-conditioned older women. Previous studies with older men showed no differences between the timing of protein intake administration on evaluations on body composition, muscular strength, glucose, 24-h urine collection, myofibrillar degradation, and bone resorption (CANDOW et al., 2006; VERDIJK et al., 2009).

However, these studies only focused on the effects of supplementation on muscle mass and muscular strength, and did not investigate whether there were differences in the metabolic or in inflammatory profile of previously resistance-trained individuals. A previous investigation reported no differences between protein intake before or after 2 hours of RT on body composition and cardio-metabolic risk factors in middle-aged diabetics (WYCHERLEY et al., 2010). However, in this investigation, participants followed an energy-restricted diet and post-RT supplementation was delayed by two hours.

Our investigation suggests that whey protein supplementation, administered either before or after RT, was effective for increasing ALST, a relevant predictor of skeletal muscle mass. This result is in agreement with research demonstrating that pre-conditioned older women benefited from whey protein supplementation (SUGIHARA JUNIOR et al., 2017; FERNANDES et al., 2018; NABUCO et al., 2018b). Indeed, to increase skeletal muscle mass a positive net-protein balance is required, that is, the rate of muscle protein synthesis must overcome muscle protein breakdown. Whey protein is the best protein source, as it contains branched chain amino acids (valine, isoleucine and leucine), essential to activate muscle protein synthesis (DEVRIES e PHILLIPS, 2015).

Whey protein post-RT reduced total body fat and trunk fat and promoted further increases in the ALST/AFM ratio when compared to the PLA-PLA. It is expected that the improvement in the ALST/AFM ratio was due to the significant increase in ALST and

reduction in body fat mass. Similarly, a previous study conducted with sarcopenic overweight older men (MALTAIS et al., 2016) after a 12-week RT protocol, found fat mass reductions and ALST gains without caloric restriction, after dairy supplementation associated with RT. It is still questionable which mechanisms are involved in the mobilization of fat mass, although a few studies have advanced potential hypotheses. First, protein intake increases satiety. Improvement in appetite regulation may occur due to higher levels of circulating amino acid concentrations and appetite hormone production (glucagon-like peptide 1, cholecystokinin, peptide tyrosine-tyrosine and insulin) (GILBERT et al., 2011). Second, whey proteins, like any dairy product, are rich in calcium. High concentrations of this micronutrient may impair dietary fat absorption through the formation of insoluble calcium soaps (calcium + free fatty acids and / or bile) reducing fat absorption (GONZALEZ et al., 2012). Finally, the high calcium content in the diet reduces the concentrations of calcitropic hormones (parathyroid and 1,25-dihydroxyvitamin D), which in turn decreases lipogenesis and increases lipolysis, thus leading to fatty acid availability for fat oxidation (GONZALEZ et al., 2012). On average, the PLA-WP group lost 0.7 kg of total body fat, partially extending the findings of a previous review showing an average loss of 1.7 kg in 24 weeks in energy-restricted individuals (GONZALEZ et al., 2012).

We observed that regardless of the timing of whey protein administration, a significant reduction occurred in the TC/HDL ratio, an important index of cardiovascular risk compared to TC alone (MILLAN et al., 2009). Previous investigations have demonstrated improvements in lipid metabolism after whey protein supplementation (PAL et al., 2010; PAL and ELLIS, 2011; FEKETE et al., 2016b). In pre-conditioned older women, high protein intake post-RT also reduces this ratio (FERNANDES et al., 2018). Mechanisms that could explain the effects of whey protein on lipid metabolism have not been fully determined. It seems that whey protein inhibits the activity of HMG-CoA reductase (rate-limiting enzyme for cholesterol synthesis) reducing de novo cholesterol synthesis in the liver (PAL and RADAVELLI-BAGATINI, 2013). Furthermore, as previously mentioned, calcium from whey protein reduces the absorption of fats (GONZALEZ et al., 2012). Finally, reduction in fat mass and especially trunk fat, also contributed to improvements in blood markers, since abdominal fat mass has a greater association with metabolic alterations (ZAMBONI et al., 2013).

An earlier investigation conducted by our research group found that changes in fat mass (promoted by RT), mainly located in the trunk area, were associated with improvements in the plasmatic levels of glucose, HDL-c and LDL-c, and inflammatory cytokines (TOMELERI et al., 2016). Groups supplemented with whey protein presented a greater percentage reduction in TNF- α , IL-6 and CRP compared to the PLA-PLA, due to a potential additional effect of protein supplementation. Moreover, RT alone is effective in

improving the metabolic and inflammatory profile (RIBEIRO et al., 2016b; TOMELERI et al., 2016), although these improvements may be influenced by the training status (RIBEIRO et al., 2015b).

Considering general improvement in the metabolic profile, the PLA-WP presented a superior benefit (Figure 8). Although the mechanisms are not well elucidated, we may speculate that digestion processes associated with mechanical stress during RT may have attenuated the effects of whey protein administered before RT. It is possible a longer intervention period (whey protein + RT) may be required for additional benefits of whey protein supplementation in such a healthy and physically active population.

There are some limitations in this study. First, we used maltodextrin to blind the study. Maltodextrin has been used as a control in several studies, since it is a good source of energy and promotes an isocaloric condition. However, maltodextrin may have influenced some outcomes such as glucose, TG, and total fat mass. The whey protein groups also consumed this product and demonstrated improvements. Second, our participants are healthy older individuals, and this may explain in part why we did not observe many changes in metabolic profile. Finally, physical activity was not assessed during the free living condition, although RT beyond that provided by the university was not expected. This is the first study to investigate the effects of whey protein supplementation, administered before and after RT on the cardio-metabolic profile in older women. Dietary intake pre- and post-intervention was monitored to assure that no changes in habitual food intake occurred during the study.

5.3.5. Conclusion

Whey protein supplementation pre- or post- RT promotes an increased in ALST and a reduction in the TC/HDL-C ratio in pre-conditioned older women. Whey protein administered after RT was more effective in improving the Z-score of the metabolic profile and reducing body fat compared to the placebo group, but without differences from the pre-RT supplementation group.

5.4. Effects of pre- or post-exercise whey protein supplementation on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in pre-conditioned older women: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial

Abstract

Background: Oxidative stress is an imbalance between antioxidant system and production of free radicals and has been associated with the age-related deleterious changes. The defense system can be modulated by exercise and nutrition. **Objective:** The purpose of this investigation is evaluate the effect of whey protein supplementation pre- or post- resistance training on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in pre-conditioned older women. **Methods:** In a randomized, double-blind and placebo-controlled design, 70 older women (≥ 60 years) were randomly assigned to one of three groups: whey protein placebo (WP-PLA, $n = 24$), placebo-whey protein (PLA-WP, $n = 23$) and placebo-placebo (PLA-PLA, $n = 23$). Each group received 35 g of whey product or placebo pre- and post- training. The RT program was carried out over 12 weeks (3x/week; 3 X 8-12 repetitions maximum). Oxidative stress and blood markers were assessed before and after intervention period. ANOVA for repeated measures was used for data analysis. **Results:** There was a significant time effect ($P < 0.05$), with all groups showing improvements in all oxidative stress markers and antioxidant enzyme activity. A significant ($P < 0.001$) interaction time vs. group was observed for uric acid, with both WP-PLA and PLA-WP presenting greater reduces compared with the PLA-PLA, without differences between the timing of protein intake (WP-PLA: -8.3%; PLA-WP: -11.0%; PLA-PLA: -2.0%). **Conclusion:** In already pre-conditioned older women, whey protein supplementation shows a reducing in uric acid and no further effect on antioxidant enzyme activity and oxidative stress markers. ClinicalTrials.gov: NCT03247192

Key words: Aging, strength training, catalase, AOPP, protein timing.

Resumo

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre o sistema antioxidante e a produção de radicais livres e tem sido associado às alterações deletérias relacionadas à idade. O sistema de defesa pode ser modulado por exercício e nutrição. Assim, o objetivo desta investigação é avaliar o efeito da suplementação proteica de *whey protein* pré ou pós-treinamento com pesos sobre o estresse oxidativo e atividade de enzimas antioxidantes em mulheres idosas treinadas. Em um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, 70 mulheres idosas (≥ 60 anos) foram aleatoriamente designadas para um dos três grupos: placebo-*whey protein* (WP-PLA, $n = 24$), placebo-*whey protein* (PLA-WP, $n = 23$) e placebo-placebo (PLA-PLA, $n = 23$). Cada grupo recebeu 35 g de produto de *whey protein* ou placebo. O programa

de treinamento com pesos foi realizado durante 12 semanas (3x/semana; 3 X 8-12 repetições máximas). O estresse oxidativo e os marcadores sanguíneos foram avaliados antes e após o período de intervenção. A ANOVA para medidas repetidas foi usada para análise de dados. Houve um efeito significativo do tempo ($P < 0,05$), com todos os grupos mostrando melhorias em todos os marcadores de estresse oxidativo e atividade das enzimas antioxidantes. Uma interação grupo vs. tempo ($P < 0,001$) foi observado para o ácido úrico, com ambos os grupos WP-PLA e PLA-WP apresentando maiores reduções em comparação com o PLA-PLA, sem diferenças entre o tempo de ingestão de proteína (WP-PLA: -8,3%; PLA-WP: -11,0%; PLA-PLA: -2,0%). Em mulheres idosas já treinadas, a suplementação de *whey protein* mostra uma redução no ácido úrico e nenhum efeito adicional sobre a atividade de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo. ClinicalTrials.gov: NCT03247192

Palavras-chave: Envelhecimento, treinamento de força, catalase, AOPP.

5.4.1. Introduction

Over last 20 years, it was demonstrated that exercise increase antioxidant protein and activity (POWERS et al., 2016). Briefly, data indicate that, at moderately increased levels (when induced by moderated exercise), reactive oxygen species (ROS) acts as intracellular signalling to up-regulate endogenous antioxidant enzymes as part of tissue adaptation (STEINBACHER e ECKL, 2015). These findings renew the long-standing perspective that ROS may harm muscle tissues and must be restrained. In fact, several authors have recently demonstrated that exercise-induced ROS generation play a key role in skeletal muscle phenotype (STEINBACHER and ECKL, 2015; POWERS et al., 2016).

Resistance training (RT) is widely considered an important intervention for promoting well-being, increasing longevity and healthy aging (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009; GARBER et al., 2011). Some studies have shown that RT may cause specific adaptations on antioxidant enzymes (DE GONZALO-CALVO et al., 2013) and mitigate the effects of oxidative damage on healthy elderly as consequence (DE GONZALO-CALVO et al., 2013; PADILHA et al., 2015a; RIBEIRO et al., 2017b).

Protein supplementation seems to be a good strategy to maximize the muscle phenotype caused by RT, including attenuating the deleterious effects of aging (CERMAK et al., 2012; MORTON et al., 2017). Indeed, whey protein has been demonstrated to have antioxidant properties, since it is rich in cysteine and lactoferrin, which constitute an essential part of the antioxidant barrier against free radicals and tissue damage, thereby preventing the onset of oxidative stress (OS) and preserving mitochondrial integrity (MARSHALL, 2004;

DRAGANIDIS et al., 2016). This antioxidant capacity has been studied in the combat against cancer (BOUNOUS, 2000), in the treatment of non-alcoholic hepatic steatosis (CHITAPANARUX et al., 2009), overweight people with diabetes mellitus (FLAIM et al., 2017) and glutathione deficiency in patients with HIV (human immunodeficiency virus) (MICKE et al., 2001). Both animal and clinical studies showed that WP can increase total antioxidant capacity and antioxidant enzymes (CHITAPANARUX et al., 2009; ATHIRA et al., 2013; FLAIM et al., 2017), and also reduce OS markers (EBAID et al., 2011; HAMAD et al., 2011; ATHIRA et al., 2013). The exact mechanism underlying the antioxidant activity is not fully understood, however, it seems that peptides released from whey protein are inhibitors of lipid peroxidation, scavengers of free radicals, and chelators of transition metal ions (ATHIRA et al., 2013; DRAGANIDIS et al., 2016).

When added to RT, protein supplementation has shown different effects on antioxidant enzyme activity in older people (SHAHAR et al., 2013; FRANZKE et al., 2015). Franzke et al. (2015) investigated the effect of whey protein supplementation and RT on DNA damage and antioxidant enzymes in institutionalized older people and showed that supplementation plus RT group significant increased SOD; however, they didn't analyze the interaction effect, only effect of time. Shahar et al. (2013) conducted a study with sarcopenic elderly and showed that soy protein did not provide additional effect on RT responses. However, both studies have used RT with elastic band, in which can produce different responses from RT with machines (DE OLIVEIRA et al., 2016). Moreover, training status can influence OS responses to RT and whey protein together. In young adults the training status did not influence OS responses to RT alone (CAKIR-ATABEK et al., 2015), however this result cannot be extrapolated to older people taking protein supplementation.

Therefore, studies have demonstrated that exercise training, including RT contributes to enhance cell antioxidant potential which may minimize oxidative damage caused by several conditions. It is also recently demonstrated, the capacity of whey protein supplementation to counteract OS and oxidative damage (SHAHAR et al., 2013; FRANZKE et al., 2015). It is not known, however, whether whey protein supplementation and RT have merged effect on antioxidant metabolism. Therefore, the purpose of this randomized, double-blind, placebo-controlled design was to analyze the effect of combined whey protein and RT intervention on antioxidant enzyme activity and oxidative damage markers in pre-conditioned older women. We hypothesized that whey protein may potentialize RT-enhanced antioxidant capacity by up-regulating antioxidant enzymes activities and which may reduce oxidative damage markers.

5.4.2. Methods

5.4.2.1. Experimental design

This three-arm randomized, double-blind, placebo-controlled design as previously described (NABUCO et al., 2018b). Briefly, the investigation was carried out over a period of 26 weeks divided in two phases. The first phase of the study was an eight-week period (weeks 3-10), during which participants were familiarized to RT. In Phase 2, supplementation phase, the participants were randomized in three groups and started 12 weeks dedicated to whey protein supplementation plus RT (weeks 13-24). At the beginning and the end of each phase of the experiment, two weeks were allocated for evaluations (weeks 1-2, 11-12 and 25-26) consisting of anthropometric, blood sampling to oxidative stress and blood markers assay and dietary intake measurements. The RT sessions were conducted at the University training facility. Figure 1 presents the experimental design adopted for the present study.

5.4.2.2. Participants

Recruitment was carried out through newspaper and radio advertising. All participants completed health history and physical activity questionnaires and met the following inclusion criteria: 60 years old or more, physically independent, free from cardiac or orthopedic dysfunction, not receiving hormonal replacement and/or thyroid therapy, not using equipment that would prevent the accomplishment of protocols and tests, and not performing any regular physical exercise for 6 months preceding the beginning of the study. Participants have passed a diagnostic graded exercise stress test with 12-lead electrocardiogram reviewed by a cardiologist and were released with no restrictions for participation in this investigation.

Eighty-three Brazilian older women (≥ 60 years old), volunteered to participate in this investigation. After individual interviews, thirteen volunteers were excluded because they did not meet the inclusion criteria. Seventy participants were submitted to a standardized resistance training (RT) program, for eight weeks. After the assessments, the participants were randomly allocated into three groups according to their relative strength (ratio of total strength obtained on 1-repetition maximal tests by body mass): (1) whey protein pre-RT and placebo post-RT (WP-PLA, $n = 24$), (2) placebo pre-RT and whey protein post-RT (PLA-WP, $n = 23$), and (3) placebo pre-RT and post-RT (PLA-PLA, $n = 23$). A blinded researcher was responsible for generating random numbers for participant allocation. All groups were submitted to the same RT program and 66 participants completed the experiment. The reasons for withdrawal from the study were reported as personal reasons and public transportation issues.

Written informed consent was obtained from all participants after a detailed description of investigation procedures was provided. This investigation was conducted according to the Declaration of Helsinki and was approved by the local University Ethics Committee (n° 1.700.756).

5.4.2.3. Biochemical analysis

Venous blood samples were collected into between 7:00 am and 8:20 am after a 12 h fast and after at least 72 h since the last physical exercise, to determine albumin, hematocrit, uric acid, urea, creatinine, advanced oxidation protein products (AOPP), plasma lipidhydroperoxides (by ferrous oxidation-xylenol orange - FOX), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP), superoxide dismutase (SOD) and catalase, according to previously described procedures (NOUROOZ-ZADEH et al., 1995; REPETTO et al., 1996; WITKO-SARSAT et al., 1996; TOMELERI et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017b). Glomerular filtration rate (GFR) was calculated using the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) equation (LEVEY et al., 2009).

5.4.2.4. Dietary intake

Food consumption was assessed by the 24-hour dietary recall method applied on two non-consecutive days of the week, pre- and post-intervention. It was used a photographic manual of food portion size to improve the amount of dietary intake (MONEGO et al., 2013). The homemade measurements of the nutritional values of food and supplementation were converted into grams and milliliters by the online software Virtual Nutri Plus (Keeple®, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil) for diet analysis. Some foods were not found in the program database and therefore several items were added from food tables (PINHEIRO et al., 2009).

5.4.2.5. Supplementation protocol

Participants received a dose of 35 g of hydrolyzed whey protein (Lacprodan®, Arla Foods, Denmark) and/or placebo (Maltodextrin New Millen®, Brazil) pre and post-12 weeks of RT. The supplements were mixed with non-caloric sugar-free drinks to mask the contents (grape or passion fruit flavor). Participants ingested the drinks under the supervision of the study staff and were instructed to drink the solution. Supplementation was consumed only on training days, 1 hour before RT and immediately after RT. Both the subjects and the researchers responsible for the RT were blinded as to which supplement was given until the end of the trial.

5.4.2.6. Resistance training program

Supervised RT was performed during the morning hours. The protocol was based on recommendations for RT in an older population to improve muscular strength and hypertrophy (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009; GARBER et al., 2011). RT experienced professionals supervised all participants to help ensure consistent and safe exercise performance. The RT program was a whole-body program with eight exercises, including: chest press, horizontal leg press, seated row, knee extension, preacher curl (free weights), leg curl, triceps pushdown, and seated calf raise, performed 3 times per week on Mondays, Wednesdays, and Fridays, for a total of 20 weeks of RT (8 weeks with RT only and 12 weeks with RT plus supplementation).

Throughout the investigation, instructors adjusted the loads of each exercise according to the subject's abilities and improvements in exercise capacity in order to ensure that the subjects were exercising with as much resistance as possible while maintaining proper exercise technique. The load was adjusted weekly using procedures described elsewhere (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, 2009). During each RT session, researchers wrote down the load performed by participants for each exercise. Thus, the sum of the load used in the 3 sets of the 8 exercises was considered the total session load, and then the weekly training load was determined by the sum of the 3 sessions of a week (RIBEIRO et al., 2017b).

5.4.2.7. Statistical analyses

The Shapiro Wilk was used to test data distribution. Data are presented as mean and standard deviations. A one-way analysis of variance (ANOVA) was applied to verify the differences among groups on the general characteristics. Two-way ANOVA for repeated measures was applied for comparisons. When F-ratio was significant, Bonferroni's post hoc test was employed to identify the mean differences. The effect size (ES) was calculated to verify the magnitude of the differences by Cohen's *d*, where an ES of 0.20–0.49 was considered as small, 0.50–0.79 as moderate and ≥ 0.80 as large (COHEN, 1992). For all statistical analyses, significance was accepted at $P < 0.05$. The data were analyzed using SPSS software version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

5.4.3. Results

The general characteristics of the participants at baseline are presented in Table 13. There was no significant statistical difference in any anthropometric measured among groups.

Table 13 – General characteristics of the participants at baseline of supplementation (n = 66).

	Whey protein- placebo (n = 22)	Placebo-whey protein (n = 21)	Placebo- placebo (n = 23)	<i>P</i>
Age (years)	67.5 ± 5.2	66.2 ± 9.4	66.5 ± 7.1	0.825
Body mass (kg)	69.0 ± 14.8	65.4 ± 16.6	62.2 ± 10.4	0.271
Height (cm)	156.8 ± 4.6	155.5 ± 6.5	155.7 ± 5.4	0.698
Body mass index (kg/m ²)	26.3 ± 5.2	25.3 ± 5.4	23.8 ± 3.7	0.256

Note. Anova one-way. Data are presented as mean and standard deviation. RE = retinol equivalents

Daily intake of total energy and macronutrients at pre- and post- 12wk RT are shown in Table 14. There were no significant ($P > 0.05$) main effects, indicating that the habitual daily energy and macronutrients intake were not different between groups and did not change over time. However, when evaluating the adequacy of intake of macro and micronutrients, protein, vitamin E, selenium and zinc are below the recommended for the elderly in all groups. On the other hand, carbohydrates and total energy consumption are above recommending in all groups.

Table 14 – Habitual dietary intake of the older women measured at pre and post-12 weeks of intervention (n = 66).

	Whey protein – Placebo (n = 22)		Placebo – Whey protein (n = 21)		Placebo - Placebo (n = 23)		Interaction <i>P</i> -value	Recommendation
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Protein (g/kg/day)	0.92 ± 0.20	0.96 ± 0.19	0.94 ± 0.36	0.98 ± 0.24	0.95 ± 0.27	0.99 ± 0.25	0.914	≥ 1.2 g/kg/kcal (PHILLIPS et al., 2016)
CHO (g/day)	203.3 ± 48.9	204.9 ± 38.2	202.7 ± 45.5	205.2 ± 53.3	187.0 ± 35.8	194 ± 32.9	0.879	130 g/day (PADOVANI et al., 2006)
Lipids (g/day)	47.2 ± 14.3	47.0 ± 9.8	47.4 ± 13.9	46.8 ± 19.0	41.2 ± 10.0	45.8 ± 14.6	0.511	N/D (PADOVANI et al., 2006)
Energy (kcal/day)	1495 ± 237	1496 ± 206	1477 ± 298	1490 ± 370	1378 ± 198	1437 ± 231	0.566	2400 kcal/day (PADOVANI et al., 2006)
Vitamin A (RE)	848.7 ± 454.3	990.2 ± 262.9	812.9 ± 404.6	774.0 ± 385.9	715.4 ± 278.6	849.4 ± 396.0	0.371	700 RE (PADOVANI et al., 2006)
Vitamin C (mg)	136.1 ± 43.0	164.9 ± 57.1	158.1 ± 63.4	193.9 ± 92.7	128.6 ± 51.7	125.7 ± 74.7	0.521	75 mg (PADOVANI et al., 2006)
Vitamin E (mg)	10.5 ± 3.3	10.9 ± 0.5	10.1 ± 2.8	10.9 ± 0.81	10.0 ± 2.8	10.8 ± 0.33	0.884	15 mg (PADOVANI et al., 2006)
Selenium (µg/day)	52.3 ± 18.4	46.8 ± 9.6	46.0 ± 12.9	47.3 ± 7.0	47.7 ± 13.8	46.7 ± 6.7	0.301	55 µg/day (PADOVANI et al., 2006)
Zinc (mg/day)	6.9 ± 1.7	6.7 ± 2.6	7.4 ± 1.9	7.2 ± 2.8	6.4 ± 1.6	6.7 ± 2.9	0.878	8 mg/day (PADOVANI et al., 2006)

Note: ANOVA two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. Supplementation data is not included. ES = effect size; CHO = carbohydrates; N/D = Not determined; RE = retinol equivalent. No significant differences were found.

Blood markers, renal function and total training load at weeks 1 and 12 are displayed in Table 15. A significant ($P < 0.001$) interaction time vs. group was observed for uric acid, with both WP-PLA and PLA-WP presenting greater reduces compared with the PLA-PLA, without differences between the timing of protein intake. There was a significant time effect ($P < 0.05$) with all groups showing increases in albumin, urea, creatinine and training load.

Table 16 indicates the OS markers and antioxidant enzyme activity values at pre- and post-intervention period according to groups. Twelve weeks of RT significantly ($P < 0.05$) up-regulated SOD and CAT plasma activities for all groups studied. It is promoted elevated ($P < 0.05$) plasma antioxidant capacity demonstrated by TRAP assay. As consequence, significantly ($P < 0.05$) decreased plasma AOPP and lipid hydroperoxide was demonstrated after RT. Whey protein supplementation did not potentialized RT changes since no interactions were demonstrated.

Table 15 – Blood markers, renal function and training load at baseline (pre) and after (post) 12-week intervention period of intervention (n= 66).

	Whey protein-placebo (n = 22)				Placebo- whey protein (n = 21)				Placebo-placebo (n = 23)				Interaction
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	<i>P</i> -value
Albumin (g/gL)	3.95 ± 0.3	4.1 ± 0.3*	3.1	0.41	3.94 ± 0.2	4.1 ± 0.3*	3.2	0.48	3.97 ± 0.1	4.08 ± 0.1*	2.6	0.75	0.902
Hematocrit (g/dL)	31.1 ± 2.3	31.5 ± 2.3	1.0	0.14	31.7 ± 2.1	32.2 ± 2.6	1.1	0.16	32.5 ± 2.2	32.4 ± 3.2	-0.2	0.03	0.871
Uric acid (mg/dL)	4.7 ± 1.5	4.3 ± 1.4*§	-8.3	0.27	4.9 ± 1.4	4.3 ± 1.3*§	-11.0	0.39	4.6 ± 1.0	4.4 ± 1.1*	-2.0	0.09	< 0.05
Urea (mg/dL)	34.0 ± 9.2	35.7 ± 7.8*	5.1	0.20	35.4 ± 6.2	38.9 ± 8.4*	9.8	0.48	33.6 ± 5.6	37.5 ± 7.6*	11.7	0.59	0.372
Creatinine (mg/dL)	0.83 ± 0.13	0.86 ± 0.12*	2.8	0.19	0.89 ± 0.15	0.91 ± 0.16*	2.5	0.15	0.84 ± 0.13	0.86 ± 0.12*	1.8	0.15	0.920
GFR (mL/min/1.73 m ²)	74.7 ± 12.5	72.7 ± 11.5	-2.8	0.17	65.6 ± 15.8	64.8 ± 14.8	-1.2	0.05	73.5 ± 12.7	71.5 ± 10.9	-2.4	0.15	0.831
Training load (kg)	1735 ± 232	2505 ± 292*	44.4	2.93	1698 ± 224	2429 ± 377*	43.1	2.44	1630 ± 276	2367 ± 442*	45.2	2.05	0.854

Note: Anova two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size. GFR = glomerular filtration rate. **P* < 0.05 vs. pre-intervention; §*P* < 0.05 vs. placebo-placebo.

Table 16 – Participants' scores at baseline (pre) and after (post) 12-week intervention period of intervention (n= 66).

	Whey protein-placebo (n = 22)				Placebo- whey protein (n = 21)				Placebo-placebo (n = 23)				Interaction <i>P</i> -value
	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	Pre	Post	Δ%	ES	
AOPP (μmol/L)	110.9 ± 25.9	84.3 ± 24.9*	-24.0	1.0	107.9 ± 35.4	84.8 ± 31.9*	-21.4	0.69	105.5 ± 24.3	85.6 ± 22.4*	-18.9	0.85	0.403
FOX (mmol/L)	0.55 ± 0.20	0.38 ± 0.15*	-31.2	0.95	0.61 ± 0.21	0.35 ± 0.15*	-42.2	1.41	0.60 ± 0.21	0.41 ± 0.13*	-32.2	1.11	0.514
TRAP (μmolTrolox®)	864.6 ± 152.2	934.8 ± 133.2*	8.1	0.49	845.3 ± 119.4	924.4 ± 123.7*	9.4	0.65	854.7 ± 63.1	901.1 ± 102.3*	5.4	0.56	0.485
SOD (USOD/min/gHb)	28.4 ± 10.3	36.2 ± 13.2*	27.6	0.67	30.3 ± 11.4	39.3 ± 12.3*	28.7	0.74	30.0 ± 10.0	34.1 ± 8.2*	13.7	0.45	0.380
Catalase (USOD/min/gHb)	47.1 ± 5.7	49.9 ± 7.6*	6.0	0.43	46.5 ± 8.7	49.7 ± 9.0*	6.8	0.36	44.6 ± 8.1	45.7 ± 8.6*	2.5	0.13	0.607

Note: Anova two-way. Data are expressed as mean and standard deviation. ES = effect size; AOPP = Advanced oxidation protein products; FOX = Ferrous oxidation-xylenol orange; TRAP = Total radical-trapping antioxidant parameter; SOD = superoxide dismutase. **P* < 0.05 vs. pre-intervention; §*P* < 0.05 vs. placebo-placebo.

5.4.4. Discussion

This is the first study to investigate the effect of whey protein supplementation, administered before and after RT, on oxidative damage markers and antioxidant enzyme activity in pre-conditioned older women. The findings from this investigation showed that whey protein supplementation have shown no further effect on antioxidant enzyme activity and oxidative stress markers. Also, whey protein supplemented before or after RT significantly reduced uric acid compared with placebo. Our hypothesis was refused, as only RT was efficient in improve antioxidant activity and reduce oxidative damage markers.

The antioxidant enzymes SOD, CAT and GPX are the primary defense against ROS generated during exercise and increase in response to exercise. These concepts were first proposed by Yamashita et al. (1999) that demonstrated an exercise-induced increase in SOD2 in cardiac myocytes is required to achieve optimal cardioprotection against ischemia–reperfusion injury. Indeed, nowadays is well known that exercise-induced change in antioxidant enzyme plays a key role in exercise-induced muscle phenotype (POWERS et al., 2016). These mechanisms are in accordance with the findings of our study demonstrating that RT can up-regulates SOD and CAT activities and may protects against oxidative damage.

Our data, however, was unable to demonstrate synergic effects of whey protein supplementation on antioxidant enzymes to RT. Our findings are partially in agreement with a study done in sarcopenic older in which exercise and protein supplementation together showed no changes in SOD level after 12 weeks of intervention (SHAHAR et al., 2013). Franzke et al. (2015) investigated the effect of whey protein and RT on DNA damage and antioxidant enzymes in institutionalized older people and showed that supplementation plus RT group significant increase SOD however; they didn't analyze the interaction time vs group. In this sense, we cannot affirm that protein plus RT group was better than RT group.

Although we did not observe any difference among supplemented groups, whey protein groups had a greater improvement percentage than the placebo group. Previous studies have demonstrated the benefits of whey protein on OS (MICKE et al., 2001; FLAIM et al., 2017), however, these responses do not outweigh the adaptations provided by the training. Furthermore, we speculate that the low consumption of vitamin E, selenium and zinc may have affected protein supplementation responses, since antioxidants from the diet have the potential to block the generation of free radicals contributing to the slowing the aging process (LIU et al., 2018). In fact, TRAP and SOD changes had a positive correlation with zinc consumption ($r = 0.31$ and $r = 0.34$, respectively, $P < 0.05$). Zinc acts (as well as cysteine and selenium) as an antioxidant cofactor, since it is necessary for the proper

functioning of GSH and SOD (MOREIRA et al., 2014). The defense system is constituted of various enzymatic (SOD and CAT) and non-enzymatic components (MOREIRA et al., 2014). Non-enzymatic substances include endogenous antioxidants (i.e. uric acid, alpha lipoic acid, albumin, transferrin, etc.) and exogenous antioxidants, which are consumed from foods (i.e., vitamin E, vitamin C, etc.) (MOREIRA et al., 2014).

Whey protein supplementation reduces uric acid. This result is in line with a study with overweight people affected by diabetes mellitus or impaired fasting glucose (FLAIM et al., 2017). Dairy products have an inverse association with uric acid (YU et al., 2008; POLETTO et al., 2011). The possible mechanism for whey protein had reduced plasma uric acid is due presence of lactalbumin, which have an uricosuric effect (GARREL et al., 1991). Uric acid is an end-product of purine nucleotides metabolism and has distinct functions in the human body (ALVAREZ-LARIO and MACARRON-VICENTE, 2011). It can be considered as a powerful antioxidant acting as free radical scavenger and a chelator of transitional metal ions (GLANTZOUNIS et al., 2005; ALVAREZ-LARIO and MACARRON-VICENTE, 2011). However, it also acts as a pro-oxidant, from the urate radical, or through stimulating the synthesis of proinflammatory cells, or from xanthine oxidase, which generates free radicals (GLANTZOUNIS et al., 2005; ALVAREZ-LARIO and MACARRON-VICENTE, 2011).

Moreover, elevated serum uric acid level is associated with OS (PINGMUANGKAEW et al., 2015) and the risk of hypertension, diabetes and cardiovascular disease (QIN et al., 2014; KUWABARA, 2016). We believed that whey protein supplementation improved the global metabolic-oxidative state, since significantly reduced uric acid, and promote great improvements in others OS biomarkers, however, without significant changes.

This study is not without limitations. The results are specific to healthy pre-conditioned older women and should not be extrapolated to other populations. Physical activity was not assessed during free living condition, but RT beyond that provided by the university was not expected. On the other hand, we monitor important markers of renal function, as urea, creatinine and glomerular filtration rate.

5.4.5. Conclusion

In already pre-conditioned older women, whey protein supplementation shows a reducing in uric acid and no further effect on antioxidant enzyme activity and oxidative stress markers. Thus, in clinical practice, our findings indicate that RT can be used as a therapeutic tool to attenuate OS associated with aging in preconditioned older women.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente investigação teve como objetivo investigar os efeitos da ingestão de *whey protein* pré- ou pós-treinamento com pesos em mulheres idosas previamente treinadas. Nosso primeiro desafio foi conseguir patrocínio dos suplementos. Inicialmente, após contato direto com diversas empresas, os suplementos nutricionais foram fornecidos gratuitamente pelas empresas Arla Foods (*whey protein*) e New Millen (maltodextrina) que analisaram criteriosamente o projeto e acreditaram no potencial para disseminação das informações a serem produzidas. Após o recebimento os suplementos foram submetidos e analisados no laboratório de composição química dos alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Com base nos laudos foi estratificada a pureza dos produtos e assim discutido qual seria a melhor forma da ingestão pelas participantes do projeto.

Em segundo momento, realizamos diversos procedimentos para escolha do sabor, textura e cor dos suplementos, e pedimos para colegas externos ao projeto e aos alunos de graduação em Educação Física degustarem os suplementos. Depois desses testes e tentando agradar os sabores solicitados pelas participantes, foram escolhidos os sabores de uva e de maracujá, uma vez que ambos os sabores mascararam bem os suplementos. Vencida essa etapa, decidimos armazenar a suplementação já fracionada para facilitar a diluição durante a execução do projeto. As pesagens foram feitas diariamente por mim, Paulo Sugihara Junior, Rodrigo dos Reis Fernandes e Stefanie Caroline, durante todo o projeto. Foi uma fase muito cansativa, mas extremamente necessária, visto que acelerou o processo de diluição da suplementação.

Vale destacar que a suplementação foi bem aceita pelas participantes, contudo algumas idosas tinham um paladar mais aguçado e relataram que estava muito doce. E outras idosas relataram que não havia sabor. No geral, todas ingeriram e gostaram dos “shakes” utilizados até o final do estudo.

Uma dificuldade encontrada durante a execução do projeto foi à condução do estudo no período de inverno, dificultando a ingestão dos suplementos logo pela manhã. Nas coletas dos dados, o maior problema foi a operacionalização das avaliações, com as participantes comparecendo por vezes em horários e lugares incorretos, apesar dos esforços em orientá-las de forma adequada.

Ao final do estudo, as idosas foram questionadas sobre o suplemento que elas estava consumindo, nenhuma soube relatar o que estava ingerindo, mostrando que o cegamento das participantes foi efetivo. Revelamos a todas participantes qual suplemento elas consumiram e também entregamos relatórios individuais com todos os resultados encontrados no início e no final do experimento, e explicamos todos os desfechos encontrados.

Independente da suplementação, grande parte das participantes relatou maior disposição para as tarefas do dia-a-dia e que gostavam muito de estar participando das sessões de treinamento com pesos. O prazer associado a participar de uma atividade sistematizada em grupo também foi reportado. Muitas relataram que aquela bebida foi muito “revitalizante” e que iria fazer falta as suas vidas. Algumas indicaram que iriam continuar a utilizar os suplementos.

Por fim, os resultados sugerem que, quando associada ao treinamento com pesos, a suplementação de WP independentemente do momento ofertado, pode proporcionar ganhos de massa muscular, força muscular, capacidade funcional e água intramuscular, além de reduzir a relação colesterol total/HDL e o ácido úrico em mulheres idosas previamente treinadas. Vale destacar que o TP, de forma isolada, se mostrou uma estratégia bastante efetiva para atenuar ou até mesmo reverter efeitos deletérios associados ao processo de envelhecimento.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, E.; MILLER, M.; YAXLEY, A. et al. Malnutrition in the elderly: a narrative review. **Maturitas**, v. 76, n. 4, p. 296-302, Dez 2013.

AHN, N.; KIM, K. Effects of 12-week exercise training on osteocalcin, high-sensitivity C-reactive protein concentrations, and insulin resistance in elderly females with osteoporosis. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 28, n.8, p. 2227-2231, Ago 2016.

ALVAREZ-LARIO, B.; MACARRON-VICENTE, J. Is there anything good in uric acid? **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 104, n. 12, p. 1015-1024, Dez 2011.

AMARANTE DO NASCIMENTO, M.; JANUARIO, R. S.; GERAGE, A. M. et al. Familiarization and reliability of one repetition maximum strength testing in older women. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 6, p. 1636-1642, Jun 2013.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. American College of Sports Medicine position stand: Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 41, n. 3, p. 687-708, Mar 2009.

ARAGON, A.; SCHOENFELD, B. J. Nutrient timing revisited: is there a post-exercise anabolic window? **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 5, p. 1-11, Jan 2013.

ARETA, J. L.; BURKE, L. M.; ROSS, M. L. et al. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. **The Journal of Physiology**, v. 591, n. 9, p. 2319-2331, Maio 2013.

ARNARSON, A.; GUDNY GEIRSDOTTIR, O.; RAMEL, A. et al. Effects of whey proteins and carbohydrates on the efficacy of resistance training in elderly people: double blind, randomised controlled trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 8, p. 821-826, Ago 2013.

ATHERTON, P. J.; SMITH, K. Muscle protein synthesis in response to nutrition and exercise. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 5, p. 1049-1057, Mar, 2012.

ATHIRA, S.; MANN, B.; SHARMA, R. et al. Ameliorative potential of whey protein hydrolysate against paracetamol-induced oxidative stress. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1431-1437, Mar 2013.

BAER, D. J.; STOTE, K. S.; PAUL, D. R. et al. Whey protein but not soy protein supplementation alters body weight and composition in free-living overweight and obese adults. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 8, p. 1489-1494, Ago 2011.

BARBAT-ARTIGAS, S.; PION, C. H.; LEDUC-GAUDET, J. P. et al. Exploring the role of muscle mass, obesity, and age in the relationship between muscle quality and physical function. **Journal of American Medical Directors Association**, v. 15, n. 4, p. 313-320, Abr 2014.

BAUER, J.; BIOLO, G.; CEDERHOLM, T. et al. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group **Journal of American Medical Directors Association**, v. 14, n. 8, p. 542-559, Ago 2013.

BAUM, J. I.; KIM, I. Y.; WOLFE, R. R. Protein consumption and the elderly: what is the optimal level of intake? **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 359-368, Jun 2016.

BEASLEY, J. M.; ARAGAKI, A. K.; LACROIX, A. Z. et al. Higher biomarker-calibrated protein intake is not associated with impaired renal function in postmenopausal women. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 8, p. 1502-1507, Ago 2011.

BEAUDART, C.; RIZZOLI, R.; BRUYERE, O. et al. Sarcopenia: burden and challenges for public health. **Archives of Public Health**, v. 72, n. 1, p. 45-53, Dec 2014.

BEAVERS, K. M.; BRINKLEY, T. E.; NICKLAS, B. J. Effect of exercise training on chronic inflammation. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, n. 11-12, p. 785-793, Jun 2010.

BECHLIOULIS, A.; NAKA, K. K.; PAPANIKOLAO, O. et al. Menopause and hormone therapy: from vascular endothelial function to cardiovascular disease. **Hellenic Journal of Cardiology**, v. 50, p. 303-315, 2009.

BELL, K. E.; SNIJDERS, T.; ZULYNIK, M. et al. A whey protein-based multi-ingredient nutritional supplement stimulates gains in lean body mass and strength in healthy older men: a randomized controlled trial. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0181387, Jul 2017.

BEMBEN, M. G.; WITTEN, M. S.; CARTER, J. M. et al. The effects of supplementation with creatine and protein on muscle strength following a traditional resistance training program in

middle-aged and older men. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 14, n. 2, p. 155-159, Fev 2010.

BEN ALI, S.; BELFKI-BENALI, H.; AHMED, D. B. et al. Postmenopausal hypertension, abdominal obesity, apolipoprotein and insulin resistance. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 38, n. 4, p. 370-374, Maio 2016.

BIHUNIAK, J. D.; RAMOS, A.; HUEDO-MEDINA, T. et al. Adherence to a mediterranean-style diet and its influence on cardiovascular risk factors in postmenopausal women. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 18, n. 11, p. 1767-1775, Ago 2016.

BO, Y.; LIU, C.; JI, Z. et al. A high whey protein, vitamin D and E supplement preserves muscle mass, strength, and quality of life in sarcopenic older adults: a double-blind randomized controlled trial. **Clinical Nutrition**, 2018 [Epub ahead of print].

BØRSHEIM, E.; BUI, Q.-U. T.; TISSIER, S. et al. Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 2, p. 189-195, Mar 2008.

BOUNOUS, G. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. **Anticancer Research**, v. 20, n. 6, p. 4785-4792, Nov-Dez 2000.

BRASIL. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2011.

BREEN, L.; PHILLIPS, S. M. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of ageing. **Nutrition & Metabolism**, v. 8, p. 68, Out 2011.

_____. Interactions between exercise and nutrition to prevent muscle waste during ageing. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 708-715, Mar 2013.

BROWN, J. C.; HARHAY, M. O.; HARHAY, M. N. Appendicular lean mass and mortality among prefrail and frail older adults. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 21, n. 3, p. 342-345, 2017.

BROWNIE, S. Why are elderly individuals at risk of nutritional deficiency? **International Journal of Nursing Practice**, v. 12, n. 2, p. 110-118, Abr 2006.

BURD, N. A.; GORISSEN, S. H.; VAN LOON, L. J. C. Anabolic resistance of muscle protein synthesis with aging. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 41, n. 3, p. 169-173, Jul 2013.

CAKIR-ATABEK, H.; OZDEMIR, F.; COLAK, R. Oxidative stress and antioxidant responses to progressive resistance exercise intensity in trained and untrained males. **Biology of Sport**, v. 32, n. 4, p. 321-328, Nov 2015.

CAMPBELL, W. W.; TRAPPE, T. A.; WOLFE, R. R. et al. The recommended dietary allowance for protein may not be adequate for older people to maintain skeletal muscle. **Journal of Gerontology**, v. 56A, n. 6, p. 373-380, Jun 2001.

CANDOW, D. G.; CHILIBECK, P. D. Timing of creatine or protein supplementation and resistance training in the elderly. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 33, n. 1, p. 184-190, Feb 2008.

CANDOW, D. G.; CHILIBECK, P. D.; FACCI, M. et al. Protein supplementation before and after resistance training in older men. **European Journal of Applied Physiology**, v. 97, n. 5, p. 548-556, Jul 2006.

CARROLL, T. J.; RIEK, S.; CARSON, R. G. Neural adaptations to resistance training: implications for movement control. **Sports Medicine**, v. 31, n. 12, p. 829-840, 2001.

CASA, D. J.; CLARKSON, P. M.; ROBERTS, W. O. American College of Sports Medicine roundtable on hydration and physical activity: consensus statements. **Current Sports Medicine Reports**, v. 4, n. 3, p. 115-27, Jun 2005.

CASTELLI, W. P.; ABBOTT, R. D.; MCNAMARA, P. M. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. **Circulation**, v. 67, n. 4, p. 730-734, Abr 1983.

CERMAK, N. M.; RES, P. T.; DE GROOT, L. C. et al. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 6, p. 1454-1464, Dez 2012.

CHALE, A.; CLOUTIER, G. J.; HAU, C. et al. Efficacy of whey protein supplementation on resistance exercise-induced changes in lean mass, muscle strength, and physical function in mobility-limited older adults. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 68, n. 6, p. 682-690, 2013.

CHARLTON, K.; BATTERHAM, M.; LANGFORD, K. et al. Lean body mass associated with upper body strength in healthy older adults while higher body fat limits lower extremity performance and endurance. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7126-7142, Set 2015.

CHITAPANARUX, T.; TIENBOON, P.; POJCHAMARNWIPUTH, S. et al. Open-labeled pilot study of cysteine-rich whey protein isolate supplementation for nonalcoholic steatohepatitis patients. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 24, n. 6, p. 1045-1050, Jun 2009.

CHURCHWARD-VENNE, T. A.; BREEN, L.; PHILLIPS, S. M. Alterations in human muscle protein metabolism with aging: Protein and exercise as countermeasures to offset sarcopenia. **Biofactors**, v. 40, n. 2, p. 199-205, Mar-Abr 2014.

CHURCHWARD-VENNE, T. A.; HOLWERDA, A. M.; PHILLIPS, S. M. et al. What is the optimal amount of protein to support post-exercise skeletal muscle reconditioning in the older adult? **Sports Medicine**, v. 46, n. 9, p. 1205-1212, Set 2016.

CIOLAC, E. G.; RODRIGUES-DA-SILVA, J. M. Resistance training as a tool for preventing and treating musculoskeletal disorders. **Sports Medicine**, v. 46, n. 9, p. 1239-1248, Set 2016.

CLOSS, V. E.; PANDOLFO FEOLI, A. M.; GOMES, I. et al. Healthy eating index of elderly: description and association with energy, macronutrients and micronutrients intake. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 64, n. 1, p. 34-41, Mar 2014.

COHEN, J. A Power primer. **Psychological Bulletin**, v. 112, n. 1, p. 155-159, Jul 1992.

COLLINS, J.; LONGHURST, G.; ROSCHEL, H. et al. Resistance training and co-supplementation with creatine and protein in older subjects with frailty. **The Journal of Frailty & Aging**, v. 5, n. 2, p. 126-134, 2016.

COLONETTI, T.; GRANDE, A. J.; MILTON, K. et al. Effects of whey protein supplement in the elderly submitted to resistance training: systematic review and meta-analysis. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 257-264, Maio 2016.

CORLEY, J.; KYLE, J. A.; STARR, J. M. et al. Dietary factors and biomarkers of systemic inflammation in older people: the Lothian Birth Cohort 1936. **British Journal of Nutrition**, v. 114, n. 7, p. 1088-1098, Out 2015.

CRIBB, P. J.; HAYES, A. Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, n. 11, p. 1918-1925, Nov 2006.

CRUZ-JENTOFT, A. J.; BAEYENS, J. P.; BAUER, J. M. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. **Age and Ageing**, v. 39, n. 4, p. 412-423, Jul 2010.

D'SOUZA, R. F.; MARWORTH, J. F.; FIGUEIREDO, V. C. et al. Dose-dependent increases in p70S6K phosphorylation and intramuscular branched-chain amino acids in older men following resistance exercise and protein intake. **Physiological Reports**, v. 2, n. 8, p. e12112, Ago 2014.

DALY, R. M.; O'CONNELL, S. L.; MUNDELL, N. L. et al. Protein-enriched diet, with the use of lean red meat, combined with progressive resistance training enhances lean tissue mass and muscle strength and reduces circulating IL-6 concentrations in elderly women: a cluster randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 899-910, Abr 2014.

DANTAS, E. H. M.; FIGUEIRA, H. A.; EMYGDIO, R. F. et al. Functional autonomy GDLAM protocol classification pattern in elderly women. **Indian Journal of Applied Research**, v. 4, n. 7, p. 262-266, Jul 2014.

DE GONZALO-CALVO, D.; FERNANDEZ-GARCIA, B.; DE LUXAN-DELGADO, B. et al. Chronic training increases blood oxidative damage but promotes health in elderly men. **Age**, v. 35, n. 2, p. 407-417, Abr 2013.

DE OLIVEIRA, P. A.; BLASCZYK, J. C.; SOUZA JUNIOR, G. et al. Effects of elastic resistance exercise on muscle strength and functional performance in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Physical Activity and Health**, v. 14, n. 4, p. 317-327, Abr 2016.

DE SOUSA, C. V.; SALES, M. M.; ROSA, T. S. et al. The antioxidant effect of exercise: a systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 47, n. 2, p.277-293, Fev 2016.

DEUTZ, N. E.; BAUER, J. M.; BARAZZONI, R. et al. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN Expert Group. **Clinical Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 929-936, Dez 2014.

DEVRIES, M. C.; PHILLIPS, S. M. Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey. **Journal of Food Science**, v. 80, n. Suppl 1, p. A8-A15, Mar 2015.

DICKINSON, J. M.; VOLPI, E.; RASMUSSEN, B. B. Exercise and nutrition to target protein synthesis impairments in aging skeletal muscle. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 41, n. 4, p. 216-223, Out 2013.

DIDERIKSEN, K. J.; REITELSEDER, S.; PETERSEN, S. G. et al. Stimulation of muscle protein synthesis by whey and caseinate ingestion after resistance exercise in elderly individuals. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 21, n. 6, p. 372-383, Dez 2011.

DOS SANTOS, L.; CYRINO, E. S.; ANTUNES, M. et al. Changes in phase angle and body composition induced by resistance training in older women. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 12, p. 1408-1413, Jul 2016.

DRAGANIDIS, D.; KARAGOUNIS, L. G.; ATHANAILIDIS, I. et al. Inflammaging and skeletal muscle: can protein intake make a difference? **The Journal of Nutrition**, v.146, n. 10, p. 1940-1952, Ago 2016.

EBAID, H.; SALEM, A.; SAYED, A. et al. Whey protein enhances normal inflammatory responses during cutaneous wound healing in diabetic rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 235, Dez 2011.

EDWARDS, M. K.; CRUSH, E.; LOPRINZI, P. D. Dietary behavior and predicted 10-year risk for a first atherosclerotic cardiovascular disease event using the pooled cohort risk equations among US adults. **American Journal of Health Promotion**, v. 32, n. 6, p. 1447-1451, Set 2016.

ELAHI, M. M.; KONG, Y. X.; MATATA, B. M. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 259-269, Nov 2009.

ELIOT, K. A.; KNEHANS, A. W.; BEMBEN, D. A. et al. The effects of creatine and whey protein supplementation on body composition in men aged 48 to 72 years during resistance training. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 12, n. 3, p. 208-212, Mar 2008.

ESMARCK, B.; ANDERSEN, J. L.; OLSEN, S. et al. Timing of postexercise protein intake is important for muscle hypertrophy with resistance training in elderly humans. **The Journal of Physiology**, v. 535, n. 1, p. 301-311, Ago 2001.

FARSHIDFAR, F.; SHULGINA, V.; MYRIE, S. B. Nutritional supplementations and administration considerations for sarcopenia in older adults. **Nutrition and Aging**, v. 3, n. 2-4, p. 147-170, Fev 2016.

FEKETE, A. A.; GIROMINI, C.; CHATZIDIAKOU, Y. et al. Whey protein lowers blood pressure and improves endothelial function and lipid biomarkers in adults with prehypertension and mild hypertension: results from the chronic Whey2Go randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1534-1544, Dez 2016b.

FEKETE, A. A.; GIVENS, D. I.; LOVEGROVE, J. A. Can milk proteins be a useful tool in the management of cardiometabolic health? An updated review of human intervention trials. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. 3, p. 328-341, Ago 2016a.

FERNANDES, R. R.; NABUCO, H. C. G.; JUNIOR, P. S. et al. Effect of protein intake beyond habitual intakes following resistance training on cardiometabolic risk disease parameters in pre-conditioned older women. **Experimental Gerontology**, v. 110, p. 9-14, Maio 2018.

FIGUEIREDO, V. C.; CAMERON-SMITH, D. Is carbohydrate needed to further stimulate muscle protein synthesis/hypertrophy following resistance exercise? **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v. 10, p. 42, Set 2013.

FINGER, D.; GOLTZ, F. R.; UMPIERRE, D. et al. Effects of protein supplementation in older adults undergoing resistance training: a systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 45, n. 2, p. 245-255, Feb 2015.

FISHER, G.; BICKEL, C. S.; HUNTER, G. R. Elevated Circulating TNF-alpha in fat-free mass non-responders compared to responders following exercise training in older women. **Biology (Basel)**, v. 3, n. 3, p. 551-559, Set 2014.

FITZGERALD, R. J.; MURRAY, B. A.; WALSH, D. J. Hypotensive peptides from milk proteins. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 4, p. 980S-988S, Abr 2004.

FLAIM, C.; KOB, M.; DI PIERRO, A. M. et al. Effects of a whey protein supplementation on oxidative stress, body composition and glucose metabolism among overweight people affected by diabetes mellitus or impaired fasting glucose: A pilot study. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 50, p. 95-102, Dez 2017.

FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A. G. The adaptations to strength training: morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 145-68, 2007.

FOLTZ, M.; ANSEMS, P.; SCHWARZ, J. et al. Protein Hydrolysates Induce CCK release from enteroendocrine cells and act as partial agonists of the CCK1 receptor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 3, p. 837–843, 2008.

FRANZKE, B.; HALPER, B.; HOFMANN, M. et al. The impact of six months strength training, nutritional supplementation or cognitive training on DNA damage in institutionalised elderly. **Mutagenesis**, v. 30, n. 1, p. 147-153, Jan 2015.

FRONTERA, W. R.; OCHALA, J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. **Calcified Tissue International**, v. 96, n. 3, p. 183-195, Mar 2015.

FUJITA, S.; DREYER, H. C.; DRUMMOND, M. J. et al. Essential amino acid and carbohydrate ingestion before resistance exercise does not enhance postexercise muscle protein synthesis. **Journal Applied Physiology**, v. 106, n. 5, p. 1730–1739, Maio 2009.

FUKUDA, D. H.; STOUT, J. R.; MOON, JORDAN R. et al. Effects of resistance training on classic and specific bioelectrical impedance vector analysis in elderly women. **Experimental Gerontology**, v. 74, p. 9-12, Feb 2016.

GAFFNEY-STOMBERG, E.; INSOGNA, K. L.; RODRIGUEZ, N. R. et al. Increasing dietary protein requirements in elderly people for optimal muscle and bone health. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 57, n. 6, p. 1073-1079, Jun 2009.

GALVAN, E.; ARENTSON-LANTZ, E.; LAMON, S. et al. Protecting skeletal muscle with protein and amino acid during periods of disuse. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. E404, Jul 2016.

GARBER, C. E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M. R. et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults:

guidance for prescribing exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, Jul 2011.

GARREL, D. R.; VERDY, M.; PETITCLERC, C. et al. Milk- and soy-protein ingestion: acute effect on serum uric acid concentration. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 665-669, Mar 1991.

GATTA, P. A. D.; GARNHAM, A. P.; PEAKE, J. M. et al. Effect of exercise training on skeletal muscle cytokine expression in the elderly. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 39, p. 80–86, 2014.

GENARO PDE, S.; MARTINI, L. A. Effect of protein intake on bone and muscle mass in the elderly. **Nutrition Reviews**, v. 68, n. 10, p. 616-623, Out 2010.

GILBERT, J. A.; BENDSEN, N. T.; TREMBLAY, A. et al. Effect of proteins from different sources on body composition. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. Suppl 2, p. B16-B31, Set 2011.

GLANTZOUNIS, G. K.; TSIMOYIANNIS, E. C.; KAPPAS, A. M. et al. Uric acid and oxidative stress. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, n. 32, p. 4145-4151, 2005.

GONZALEZ, J. T.; RUMBOLD, P. L.; STEVENSON, E. J. Effect of calcium intake on fat oxidation in adults: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 10, p. 848-857, Out 2012.

GONZALEZ, M. C.; BARBOSA-SILVA, T. G.; BIELEMANN, R. M. et al. Phase angle and its determinants in healthy subjects: influence of body composition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 3, p. 712-716, Mar 2016.

GOODPASTER, B. H.; PARK, S. W.; HARRIS, T. B. et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. **Journal of Gerontology A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 61, n. 10, p. 1059-1064, Out 2006.

GORDON, C. C.; CHUMLEA, W.; ROCHE, A. F. Stature, recumbent length, and weight. In: LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. et al. (Ed.). **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign: Human Kinetics Books, 1988. p. 3-8.

GREGORIO, L.; BRINDISI, J.; KLEPPINGER, A. et al. Adequate dietary protein is associated with better physical performance among post-menopausal women 60-90 years. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 18, n. 2, p. 155-160, 2014.

HAMAD, E. M.; TAHA, S. H.; ABOU DAWOOD, A. G. et al. Protective effect of whey proteins against nonalcoholic fatty liver in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 57, Abr 2011.

HAMRICK, M. W.; MCGEE-LAWRENCE, M. E.; FRECHETTE, D. M. Fatty infiltration of skeletal muscle: mechanisms and comparisons with bone marrow adiposity. **Frontiers in Endocrinology (Lausanne)**, v. 7, p. 69, Jun 2016.

HIDAYAT, K.; CHEN, G. C.; WANG, Y. et al. Effects of milk proteins supplementation in older adults undergoing resistance training: a meta-analysis of randomized control trials. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 22, n. 2, p. 237-245, Mar 2017.

HOFFMAN, J. R.; RATAMESS, N. A.; TRANCHINA, C. P. et al. Effect of protein-supplement timing on strength, power, and body-composition changes in resistance-trained men. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 2, p. 172-185, Abr 2009.

HUGHES, V. A.; FRONTERA, W. R.; WOOD, M. et al. Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health. **Journal of Gerontology A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 56, n. 5, p. 209-217, Maio 2001.

HULMI, J. J.; LOCKWOOD, C. M.; STOUT, J. R. Effect of protein/essential amino acids and resistance training on skeletal muscle hypertrophy: a case for whey protein. **Nutrition & Metabolism (Lond)**, v. 7, p. 51, 2010.

HUOVINEN, V.; IVASKA, K.; KIVIRANTA, R. et al. Bone mineral density is increased after a 16-week resistance training intervention in elderly women with decreased muscle strength. **European Journal of Endocrinology**, v. 176, n. 6, p. 571-582, Dez 2016.

HUPIN, D.; ROCHE, F.; GREMEAUX, V. et al. Even a low-dose of moderate-to-vigorous physical activity reduces mortality by 22% in adults aged ≥ 60 years: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Sports Medicine**, v. 49, n. 19, p. 1262-1267, Out 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Tabela de composição de alimentos**. 5ª Edição. Rio de Janeiro: IBGE, 1999.

ISANEJAD, M.; MURSU, J.; SIROLA, J. et al. Dietary protein intake is associated with better physical function and muscle strength among elderly women. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 7, p. 1281-1291, Abr 2016.

IVY, J. L.; SCHOENFELD, B. J. The timing of postexercise protein ingestion is/is not important. **Strength and Conditioning Journal**, v. 36, n. 6, p. 51-55, 2014.

JEUKENDRUP, A. E.; MCLAUGHLIN, J. Carbohydrate ingestion during exercise: effects on performance, training adaptations and trainability of the gut. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 69, p. 1-12, Set 2011.

JOSEPH, C.; KENNY, A. M.; TAXEL, P. et al. Role of endocrine-immune dysregulation in osteoporosis, sarcopenia, frailty and fracture risk. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 3, p. 181-201, Jun 2005.

KARELIS, A.; MESSIER, V.; SUPPÈRE, C. et al. Effect of cysteine-rich whey protein (Immunocal®) supplementation in combination with resistance training on muscle strength and lean body mass in non-frail elderly subjects: a randomized, double-blind controlled study. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 19, n. 5, p. 531-536, Maio 2015.

KAWASE, M.; HASHIMOTO, H.; HOSODA, M. et al. Effect of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 2, p. 255-263, Feb 2000.

KIM, H.; KIM, M.; KOJIMA, N. et al. Exercise and nutritional supplementation on community-dwelling elderly Japanese women with sarcopenic obesity: a randomized controlled trial. **Journal of American Medical Directors Association**, v. 17, n. 11, p. 1011-1019, Ago 2016.

KIM, J.; HESHKA, S.; GALLAGHER, D. et al. Intermuscular adipose tissue-free skeletal muscle mass: estimation by dual-energy X-ray absorptiometry in adults. **Journal of Applied Physiology**, v. 97, n. 2, p. 655-660, Ago 2004.

KOOPMAN, R.; VAN LOON, L. J. Aging, exercise, and muscle protein metabolism. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 6, p. 2040-2048, Jun 2009.

KUWABARA, M. Hyperuricemia, cardiovascular disease, and hypertension. **Pulse (Basel)**, v. 3, n. 3-4, p. 242-252, Abr 2016.

KYLE, U. G.; BOSAEUS, I.; DE LORENZO, A. D. et al. Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1226-1243, Out 2004.

KYLE, U. G.; SOUNDAR, E. P.; GENTON, L. et al. Can phase angle determined by bioelectrical impedance analysis assess nutritional risk? A comparison between healthy and hospitalized subjects. **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 6, p. 875-881, Dez 2012.

LAYMAN, D. K.; SHIUE, H.; SATHER, C. et al. Increased dietary protein modifies glucose and insulin homeostasis in adult women during weight loss. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 2, p. 405-410, Feb 2003.

LEVEY, A. S.; STEVENS, L. A.; SCHMID, C. H. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, n. 9, p. 604-612, Maio 2009.

LI, F.; YIN, Y.; TAN, B. et al. Leucine nutrition in animals and humans: mTOR signaling and beyond. **Amino Acids**, v. 41, n. 5, p. 1185-1193, Nov 2011.

LIAO, C. D.; TSAUO, J. Y.; WU, Y. T. et al. Effects of protein supplementation combined with resistance exercise on body composition and physical function in older adults: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 106, n. 4, p. 1078-1091, Out 2017.

LIU, Z.; REN, Z.; ZHANG, J. et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 477, Maio 2018.

LOENNEKE, J. P.; LOPRINZI, P. D.; MURPHY, C. H. et al. Per meal dose and frequency of protein consumption is associated with lean mass and muscle performance. **Clinical Nutrition**, v. 35, n. 6, p.1506-1511, Abr 2016.

MacDONALD, H. V.; JOHNSON, B. T.; HUEDO-MEDINA, T. B. et al. Dynamic resistance training as stand-alone antihypertensive lifestyle therapy: a meta-analysis. **Journal of the American Heart Association**, v. 5, n. 10, Set 2016.

MACWAN, S. R.; DABHI, B. K.; PARMAR, S. C. et al. Whey and its utilization. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 8, p. 134-155, Ago 2016.

MAIOR, A. S.; ALVES, A. A contribuição dos fatores neurais em fases iniciais do treinamento de força muscular: uma revisão bibliográfica. **Motriz**, v. 9, n. 3, p. 161-168, Jul 2003.

MALTAIS, M. L.; PERREAULT, K.; COURCHESNE-LOYER, A. et al. Effect of Resistance training and various sources of protein supplementation on body fat mass and metabolic profile in sarcopenic overweight older adult men: a pilot study. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 26, n. 1, p. 71-77, Feb 2016.

MANINI, T. M.; CLARK, B. C. Dynapenia and aging: an update. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medicine Sciences**, v. 67, n. 1, p. 28-40, Jan 2012.

MARGOLIS, L. M.; RIVAS, D. A. Implications of exercise training and distribution of protein intake on molecular processes regulating skeletal muscle plasticity. **Calcified Tissue International**, v. 96, n. 3, p. 211-221, Mar 2015.

MARKOFSKI, M. M.; DICKINSON, J. M.; DRUMMOND, M. J. et al. Effect of age on basal muscle protein synthesis and mTORC1 signaling in a large cohort of young and older men and women. **Experimental Gerontology**, v. 65, p. 1-7, Maio 2015.

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**, v. 9, n. 2, p. 136-156, Jun 2004.

MAZZULLA, M.; SAWAN, S. A.; PACKER, J. E. et al. A muscle-centric view of dietary protein quality. **Agro Food Industry Hi Tech**, v. 26, n. 2, p. 20-23, Mar 2015.

MICKE, P.; BEEH, K. M.; SCHLAAK, J. F. et al. Oral supplementation with whey proteins increases plasma glutathione levels of HIV-infected patients. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 31, n. 2, p. 171-178, Feb 2001.

MILLAN, J.; PINTO, X.; MUNOZ, A. et al. Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. **Vascular Health and Risk Management**, v. 5, p. 757-765, Set 2009.

MILLWARD, D. J.; BOWTELL, J. L.; PACY, P. et al. Physical activity, protein metabolism and protein requirements. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 53, n. 1, p. 223-240, Mar 1994.

MITCHELL, W. K.; WILKINSON, D. J.; PHILLIPS, B. E. et al. Human skeletal muscle protein metabolism responses to amino acid nutrition. **Advances in Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 828S-838S, Jul 2016.

MITCHELL, W. K.; WILLIAMS, J.; ATHERTON, P. et al. Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 260, Jul 2012.

MONEGO, E. T.; PEIXOTO, M. D. R. G.; SANTIAGO, R. D. A. C. et al. **Alimentos brasileiros e suas porções: um guia para avaliação do consumo alimentar**. Rio de Janeiro: Rúbio, 2013.

MOORE, D. R.; CHURCHWARD-VENNE, T. A.; WITARD, O. et al. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. **Journal of Gerontology. Series A, Biology Sciences and Medicine Sciences**, v. 70, n. 1, p. 57-62, Jan 2015.

MOORE, D. R.; SOETERS, P. B. The biological value of protein. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 82, p. 39-51, Out 2015.

MOORE, D. R.; TANG, J. E.; BURD, N. A. et al. Differential stimulation of myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis with protein ingestion at rest and after resistance exercise. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 4, p. 897-904, Feb 2009.

MOREIRA, P. L.; VILLAS BOAS, P. J. F.; FERREIRA, A. L. A. Association between oxidative stress and nutritional status in the elderly. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 60, n. 1, p. 75-83, Jan/Fev 2014.

MORTON, R. W.; MURPHY, K. T.; MCKELLAR, S. R. et al. A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. **British Journal of Sports Medicine**, v. 52, n. 6, p. 376-384, Mar 2017.

MURPHY, C. H.; SADDLER, N. I.; DEVRIES, M. C. et al. Leucine supplementation enhances integrative myofibrillar protein synthesis in free-living older men consuming lower- and higher-protein diets: a parallel-group crossover study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1594-1606, Dez 2016.

NABUCO, H.; TOMELERI, C.; SUGIHARA JUNIOR, P. et al. Effects of whey protein supplementation pre- or post-resistance training on muscle mass, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women: a randomized clinical trial. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. E563, Maio 2018b.

NABUCO, H. C. G.; TOMELERI, C. M.; SUGIHARA JUNIOR, P. et al. Lower protein and higher carbohydrate intake are related with altering metabolic syndrome components in elderly women: a cross-sectional study. **Experimental Gerontology**, v. 103, p. 132-137, Mar 2018a.

NACLERIO, F.; LARUMBE-ZABALA, E. Effects of whey protein alone or as part of a multi-ingredient formulation on strength, fat-free mass, or lean body mass in resistance-trained individuals: a meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 46, n. 1, p. 125-137, Jan 2016.

NELSON, M. E.; REJESKI, W. J.; BLAIR, S. N. et al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v. 116, n. 9, p. 1094-1105, Ago 2007.

NEWMAN, A. B.; KUPELIAN, V.; VISSER, M. et al. Strength, but not muscle mass, is associated with mortality in the health, aging and body composition study cohort. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medicine Sciences**, v. 61, n. 1, p. 72-77, Jan 2006.

NICASTRO, H.; DA LUZ, C. R.; CHAVES, D. F. et al. Does branched-chain amino acids supplementation modulate skeletal muscle remodeling through inflammation modulation? Possible mechanisms of action. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, p. 136937, Fev 2012.

NORMAN, K.; STOBBAUS, N.; PIRLICH, M. et al. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis--clinical relevance and applicability of impedance parameters. **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 6, p. 854-861, Dez 2012.

NOUROOZ-ZADEH, J.; TAJADDINI-SARMADI, J.; WOLFF, S. P. Measurement of hydroperoxides in edible oils using the ferrous oxidation in xylenol orange assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 17-21, Jan 1995.

OH, C.; JEON, B. H.; REID STORM, S. N. et al. The most effective factors to offset sarcopenia and obesity in the older Korean: physical activity, vitamin D, and protein intake. **Nutrition**, v. 33, p. 169-173, Jun 2016.

ORSATTI, F. L.; NAHAS, E. A. P.; ORSATTI, C. L. et al. Muscle mass gain after resistance training is inversely correlated with trunk adiposity gain in postmenopausal women. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 26, n. 8, p. 2130–2139, Ago 2012.

PADILHA, C. D. S.; RIBEIRO, A. S.; SILVA, D. R. P. D. et al. Effect of resistance training and detraining on the oxidative stress in obese older women. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 17, n. 5, p. 517-526, Out 2015b.

PADILHA, C. S.; RIBEIRO, A. S.; FLECK, S. J. et al. Effect of resistance training with different frequencies and detraining on muscular strength and oxidative stress biomarkers in older women. **Age (Dordr)**, v. 37, n. 5, p. 104, Out 2015a.

PADOVANI, R.; AMAYA-FARFÁN, J.; COLUGNATI, F. et al. Dietary reference intakes: application of tables in nutritional studies. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 741-760, Nov 2006.

PAL, S.; ELLIS, V. The chronic effects of whey proteins on blood pressure, vascular function, and inflammatory markers in overweight individuals. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, n. 7, p. 1354-1359, Jul 2010.

_____. Acute effects of whey protein isolate on blood pressure, vascular function and inflammatory markers in overweight postmenopausal women. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 10, p. 1512-1519, Maio 2011.

PAL, S.; ELLIS, V.; DHALIWAL, S. Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 5, p. 716-723, Set 2010.

PAL, S.; RADAVELLI-BAGATINI, S. The effects of whey protein on cardiometabolic risk factors. **Obes Rev**, v. 14, n. 4, p. 324-343, Abr 2013.

PEDERSEN, B. K. Muscle as a secretory organ. **Comprehensive Physiology**, v. 3, n. 3, p. 1337-1362, Jul 2013.

PENNINGS, B.; GROEN, B.; DE LANGE, A. et al. Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. **American Journal of Physiology-Endocrinol and Metabolism**, v. 302, n. 8, p. 992-999, Abr 2012.

PETERSON, M. D.; RHEA, M. R.; SEN, A. et al. Resistance exercise for muscular strength in older adults: a meta-analysis. **Ageing Research Reviews**, v. 9, n. 3, p. 226-237, Jul 2010.

PHILLIPS, S. M. Short-term training: when do repeated bouts of resistance exercise become training? **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 25, n. 3, p. 185-193, Jun 2000.

_____. Nutritional supplements in support of resistance exercise to counter age-related sarcopenia. **Adv Nutr**, v. 6, n. 4, p. 452-460, Jul 2015.

PHILLIPS, S. M.; CHEVALIER, S.; LEIDY, H. J. Protein "requirements" beyond the RDA: implications for optimizing health. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 41, n. 5, p. 565-572, Maio 2016.

PINGMUANGKAEW, P.; TANGVARASITTICHAJ, O.; TANGVARASITTICHAJ, S. Association of elevated serum uric acid with the components of metabolic syndrome and oxidative stress in abdominal obesity subjects. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 3, p. 286-292, Jul 2015.

PINHEIRO, A. B. V.; LACERDA, E. M. D. A.; BENZECRY, E. H. et al. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Atheneu, 2009.

POLETTI, J.; HARIMA, H. A.; FERREIRA, S. R. G. et al. Hyperuricemia and associated factors: a cross-sectional study of Japanese-Brazilians. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 2, p. 369-378, Fev 2011.

POWERS, S. K.; JI, L. L.; KAVAZIS, A. N. et al. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. **Comprehensive Physiology**, v. 1, n. 2, p. 941-69, Abr 2011.

POWERS, S. K.; RADAK, Z.; JI, L. L. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **Journal of Physiology**, v. 594, n. 18, p. 5081-5092, Set 2016.

PRATESI, A.; TARANTINI, F.; DI BARI, M. Skeletal muscle: an endocrine organ. **Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 11-14, Jan 2013.

PROMISLOW, J. H.; GOODMAN-GRUEN, D.; SLYMEN, D. J. et al. Protein consumption and bone mineral density in the elderly : the Rancho Bernardo Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 155, n. 7, p. 636-644, Abr 2002.

QIN, L.; YANG, Z.; GU, H. et al. Association between serum uric acid levels and cardiovascular disease in middle-aged and elderly Chinese individuals. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 14, p. 26, Fev 2014.

RADAK, Z.; CHUNG, H. Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radic Biology & Medicine**, v. 44, n. 2, p. 153-159, Jan 2008.

RAHI, B.; MORAIS, J. A.; GAUDREAU, P. et al. Energy and protein intakes and their association with a decline in functional capacity among diabetic older adults from the NuAge cohort. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 4, p. 1729-1739, Jun 2016.

RAMEL, A.; ARNARSON, A.; GEIRSDOTTIR, O. G. et al. Glomerular filtration rate after a 12-wk resistance exercise program with post-exercise protein ingestion in community dwelling elderly. **Nutrition**, v. 29, n. 5, p. 719-723, Maio 2013.

REPETTO, M.; REIDES, C.; GOMEZ CARRETERO, M. L. et al. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. **Clin Chimica Acta**, v. 255, n. 2, p. 107-117, Nov 1996.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSON, J. E. et al. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. **Annals of Epidemiology**, v. 13, n. 10, p. 674-682, Nov 2003.

RIBEIRO, A. S.; DEMINICE, R.; SCHOENFELD, B. J. et al. Effect of resistance training systems on oxidative stress in older women. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 27, n. 5, p. 439-447, Abr 2017b.

RIBEIRO, A. S.; NASCIMENTO, M. A.; SCHOENFELD, B. J. et al. Effects of single set resistance training with different frequencies on a cellular health indicator in older women. **Journal of Aging and Physical Activity**, 2017a [Epub ahead of print].

RIBEIRO, A. S.; SCHOENFELD, B. J.; FLECK, S. J. et al. Effects of traditional and pyramidal resistance training systems on muscular strength, muscle mass, and hormonal responses in older women: a randomized crossover trial. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 31, n. 7, p. 1888-1896, Set 2016a.

RIBEIRO, A. S.; SCHOENFELD, B. J.; PINA, F. L. C. et al. Resistance training in older women: comparison of single vs. multiple sets on muscle strength and body composition. **Isokinetics and Exercise Science**, v. 23, n. 1, p. 53-60, Fev 2015a.

RIBEIRO, A. S.; SCHOENFELD, B. J.; SOUZA, M. F. et al. Resistance training prescription with different load-management methods improves phase angle in older women. **European Journal of Sport Sciences**, v. 17, n. 7, p. 913-921, Ago 2017c.

RIBEIRO, A. S.; SCHOENFELD, B. J.; SOUZA, M. F. et al. Traditional and pyramidal resistance training systems improve muscle quality and metabolic biomarkers in older women: A randomized crossover study. **Experimental Gerontology**, v. 79, p. 8-15, Jun 2016b.

RIBEIRO, A. S.; TOMELERI, C. M.; SOUZA, M. F. et al. Effect of resistance training on C-reactive protein, blood glucose and lipid profile in older women with differing levels of RT experience. **Age (Dordr)**, v. 37, n. 6, p. 109, Dez 2015b.

RIZZOLI, R.; STEVENSON, J. C.; BAUER, J. M. et al. The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: a consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). **Maturitas**, v. 79, n. 1, p. 122-132, Set 2014.

SAFFREY, M. J. Aging of the mammalian gastrointestinal tract: a complex organ system. **Age**, v. 36, n. 3, p. 9603, Jun 2013.

SANTOS, L.; RIBEIRO, A. S.; SCHOENFELD, B. J. et al. The improvement in walking speed induced by resistance training is associated with increased muscular strength but not skeletal muscle mass in older women. **European Journal of Sport Sciences**, v. 17, n. 4, p. 488-494, Maio 2017.

SARAGAT, B.; BUFFA, R.; MEREU, E. et al. Specific bioelectrical impedance vector reference values for assessing body composition in the Italian elderly. **Experimental Gerontology**, v. 50, p. 52-56, Fev 2014.

SARDINHA, L. B.; LOHMAN, T. G.; TEIXEIRA, P. J. et al. Comparison of air displacement plethysmography with dual-energy X-ray absorptiometry and 3 field methods for estimating body composition in middle-aged men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 4, p. 786-793, Out 1998.

SATO, K.; FUJITA, S. Exercise, nutrition, and aging in the regulation of muscle protein synthesis. **The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine**, v. 2, n. 3, p. 295-300, Ago 2013.

SCHAAP, L. A.; PLUIJM, S. M.; DEEG, D. J. et al. Higher inflammatory marker levels in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medicine Sciences**, v. 64, n. 11, p. 1183-1189, Nov 2009.

SCHAAP, L. A.; PLUIJM, S. M.; DEEG, D. J. et al. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. **American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6, p. 526.e9-526.e17, Jun 2006.

SCHOENFELD, B. J. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 10, p. 2857-2872, Out 2010.

SCHOENFELD, B. J.; ARAGON, A.; WILBORN, C. et al. Pre- versus post-exercise protein intake has similar effects on muscular adaptations. **PeerJ**, v. 5, p. e2825, Jan 2017.

SCHOENFELD, B. J.; ARAGON, A. A.; KRIEGER, J. W. The effect of protein timing on muscle strength and hypertrophy: a meta-analysis. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 53, Dez 2013a.

SCHOENFELD, B. J.; CONTRERAS, B. The Muscle Pump: Potential Mechanisms and Applications for Enhancing Hypertrophic Adaptations. **Strength and Conditioning Journal**, v.36, n. 3, p. 21-25, Jun 2013b.

SCOTT, D.; BLIZZARD, L.; FELL, J. et al. Associations between dietary nutrient intake and muscle mass and strength in community-dwelling older adults: the Tasmanian Older Adult Cohort Study. **Journal of the American Geriatric Society**, v. 58, n. 11, p. 2129-2134, Nov 2010.

SEALS, D. R.; JUSTICE, J. N.; LAROCCA, T. J. Physiological geroscience: targeting function to increase healthspan and achieve optimal longevity. **Journal of Physiology**, v. 594, n. 8, p. 2001-2024, Abr 2016.

SHAHAR, S.; KAMARUDDIN, N. S.; BADRASAWI, M. et al. Effectiveness of exercise and protein supplementation intervention on body composition, functional fitness, and oxidative stress among elderly Malays with sarcopenia. **Clinical Interventions in Aging**, v. 8, p. 1365-1375, Out 2013.

SOUSA, G. T.; LIRA, F. S.; ROSA, J. C. et al. Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases: a review. **Lipids in Health and Diseases**, v. 11, p. 67, Jul 2012.

SOUZA, M. F.; TOMELERI, C. M.; RIBEIRO, A. S. et al. Effect of resistance training on phase angle in older women: a randomized controlled trial. **Scandinavian Journal of Medicine & Sciences Sports**, v. 27, n. 11, p. 1308-1316, Ago 2016.

SOUZA, R. A.; YOKOO, E. M.; SICHIERI, R. et al. Energy and macronutrient intakes in Brazil: results of the first nationwide individual dietary survey. **Public Health Nutrition**, v. 18, n. 17, p. 3086-3095, Dez 2015.

STEINBACHER, P.; ECKL, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. **Biomolecules**, v. 5, n. 2, p. 356-377, Abr 2015.

STELLINGWERFF, T.; COX, G. R. Systematic review: carbohydrate supplementation on exercise performance or capacity of varying durations. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 39, n. 9, p. 998-1011, Set 2014.

STEPHENS, B. R.; BRAUN, B. Impact of nutrient intake timing on the metabolic response to exercise. **Nutrition Reviews**, v. 66, n. 8, p. 473-476, Aug 2008.

STOBAUS, N.; PIRLICH, M.; VALENTINI, L. et al. Determinants of bioelectrical phase angle in disease. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 8, p. 1217-1220, Abr 2012.

STOKES, T.; HECTOR, A. J.; MORTON, R. W. et al. Recent perspectives regarding the role of dietary protein for the promotion of muscle hypertrophy with resistance exercise training. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 180, Fev 2018.

SUGAWARA, K.; TAKAHASHI, H.; KASHIWAGURA, T. et al. Effect of anti-inflammatory supplementation with whey peptide and exercise therapy in patients with COPD. **Respiratory Medicine**, v. 106, n. 11, p. 1526-1534, Nov 2012.

SUGIHARA JUNIOR, P.; RIBEIRO, A. S.; NABUCO, H. C. G. et al. Effects of whey protein supplementation associated with resistance training on muscular strength, hypertrophy and muscle quality in pre-conditioned older women. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, 2017 [Epub ahead of print].

SULIGA, E.; KOZIEŁ, D.; CIEŚLA, E. et al. Factors associated with adiposity, lipid profile disorders and the metabolic syndrome occurrence in premenopausal and postmenopausal women. **Plos One**, v. 11, n. 4, p. e0154511, Abr 2016.

TAKATA, Y.; ANSAI, T.; AKIFUSA, S. et al. High-level functional capacity and 4-year mortality in an 80-year-old population. **Gerontology**, v. 53, n. 1, p. 46-51, Set 2007.

TALEB-BELKADI, O.; CHAIB, H.; ZEMOUR, L. et al. Lipid profile, inflammation, and oxidative status in peri- and postmenopausal women. **Gynecological Endocrinology**, v. 32, n. 12, p. 982-985, Dez 2016.

THALACKER-MERCER, A. E.; PETRELLA, J. K.; BAMMAN, M. M. Does habitual dietary intake influence myofiber hypertrophy in response to resistance training? A cluster analysis. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 34, n. 4, p. 632-639, Ago 2009.

TOMAYKO, E. J.; KISTLER, B. M.; FITSCHEN, P. J. et al. Intradialytic protein supplementation reduces inflammation and improves physical function in maintenance hemodialysis patients. **Journal of Renal Nutrition**, v. 25, n. 3, p. 276-283, Maio 2015.

TOMELERI, C. M.; MARCORI, A. J.; RIBEIRO, A. S. et al. Chronic blood pressure reductions and increments in plasma nitric oxide bioavailability. **International Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 4, p. 290-299, Abr 2017b.

TOMELERI, C. M.; RIBEIRO, A. S.; SOUZA, M. F. et al. Resistance training improves inflammatory level, lipid and glycemic profiles in obese older women: A randomized controlled trial. **Experimental Gerontology**, v. 84, p. 80-87, Set 2016.

TOMELERI, C. M.; SOUZA, M. F.; BURINI, R. C. et al. Resistance training reduces metabolic syndrome and inflammatory markers in older women: A randomized controlled trial. **Journal of Diabetes**, v. 10, n. 4, p. 328-337, Out 2017a.

TROMMELEN, J.; VAN LOON, L. J. Pre-Sleep protein ingestion to improve the skeletal muscle adaptive response to exercise training. **Nutrients**, v. 8, n. 12, p. E763, Nov 2016.

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES, A. A. et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621-1630, Nov 2002.

UNICAMP: Núcleo de Estudos d Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 4ª Edição. Campinas: UNICAMP, 2011.161p.

VELDHORST, M. A. B.; NIEUWENHUIZEN, A. G.; HOCHSTENBACH-WAELEN, A. et al. Dose-dependent satiating effect of whey relative to casein or soy. **Physiology & Behavior**, v. 96, n. 4-5, p. 675-682, Mar 2009.

VERDIJK, L. B.; JONKERS, R. A.; GLEESON, B. G. et al. Protein supplementation before and after exercise does not further augment skeletal muscle hypertrophy after resistance training in elderly men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 2, p. 608-616, Feb 2009.

[VI Brazilian Guidelines on Hypertension]. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 1 Suppl, p. 1-51, Jul 2010.

VILLANUEVA, M. G.; HE, J.; SCHROEDER, E. T. Periodized resistance training with and without supplementation improve body composition and performance in older men. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 5, p. 891-905, Maio 2014.

WALL, B. T.; GORISSEN, S. H.; PENNING, B. et al. Aging is accompanied by a blunted muscle protein synthetic response to protein ingestion. **PLoS One**, v. 10, n. 11, p. e0140903, Nov 2015.

WHITE, K.; JACQUES, P. H. Combined diet and exercise intervention in the workplace: effect on cardiovascular disease risk factors. **AAOHN J: official journal of the American Association of Occupational Health Nurses**, v. 55, n. 3, p. 109-114, Mar 2007.

WITKO-SARSAT, V.; FRIEDLANDER, M.; CAPELLERE-BLANDIN, C. et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. **Kidney International**, v. 49, n. 5, p. 1304-1313, Maio 1996.

WOLFE, R. R.; MILLER, S. L.; MILLER, K. B. Optimal protein intake in the elderly. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 5, p. 675-684, Out 2008.

WYCHERLEY, T. P.; NOAKES, M.; CLIFTON, P. M. et al. Timing of protein ingestion relative to resistance exercise training does not influence body composition, energy expenditure, glycaemic control or cardiometabolic risk factors in a hypocaloric, high protein diet in patients with type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 12, n. 12, p. 1097-1105, Dez 2010.

XU, Y.; XIE, X.; DUAN, Y. et al. A review of impedance measurements of whole cells. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 77, p. 824-836, Mar 2016.

YAMASHITA, N.; HOSHIDA, S.; OTSU, K. et al. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 189, n. 11, p. 1699-1706, Jun 1999.

YANG, Y.; CHURCHWARD-VENNE, T. A.; BURD, N. A. et al. Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. **Nutrition & Metabolism**, v. 9, n. 1, p. 57, Jun 2012.

YU, K. H.; SEE, L. C.; HUANG, Y. C. et al. Dietary factors associated with hyperuricemia in adults. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 37, n. 4, p. 243-250, Feb 2008.

ZAKYNTHINOS, E.; PAPPA, N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. **Journal of Cardiology**, v. 53, n. 3, p. 317-333, Jun 2009.

ZAMBONI, M.; ROSSI, A. P.; FANTIN, F. et al. Adipose tissue, diet and aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 136-137, p. 129-137, Mar-Abr 2013.

ZEMEL, M. B. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 907S-912S, Maio 2004.

ZHANG, J. W.; TONG, X.; WAN, Z. et al. Effect of whey protein on blood lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 8, p. 879-885, Ago 2016.

ZHU, K.; DEVINE, A.; SULESKA, A. et al. Adequacy and change nutrient and food intake with aging in a seven-year cohort study in elderly women. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 14, n.9, p.723-729, Nov 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Entrevista – Projeto idosas

NOME: _____

TELEFONE:(___)_____ IDADE:_____ anos NASCIMENTO ___/___/___

ENDEREÇO: _____

ANAMNESE

1) Você possui algum problema cardiovascular ou metabólico?

Sim NãoHipertensão Diabetes Colesterol/Triglicérides Elevado
Hipoglicemia

2) Você está acima ou abaixo do seu peso desejado?

Sim Não Caso positivo, quanto? _____

3) Você possui algum problema osteomuscular?

Sim NãoFibromialgia Artrite Artrose Bico de papagaio Hérnia de disco
Lesão Muscular Desgaste Ósseo

4) Você vai com frequência (pelo menos uma vez ao ano) ao médico?

Sim Não Caso positivo, qual? _____

5) Alguma vez o médico disse que você não pode fazer exercícios físicos?

Sim Não Caso positivo, porque? _____

6) Você faz uso diário de algum medicamento?

Sim Não Caso positivo, qual e porquê? _____

7) Você é fumante?

()Sim ()Não Caso positivo, quantos cigarros por dia? _____

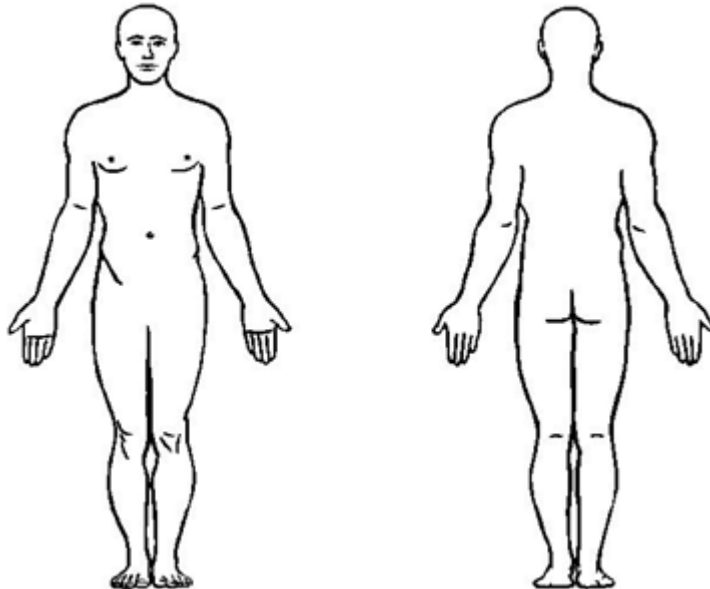
8) Você faz uso de bebida alcoólica com frequência (mais que duas vezes por semana)?

()Sim ()Não Caso positivo, quanto? _____

9) Você tem realizado exercício físico regularmente nos últimos seis meses?

()Sim ()Não Caso positivo, qual? _____

10) Utilizando o corpo desenhado logo abaixo, em qual parte você sente dor? Sinalize com uma seta o local e coloque o motivo.



11) Você tem alguma viagem/cirurgia marcada para os próximos 12 meses?

()Sim ()Não Caso positivo, qual? _____

12) Qual horário de treinamento a senhora pode participar?

()8:30 hs ()9:30 hs ()10:30 hs



APÊNDICE B
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa:

“Efeito da suplementação de Whey Protein associado ao treinamento com pesos em mulheres idosas”

Prezada Senhora,

Gostaríamos de convidá-la a participar da pesquisa **“Efeito da suplementação de Whey Protein (Proteína do Soro do Leite) associado ao treinamento com pesos em mulheres idosas”** (CADASTRO PROPPG Nº 07815), a ser realizada no município de Londrina/PR. O objetivo desta pesquisa será analisar o efeito da suplementação alimentar associado a um programa de treinamento com pesos sobre parâmetros morfológicos, metabólicos e de desempenho de mulheres idosas.

Todas as avaliações serão realizadas por profissionais previamente treinados para tal finalidade. A assinatura deste termo permitirá que você participe das seguintes atividades:

- (1) Programa de treinamento com pesos com duração de 36 semanas;
- (2) Preenchimento de questionários sobre prática de atividades físicas, hábitos alimentares e fumo;
- (3) Medidas de peso, estatura e pressão arterial/frequência cardíaca em repouso;
- (4) Avaliação da composição corporal pelos métodos de impedância bioelétrica (teste com duração de 30s: deitado em um colchonete, dois pequenos eletrodos serão colocados na mão e pé direito e transmitirão uma pequena corrente elétrica que indicará a quantidade de água [procedimento indolor e sem qualquer tipo de risco]), DEXA (teste com duração de aproximadamente sete minutos: deitado em uma mesa no próprio equipamento, sem portar qualquer tipo de objeto metálico, vestindo apenas roupas). O equipamento fará um escaneamento do corpo todo para determinação da massa livre de gordura (procedimento indolor e sem qualquer tipo de risco);
- (5) Coleta de sangue venoso em jejum de 12 h feito por um técnico capacitado e habilitado para a avaliação de indicadores metabólicos;
- (6) Avaliação da aptidão neuromuscular pelos testes de uma repetição máxima (teste realizado em três exercícios para os segmentos de membros superiores, inferiores e tronco, que consiste na realização de três tentativas com o objetivo de levantar a maior quantidade de peso possível em apenas uma repetição para determinação da força muscular máxima);
- (7) Consumir uma dose do suplemento proteico durante cada dia de treinamento.

Gostaríamos de esclarecer que a participação é totalmente voluntária. O participante pode recusar-se a participar/desistir a qualquer momento sem sofrer prejuízo algum. As informações serão utilizadas somente para fins de pesquisa e todos os documentos e amostras utilizados serão identificados por um código numérico sem identificação nominal para preservar a identidade do participante. Lembramos que não será cobrada taxa alguma por estas avaliações. Da mesma forma, não será paga quantia alguma aos participantes.

Ao final do estudo, comprometemo-nos a retornar com os resultados de todas as avaliações, que serão entregues aos participantes. Espera-se, com essa pesquisa, proporcionar informações que possam favorecer a melhoria da saúde e qualidade de vida de indivíduos adultos idosos por meio da prática de treinamento e associação com aspectos nutricionais, além de possibilitar a melhoria de parâmetros morfológicos, neuromusculares e metabólicos dos participantes. Apesar de considerados mínimos, os possíveis riscos são: desconfortos na coleta sanguínea e cansaço durante os testes físicos. É possível também que alguns grupamentos musculares exigidos nos testes de esforço fiquem doloridos entre 24 e 48 horas após a realização dos mesmos.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode contactar o Prof. Dr. Edilson Serpeloni Cyrino, no Laboratório de Metabolismo, Nutrição e Exercício, localizado no Centro de Educação Física e Esporte, da Universidade Estadual de Londrina, pelo telefone (43) 3371-4772 / 9139-4509 ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Rodovia Celso Garcia Cid, km 380 – Campus Universitário, telefone (43) 3371-4000. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida, assinada e entregue a você.



Londrina, ____ de _____ de 2016.

Edilson Serpeloni Cyrino

Eu, _____ (nome por
extenso do sujeito de pesquisa), portadora do RG: _____

tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em
participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: ____/____/2016

APÊNDICE D
Modelo Recordatório Alimentar

Nome: _____ Data Nasc.: ____/____/____
 Sexo: () Feminino () Masculino Dia da semana do Recordatório: _____
 Entrevistador: _____ Data da Entrevista: ____/____/____ Nº Quest: ____

REFEIÇÃO E O HORÁRIO	Alimentos, bebidas e/ou preparações	Tipo/ forma de preparo	Quantidades (gramas e medida caseira)
Desjejum Horário: _____			
Colação Horário: _____			
Almoço Horário: _____			
Lanche Horário: _____			
Jantar Horário: _____			
Ceia Horário: _____			

APÊNDICE E

Artigo 01 publicado

Link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5986443/pdf/nutrients-10-00563.pdf>

ANEXOS

ANEXO A

Financiamento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico



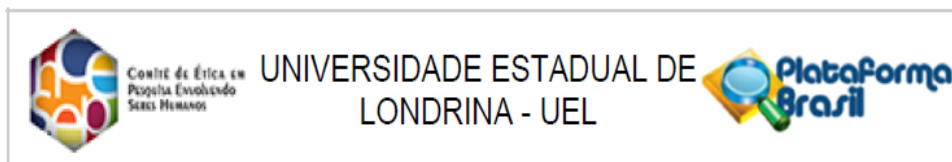
**IMPACTO DO TREINAMENTO COM PESOS EM DIFERENTES
FREQUÊNCIAS SEMANAIS, DESTREINAMENTO E
RETREINAMENTO SOBRE BIOMARCADORES DE SAÚDE,
COMPOSIÇÃO CORPORAL, DESEMPENHO MOTOR E
INDICADORES DE QUALIDADE DE VIDA EM MULHERES IDOSAS**

Processo: 309455/2013-8

EDILSON SERPELONI CYRINO

ANEXO B

Carta de aprovação do projeto pelo comitê de ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos da suplementação de Whey Protein associado a 12 semanas de treinamento com pesos sobre a composição corporal, biomarcadores sanguíneos e a força muscular em mulheres idosas

Pesquisador: EDILSON SERPELONI CYRINO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 57397116.9.0000.5231

Instituição Proponente: CEFE - Departamento de Educação Física

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

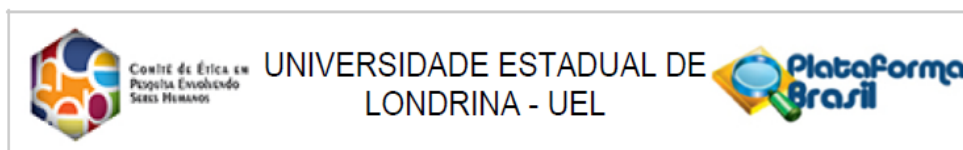
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.700.756

Apresentação do Projeto:

O documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_705574.pdf" em seu item "Resumo" diz: O processo de envelhecimento tem um impacto negativo sobre diversos indicadores de saúde e qualidade de vida, sobretudo, em pessoas que adotam comportamentos sedentários. No entanto, muitos estudos vêm demonstrando a implicação da suplementação alimentar juntamente com a prática de exercício físico como uma ferramenta de combate aos efeitos do envelhecimento. **Objetivo:** Analisar o efeito da suplementação de Whey Protein associado ao treinamento com pesos por 12 semanas sobre a composição corporal, os biomarcadores sanguíneos e a força muscular em mulheres idosas. **Métodos:** Aproximadamente 60 mulheres idosas serão acompanhadas ao longo de 12 semanas em três grupos experimentais (WP-PLA: suplementação de Whey Protein pré-exercício e placebo pós-exercício; PLA-WP: placebo pré-exercício + suplementação de Whey Protein pós-exercício; PLA-PLA: placebo pré e pós-exercício. Medidas antropométricas e hemodinâmicas, composição corporal, registros alimentares, desempenho motor, bioquímica sanguínea e indicadores de qualidade de vida serão obtidos pré e pós intervenção. **Resultados esperados:** Considerando os riscos para a saúde associados ao comportamento sedentário e os possíveis benefícios do treinamento com pesos, associado a baixa ingestão proteica em idosos,

Endereço: LABESC - Sala 14	
Bairro: Campus Universitário	CEP: 86.057-970
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.700.756

espera-se que as informações a serem produzidas neste estudo forneçam subsídios importantes para a saúde de mulheres idosas e que permitam uma tomada de decisão mais segura sobre a prescrição de suplementos proteicos, visto que a baixa ingestão proteica é frequente nessa população e está associado a alterações das necessidades nutricionais, fatores econômicos e dificuldade na digestão.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar o efeito da suplementação de Whey Protein associado ao treinamento com pesos por 12 semanas sobre a composição corporal, os biomarcadores sanguíneos e a força muscular em mulheres idosas.

Objetivo Secundário:

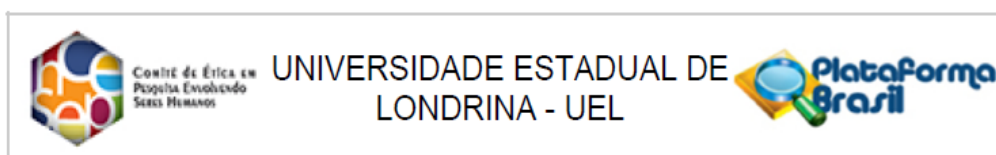
- Analisar o efeito anabólico e anticatabólico da suplementação associado ao treinamento com pesos na composição corporal e indicadores hormonais em mulheres idosas;
- Analisar o efeito da suplementação e treinamento com pesos sobre a água corporal e suas subfrações em idosas;
- Analisar o efeito do TP e consumo de suplemento proteico sobre a força de mulheres idosas;
- Verificar o efeito da suplementação proteica e treinamento com pesos sobre a capacidade funcional de idosas;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O projeto apresenta riscos mínimos, relacionados com os possíveis desconfortos decorrentes das medidas antropométricas e de força muscular, coleta de sangue para medidas bioquímicas, além do eventual constrangimento a algumas das questões do instrumento de qualidade de vida. É possível, também, que no início do programa de treinamento as participantes sintam dores musculares após as sessões de exercícios. Caso ocorra algum tipo de desconforto ou dano, previsto ou não (ex.: acidente durante a manipulação de pesos, ou durante a execução dos exercícios), decorrente da execução do projeto, o participante será prontamente atendido e amparado pela equipe do projeto. Quanto à substância oferecida como suplemento, não existem danos a saúde comprovados na literatura devido a sua ingestão dentro das doses recomendadas, nem quanto a restrição a populações especiais, como hipertensos ou portadores de doenças renais. Todas as participantes serão informadas sobre a suplementação de whey protein e questionadas quanto a possíveis alergias, no entanto, caso alguma participante apresente

Endereço: LABESC - Sala 14	
Bairro: Campus Universitário	CEP: 86.057-970
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.700.756

sintomas de intolerância será suspensa a suplementação. Quanto ao uso de maltodextrina, a contraindicação é para portadores de diabetes melitus tipo I e II, no entanto, essa população em especial não fará parte da nossa amostra. Outros riscos do uso contínuo de maltodextrina é o possível aumento da glicemia e de peso, no entanto, será feito controle da glicemia, por meio da aferição da glicose semanalmente, utilizando um glicosímetro portátil, marca Abbott Optium Xceed.

Benefícios:

Espera-se que com a associação da do treinamento e a suplementação de whey protein, os participantes do estudo aumentem a massa livre de gordura, bem como a força e resistência muscular. Espera-se também que o whey protein possa minimizar os efeitos deletérios produzidos pelo estresse oxidativo. Espera-se que as participantes do estudo se beneficiem dos resultados positivos que a prática de exercícios orientados pode gerar nesta faixa etária. Ao final da pesquisa, as pessoas submetidas ao grupo controle também receberão a suplementação de whey protein, ao término do projeto, sem nenhum custo. Assim como, as pessoas que não ficaram alocadas no grupo de melhor resultado receberão a suplementação ao término do projeto, sem nenhum custo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este CEP entende e ressalta a relevância do estudo e considera que não há pendências éticas ou documentais.

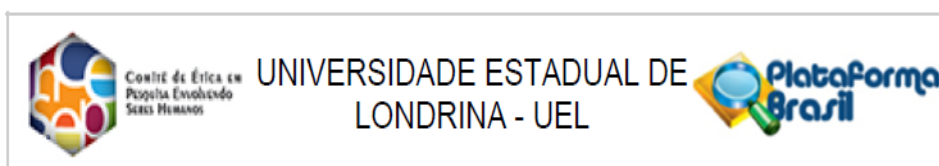
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. Apresenta Folha de Rosto devidamente preenchida e assinada pelo diretor do CEFE.
2. Apresenta TCLE em forma de convite e contendo as informações necessárias sobre o projeto.
3. Apresenta Cronograma de Execução compatível.
4. Apresenta Orçamento Financeiro detalhado.
5. Apresenta autorização da unidade Co-Participante (HU).
6. Apresenta declaração do responsável pelas análises bioquímicas.
7. Apresenta declaração do médico cardiologista responsável pela avaliação de aptidão física das participantes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.700.756

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

Este é seu parecer final de aprovação, vinculado ao Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina. É sua responsabilidade imprimi-lo para apresentação aos órgãos e/ou instituições pertinentes.

Coordenação CEP/UEL.

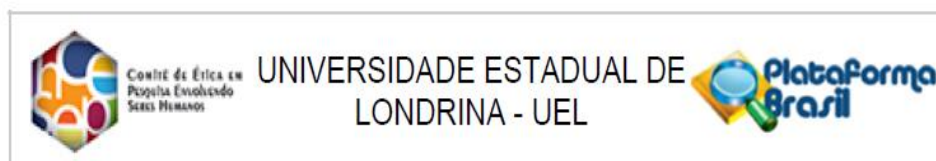
Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_705574.pdf	12/08/2016 11:21:53		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_2.pdf	12/08/2016 11:20:49	EDILSON SERPELONI CYRINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.pdf	12/08/2016 11:20:38	EDILSON SERPELONI CYRINO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_1.pdf	02/08/2016 11:14:24	EDILSON SERPELONI CYRINO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ENTREVISTA.pdf	02/08/2016 10:57:03	EDILSON SERPELONI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	luciano.pdf	02/08/2016 10:54:28	EDILSON SERPELONI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE1.pdf	02/08/2016 10:53:01	EDILSON SERPELONI CYRINO	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostocorrigida.pdf	02/08/2016 10:49:24	EDILSON SERPELONI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	24/06/2016 21:12:41	EDILSON SERPELONI CYRINO	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	24/06/2016 21:08:39	EDILSON SERPELONI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaoDecio.pdf	14/06/2016 12:11:55	EDILSON SERPELONI	Aceito
Outros	ParecerHU.pdf	14/06/2016 12:10:39	EDILSON SERPELONI	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
UF: PR Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br

Página 04 de 05



Continuação do Parecer: 1.700.756

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 29 de Agosto de 2016

Assinado por:
Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
UF: PR Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br

Página 05 de 05

ANEXO C

Laudo do Departamento de Alimentos e Medicamentos



Universidade
Estadual de Londrina
Centro de Ciências Agrárias
Depto. Tecnologia de Alimentos e Medicamentos

Campus Universitário
Fone: (43) 3371-4585
Fax: (43) 3371-4585
Caixa Postal 6001
CEP 86051-970

**Relatório de Ensaios**

Protocolo: 159/2016

Pag.:1 de 1

Produto: Whey Isolado Hidrolisado

Marca do Produto:

Registro:

Data Fabricação:

Data Validade:

Lote Nº:

Fabricante:

Solicitante: EDILSON SERPELONI CYRINO

Endereço: Rua Caracas, 377 - Apto 2103 Santa Rosa

Cidade: Londrina

Estado: PR

Resultado

<u>Características Físico-Químicas</u>	<u>A</u>
Carboidratos, g/100g	14,89
Lípidios, g/100g	0,49
Proteína Total, g/100g	77,50
Resíduo Mineral Fixo - Cinzas, g/100g	2,87
Umidade (105°C), g/100g	4,25
Valor Calórico Total (Kcal/100g)	373,97

Conclusão: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Observação: Este resultado refere-se à amostra recebida em: 06/05/2016

Obs Geral:

Londrina , 20 de maio de 2016.

Prof. Wilma Spinosa
Gerente da Qualidade

CREA SP - 5062160115



Universidade
Estadual de Londrina
Centro de Ciências Agrárias
Depto. Tecnologia de Alimentos e Medicamentos

Campus Universitário
Fone: (43) 3371-4585
Fax: (43) 3371-4585
Caixa Postal 6001
CEP 86051-970



Fundação de Apoio ao Desenvolvimento
da Universidade Estadual de Londrina

Relatório de Ensaios

Protocolo: 161/2016

Pag.:1 de 1

Produto: MALTO DEXTRINA

Marca do Produto:

Registro:

Data Fabricação:

Data Validade:

Lote N°:

Fabricante:

Solicitante: EDILSON SERPELONI CYRINO

Endereço: Rua Caracas, 377 - Apto 2103 Santa Rosa

Cidade: Londrina

Estado: PR

Resultado

<u>Características Físico-Químicas</u>	<u>A</u>
Carboidratos, g/100g	95,16
Lípidios, g/100g	N.D
Proteína Total, g/100g	0,84
Resíduo Mineral Fixo - Cinzas, g/100g	0,14
Umidade (105°C), g/100g	3,86
Valor Calórico Total (Kcal/100g)	384

Conclusão: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Observação: Este resultado refere-se à amostra recebida em: 06/05/2016

Obs Geral:

Londrina , 20 de maio de 2016.

Prof. Wilma Spinosa
Gerente da Qualidade

CREA SP - 5062160115