

Tathiane Christine Franco

Efeitos da suplementação de proteína associada ao treinamento físico no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica em restrição calórica: um estudo clínico randomizado controlado

São Paulo

2024

Tathiane Christine Franco

Efeitos da suplementação de proteína associada ao treinamento físico no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica em restrição calórica: um estudo clínico randomizado controlado

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Augusto Roschel da Silva

São Paulo

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Franco, Tathiane Christine

Efeitos da suplementação de proteína associada ao treinamento físico no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica em restrição calórica : um estudo clínico randomizado controlado / Tathiane Christine Franco; Hamilton Augusto Roschel da Silva, orientador. -- São Paulo, 2024.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1.Obesidade 2.Sarcopenia 3.Obesidade sarcopênica
4.Telômeros 5.Estresse oxidativo 6.Treinamento físico
7.Restrição calórica 8.Suplementação de proteínas I.Roschel da Silva, Hamilton Augusto, orient. II.Título

USP/FM/DBD-545/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Tathiane Christine Franco

Efeitos da suplementação de proteína associada ao treinamento físico no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica em restrição calórica: um estudo clínico randomizado controlado

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento:

AGRADECIMENTOS

Primeiramente (e sempre), à Deus pela vida e pelas oportunidades concedidas todos os dias. Durante todo o processo, agradeço a minha família: meus pais, meus irmãos, meu marido. Sem eles, eu jamais teria conseguido concluir este Mestrado, tanto pelo amor e carinho que recebo diariamente, como pela estrutura emocional e psicológica que tive desde o dia em que vim ao mundo até hoje, que com toda certeza, fizeram muita diferença para que eu tivesse forças e determinação suficiente para ir até o final com este propósito.

Agradeço aos meus amigos, pelas palavras de força, pela compreensão nas ausências e concessões necessárias.

Agradeço imensamente aos participantes idosos do projeto, que se dispuseram a ir em todas as sessões, mesmo muitas vezes com dores e outras complicações.

Agradeço muito aos meus colegas de trabalho, Alice, Gersiel, Rafael e Igor pelos vários momentos de parceria durante a coleta, análise dos dados e escrita. E, sem dúvidas, pelo apoio e partilha nos muitos momentos difíceis dessa jornada.

Agradeço aos colegas de orientação, Carolina Nicoletti e seus alunos, e Vanessa de Jesus, que me apoiaram em todo o processo da análise de dados.

Agradeço ao meu orientador Hamilton, pela oportunidade de aprendizado dada e pelo suporte.

“Hoje me sinto mais forte,
Mais feliz, quem sabe
Eu só levo a certeza
De que muito pouco sei,
Ou Nada sei”.

“A ideia é morrer jovem o mais tarde possível”

Ashley Montagu (1905–1999), antropólogo e humanista britânico-americano.

RESUMO

Franco TC. Efeitos da suplementação de proteína associada ao treinamento físico no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica em restrição calórica: um estudo clínico randomizado controlado [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

O número de idosos está crescendo globalmente. A redução de massa muscular concomitante ao aumento de tecido adiposo, condições comuns no processo de envelhecimento, é definida como obesidade sarcopênica. Nesse cenário, a inflamação crônica e estresse oxidativo podem acelerar o envelhecimento. Dentre os marcadores de envelhecimento biológico, os telômeros se destacam devido à correlação direta entre seu comprimento e longevidade. Considerando a associação do comprimento dos telômeros com a obesidade sarcopênica, é possível que o atrito dos telômeros seja exacerbado nesta condição. A restrição calórica é recomendada no tratamento da obesidade sarcopênica e potencializada quando associada ao exercício físico. No entanto, sua aplicação ocasiona perda de massa magra. A suplementação de proteínas tem se mostrado uma contramedida eficaz e segura contra a sarcopenia em conjunto ao treinamento. Apesar de o treinamento combinado (aeróbico associado ao treinamento de força) já ter sido positivamente correlacionado ao comprimento dos telômeros, os efeitos da restrição calórica associada a um programa de exercícios físicos com suplementação de proteínas sobre o comprimento dos telômeros permanece desconhecido. Portanto, o objetivo deste trabalho é investigar o efeito combinado do treinamento físico e restrição calórica com suplementação de proteínas sobre o comprimento dos telômeros em idosos obesos sarcopênicos. Um total de 105 participantes com mais de 65 anos foram aleatoriamente divididos em 3 grupos (n=35): a) Suplementação de proteínas e restrição calórica associados ao treinamento físico; b) Suplementação placebo e restrição calórica associados ao treinamento físico; c) Grupo controle (sem exercício, restrição e suplementação). Foram analisados o comprimento dos telômeros e os marcadores de estresse oxidativo antes e após a intervenção de 16 semanas. A análise estatística foi realizada por intenção de tratamento utilizando ANOVA de modelos mistos. Os achados revelaram que: (i) uma abordagem multidisciplinar combinando as estratégias do treinamento físico e restrição calórica melhorou os parâmetros relacionados à obesidade (peso corporal, IMC, RCQ, massa gorda) e à sarcopenia (FPM/IMC e MMA/IMC) com benefícios adicionais observados após a suplementação de proteína (peso corporal, IMC, massa gorda, MMA/IMC); (ii) Na análise de pós-hoc agrupando grupo PTN e PLA (INT), o treinamento físico e a restrição calórica aumentaram o comprimento do telômero e reduziram os níveis de TBARS (marcador de estresse oxidativo), sem nenhum efeito adicional da suplementação de proteína; e (iii) as melhorias no comprimento do telômero foram positivamente correlacionadas com alterações nos níveis de TBARS, atividade de GPx e FPM/IMC, e negativamente correlacionadas com as reduções no peso corporal, IMC, RCQ e massa gorda total. Em conclusão, o treinamento físico e a restrição calórica podem oferecer uma opção não farmacológica valiosa para melhorar o comprimento do telômero e atenuar o estresse oxidativo em idosos com obesidade sarcopênica.

Palavras-chaves: Obesidade. Sarcopenia. Obesidade sarcopênica. Telômeros. Estresse oxidativo. Treinamento físico. Restrição calórica. Suplementação de proteínas.

ABSTRACT

Franco TC. Effects of protein supplementation associated with exercise training on telomere length in older people with sarcopenic obesity under caloric restriction: a randomized controlled trial [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2024.

The number of older adults is increasing globally. The simultaneous reduction in muscle mass and increase in adipose tissue—common conditions in the aging process—is defined as sarcopenic obesity. In this context, chronic inflammation and oxidative stress may accelerate aging. Among the biomarkers of biological aging, telomeres stand out due to the direct correlation between their length and longevity. Considering the association between telomere length and sarcopenic obesity, it is possible that telomere attrition is exacerbated in this condition. Caloric restriction is recommended for the management of sarcopenic obesity and its effects are enhanced when combined with physical exercise. However, this approach can lead to a loss of lean mass. Protein supplementation has proven to be an effective and safe countermeasure against sarcopenia when combined with resistance training. Although combined training (aerobic plus resistance training) has already been positively associated with telomere length, the effects of caloric restriction in conjunction with an exercise program and protein supplementation on telomere length remain unknown. Therefore, the aim of this study was to investigate the combined effect of physical training and caloric restriction with protein supplementation on telomere length in older individuals with sarcopenic obesity. A total of 105 participants over the age of 65 were randomly assigned to three groups ($n = 35$): a) protein supplementation and caloric restriction combined with physical training; b) placebo supplementation and caloric restriction combined with physical training; c) control group (no exercise, restriction, or supplementation). Telomere length and oxidative stress markers were analyzed before and after the 16-week intervention. Statistical analysis was performed by intention-to-treat using mixed-model ANOVA. The findings revealed that: (i) a multidisciplinary approach combining physical training and caloric restriction improved parameters related to obesity (body weight, BMI, WHR, fat mass) and sarcopenia (HGS/BMI and ASM/BMI), with additional benefits observed following protein supplementation (body weight, BMI, fat mass, ASM/BMI); (ii) in the post-hoc analysis grouping the PTN and PLA groups (INT), physical training and caloric restriction increased telomere length and reduced TBARS levels (a marker of oxidative stress), with no additional effect from protein supplementation; and (iii) improvements in telomere length were positively correlated with changes in TBARS levels, GPx activity, and HGS/BMI, and negatively correlated with reductions in body weight, BMI, WHR, and total fat mass. In conclusion, physical training and caloric restriction may offer a valuable non-pharmacological strategy to improve telomere length and mitigate oxidative stress in older adults with sarcopenic obesity.

Keywords: Obesity. Sarcopenia. Sarcopenic obesity. Telomere length. Oxidative stress. Exercise training. Caloric restriction. Protein supplementation.

LISTA DE ABREVIATURAS

4-HNE 4-hidroxi 2-nonenal

AGL ácidos graxos livres

ATP adenosina trifosfato

CAT catalase

CC circunferência da cintura

CQ circunferência do quadril

CT comprimento dos telômeros

DDR resposta a danos do DNA

DNA ácido desoxirribonucleico

ECR ensaio clínico randomizado

ERO Espécies reativas de oxigênio

FPM força de preensão manual

G guanina

GPx glutathiona peroxidase

GR glutathiona redutase

GSH glutathiona

GSSG glutathiona reduzida

GST glutathiona s-transferase

IL-6 interleucina-6

IMC índice de massa corporal

IMCLs lipídios intramiocelulares

IMMA índice de massa magra apendicular

MDA malondialdeído

MLG massa livre de gordura

MMA massa magra apendicular

MMA massa magra apendicular

OS obesidade sarcopênica

PC-R proteína C reativa

POT1 protetora dos telômeros 1

RAP1 proteína repressora-ativadora 1

RC restrição calórica

RCQ relação cintura quadril

RE retículo endoplasmático

RI resistência à insulina

SOD superóxido dismutase

TAIM tecido adiposo intermuscular

TBARS ácido tiobarbitúrico

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERC enzima transcriptase reversa com molde de RNA

TERT enzima transcriptase reversa

TIN2 proteína nuclear 2

TNF α fator de necrose tumoral alfa

TPP1 homóloga da proteína da displasia adrenocortical

TRF1 fator de ligação de repetição telomérica 1

TRF2 fator de ligação de repetição telomérica 2

VO₂máx capacidade aeróbia máxima

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura do Telômero

Figura 2 Estrutura do *Shelterin*

Figura 3 Replicação e encurtamento do DNA telomérico

Figura 4 Mecanismos do envelhecimento e a relação com atrofia muscular

Figura 5 Mecanismos da obesidade e influência do tecido adiposo na célula muscular.

Figura 6 Fisiopatologia e consequências da obesidade sarcopênica.

Figura 7 Desenho experimental

Figura 8 Fluxograma do estudo

Figura 9 Detalhes do protocolo de treinamento

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Caracterização da amostra

Tabela 2 Efeitos da suplementação de proteína combinada ao exercício físico e restrição calórica nos parâmetros antropométricos, composição corporal, comprimento dos telômeros e marcadores de estresse oxidativo

Tabela 3 Efeitos do exercício físico e restrição calórica nos parâmetros antropométricos, composição corporal, comprimento dos telômeros e marcadores de estresse oxidativo

Tabela 4 Correlação de medidas repetidas entre o comprimento dos telômeros e os parâmetros antropométricos, massa gorda total, massa magra total e marcadores de estresse oxidativo.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	Telômeros	21
2.2	Envelhecimento, Inflamação e Estresse Oxidativo	27
2.3	Obesidade Sarcopênica.....	34
2.4	Restrição calórica	39
2.5	Treinamento físico	42
2.6	Suplementação de proteína.....	46
3.	OBJETIVOS.....	52
3.1	Objetivo Geral.....	52
3.2	Objetivos Específicos	52
3.2.1.		52
3.2.2.		52
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	54
4.1	Desenho Experimental.....	54
4.2	Seleção da Amostra.....	55
4.3	Antropometria e Composição Corporal.....	57
4.4	Análise do comprimento dos telômeros	58
4.5	Análise de Marcadores de Estresse Oxidativo	59
4.5.1	Atividade enzimática da Catalase (CAT)	60
4.5.2	Atividade enzimática Superóxido Dismutase (SOD).....	61
4.5.3	Atividade enzimática Glutational Peroxidase (GPx)	61
4.5.4	Atividade enzimática Glutational Redutase (GR).....	62
4.5.5	Atividade da glutational S-transferase (GST)	62
4.5.6	Peroxidação lipídica através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	63
4.6	Avaliação da força	63

4.7 Teste ergoespiométrico	64
4.8 Avaliação dietética	65
Intervenções	65
4.9 Restrição Calórica e Suplementação Nutricional	65
4.10 Protocolo de Treinamento	66
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	68
6. RESULTADOS	71
6.1 Participantes	71
6.2 Análise primária	72
6.3 Análise secundária	76
6.4 Correlações de medidas repetidas	77
7. DISCUSSÃO	80
8. CONCLUSÃO	90
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A população de idosos está aumentando rapidamente em todo o mundo. A estimativa é de que até 2050, a marca de 2,1 bilhões seja atingida.¹ O desafio é que o aumento da expectativa de vida não tem sido acompanhado pela melhora ou manutenção da saúde, e sim pelo aumento na prevalência de doenças crônicas² e na dificuldade em realizar atividades da vida diária, acarretando perda de independência, aumento do risco de quedas e morte prematura dos idosos.⁹¹

O envelhecimento é um processo natural e complexo caracterizado pelo declínio gradual dos sistemas fisiológicos e suas funções.⁴ A nível celular, inúmeras alterações ocorrem em vias bioquímicas (e.g., inflamação e estresse oxidativo) e genéticas (e.g., instabilidade do genoma e mudanças epigenéticas), desencadeando processos moleculares como o atrito dos telômeros, um importante regulador do fenótipo do envelhecimento.^{4,145} Os telômeros, estruturas protetoras situadas nas extremidades dos cromossomos e estão diretamente associados à integridade genômica. O comprimento dos telômeros é frequentemente utilizado como um marcador biológico do envelhecimento.⁸³ Devido ao problema da replicação final, os telômeros são naturalmente degradados a cada divisão celular, levando ao encurtamento ao longo do tempo.^{56,131} É importante destacar que este processo pode ser exacerbado por certas condições de saúde comuns ao envelhecimento.

Por exemplo, o envelhecimento está associado ao aumento da adiposidade (i.e., obesidade) e à diminuição da massa muscular e sua funcionalidade (i.e., sarcopenia), sendo que a presença de um pode agravar o outro. Essa interação, conhecida como obesidade sarcopênica,^{28,29} representa uma grande preocupação para a saúde pública devido à sua associação com o aumento da morbidade e mortalidade^{15,30,31} Tanto o excesso de adiposidade quanto a redução da massa muscular são conhecidos por contribuir para o estresse oxidativo, um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) pela respiração mitocondrial e as defesas antioxidantes do corpo.⁶⁶ A obesidade está associada à inflamação crônica de baixo grau e a uma oxigenação deficiente dos adipócitos, que podem desencadear e reforçar o estresse oxidativo.^{300,301} Além disso, alterações relacionadas à idade, principalmente impulsionadas por um desequilíbrio entre as vias de sinalização intracelular anabólicas e

catabólicas, também favorecem uma produção excessiva de ERO no músculo esquelético.⁷⁸

Sob essa perspectiva, a coexistência de obesidade e sarcopenia (obesidade sarcopênica) apresenta um maior risco à danos celulares exacerbados e desregulação da sinalização intracelular do que cada uma destas condições isoladamente, sugerindo que a combinação delas possui elevado potencial para acelerar o envelhecimento. De fato, foi demonstrado que a obesidade sarcopênica está associada ao encurtamento dos telômeros.⁸⁹ Assim sendo, parece razoável especular que a redução da produção das EROs, decorrente da mudança na composição corporal (e.g., redução da massa gorda paralelamente a preservação ou aumento da massa magra), pode influenciar positivamente a taxa de encurtamento dos telômeros e a saúde geral em idosos com obesidade sarcopênica.

Entretanto, a melhor abordagem para o manejo da obesidade sarcopênica em idosos ainda é controversa. Frequentemente recomenda-se a restrição calórica visando a perda de peso e redução da massa gorda, com efeitos adicionais positivos nos níveis de EROs.²¹⁰ No entanto, tal prática também costuma levar a uma significativa perda de massa muscular, o que pode ser especialmente prejudicial para indivíduos já afetados pela sarcopenia.⁹⁶ Em contrapartida, o treinamento físico é amplamente reconhecido por seus benefícios para a musculatura esquelética e a composição corporal em geral. Embora o exercício regular possa ajudar a mitigar alguns dos efeitos negativos associados à restrição calórica, sua prática por si só pode não ser suficiente para evitar completamente a perda de massa muscular, indicando a necessidade de estratégias complementares.⁹⁴

Nesse contexto, a suplementação de proteínas – particularmente o *whey protein* (i.e., proteína de soro de leite) – tem sido extensivamente estudada juntamente com intervenções de restrição calórica e exercício físico.^{191-194,199-202} De acordo com uma meta-análise prévia, dietas hipocalóricas e ricas em proteínas podem ajudar a preservar a massa muscular enquanto reduzem a massa gorda.³⁷⁷ Além disso, acredita-se que a proteína do soro do leite exerça efeitos antioxidantes devido ao seu alto teor de cisteína, um componente crucial para a síntese de glutathiona, um importante neutralizador de radicais livres.³⁰⁴

Portanto, a hipótese da presente dissertação consiste em que a suplementação de proteína do soro do leite pode potencializar as melhorias proporcionadas pelo treinamento físico e pela restrição calórica na composição corporal, reduzindo o estresse oxidativo e, conseqüentemente, retardando a taxa de encurtamento dos telômeros e alterando positivamente o comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Telômeros

Os telômeros são estruturas de cadeia dupla de DNA não decodificável presentes ao final do cromossomo, no núcleo das células eucarióticas, e são representados pela sequência 5'-TTAGGG-3' (Figura 1).³⁶ Formados por um complexo proteico nomeado abrigo (“*shelterin*”), que se dispõe em um formato de alça (“*T-loop*”) a partir do emparelhamento de bases (Figura 2),¹⁰⁴ os telômeros possuem geralmente entre 2 a 20 quilobases (kb) de repetições de comprimento.⁴⁶ Contudo, a cada divisão celular,⁴⁹ os telômeros tornam-se mais curtos devido ao “problema da replicação final”,⁵⁰⁻⁵² em que a máquina endógena de replicação não é capaz de copiar o DNA integralmente durante o processo mitótico (Figura 3). Estima-se uma perda de cerca de 50 a 200 pares de base (pb) a cada divisão celular. O estado crítico do encurtamento ocorre ao atingir o conhecido “limite de Hayflick”,^{53,150,151} quando as células param de se dividir e uma cascata de eventos é desencadeada induzindo a senescência celular,⁵³ apoptose,¹⁵² envelhecimento do organismo com maiores riscos de desenvolver doenças precoces^{54,56-58} e de morte.⁵⁵ Diante disso, o comprimento dos telômeros é frequentemente utilizado como um marcador indireto do envelhecimento biológico.⁸³

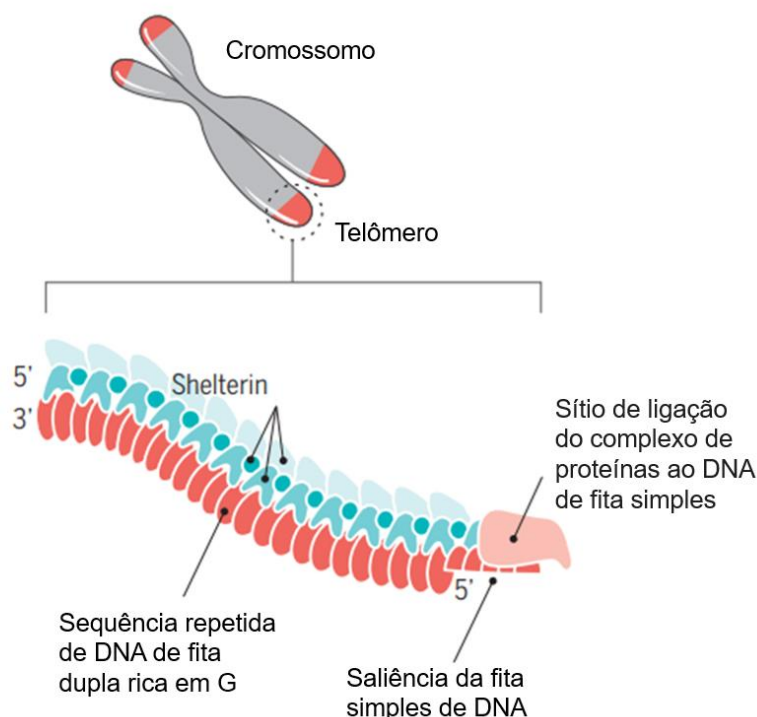


Figura 1. Estrutura do Telômero. Figura adaptada de Blackburn et al., 2015.¹³¹

Em conjunto, a expressão e interação das proteínas do *shelterin* tem a função de proteger o material genético dos danos advindos do organismo, desempenhando um papel fundamental na estabilidade genômica.⁴⁰ Dentre as seis proteínas do complexo de ligação ao DNA telomérico, a protetora dos telômeros 1 (POT1), a homóloga da proteína da displasia adrenocortical (TPP1) e a proteína repressora-ativadora 1 (RAP1) participam da conexão estrutural.³⁷ O fator de ligação de repetição telomérica 1 e 2 (TRF1 e TRF2, respectivamente) e proteína nuclear 2 (TIN2) impedem o acesso dos danos oxidativos às extremidades do telômero, evitando degradação, fusão ou recombinação inapropriada dos cromossomos (Figura 2).^{38,39}

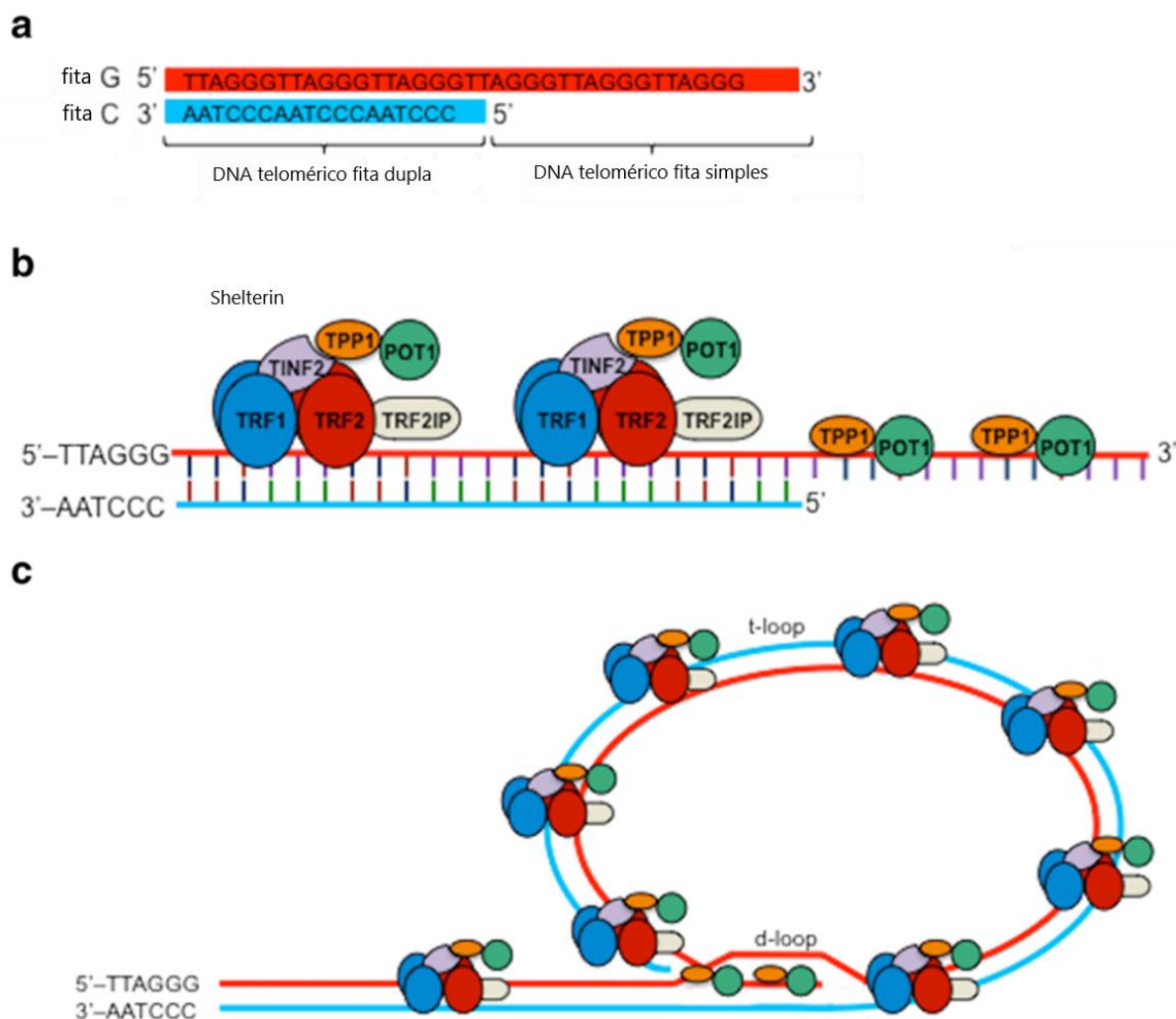


Figura 2. Estrutura do *Shelterin*. Figura adaptada de Denham et al., 2016.¹⁰⁴ O esquema mostra (a) fita de DNA telomérico rico em guanina (G) e a fita complementar retardada; (b) complexo de proteínas que compõe o *shelterin* e protege o DNA; (c) *T-loop* formado pelo emparelhamento das bases e interação entre as proteínas do complexo.

A perda progressiva dos telômeros pode ser contida, em partes, pela ação da telomerase.⁵⁶ A telomerase é uma enzima transcriptase reversa (TERT) capaz de sintetizar DNA telomérico a partir do molde de RNA contido em sua estrutura (TERC). A telomerase reconhece a ponta de uma fita rica em guanina (G) da sequência de repetição de DNA telomérico e adiciona pares de base às extremidades dos cromossomos, alongando o telômero na direção 5' – 3',¹³⁰ assim neutralizando o desgaste dos telômeros.⁵⁰ No entanto, a ação da telomerase é frequentemente limitada em células humanas.¹³¹ Na maioria das células somáticas adultas, a atividade da telomerase é ausente ou muito baixa. Apenas as células embrionárias e as células-tronco expressam telomerase suficiente para manter o comprimento dos telômeros em um estado funcional por tempo infinito.¹³² Paradoxalmente, os telômeros criticamente reduzidos são considerados um mecanismo importante supressor de tumor, uma vez que restringem a capacidade replicativa das células tumorais, desencadeando a parada do ciclo celular.³⁹

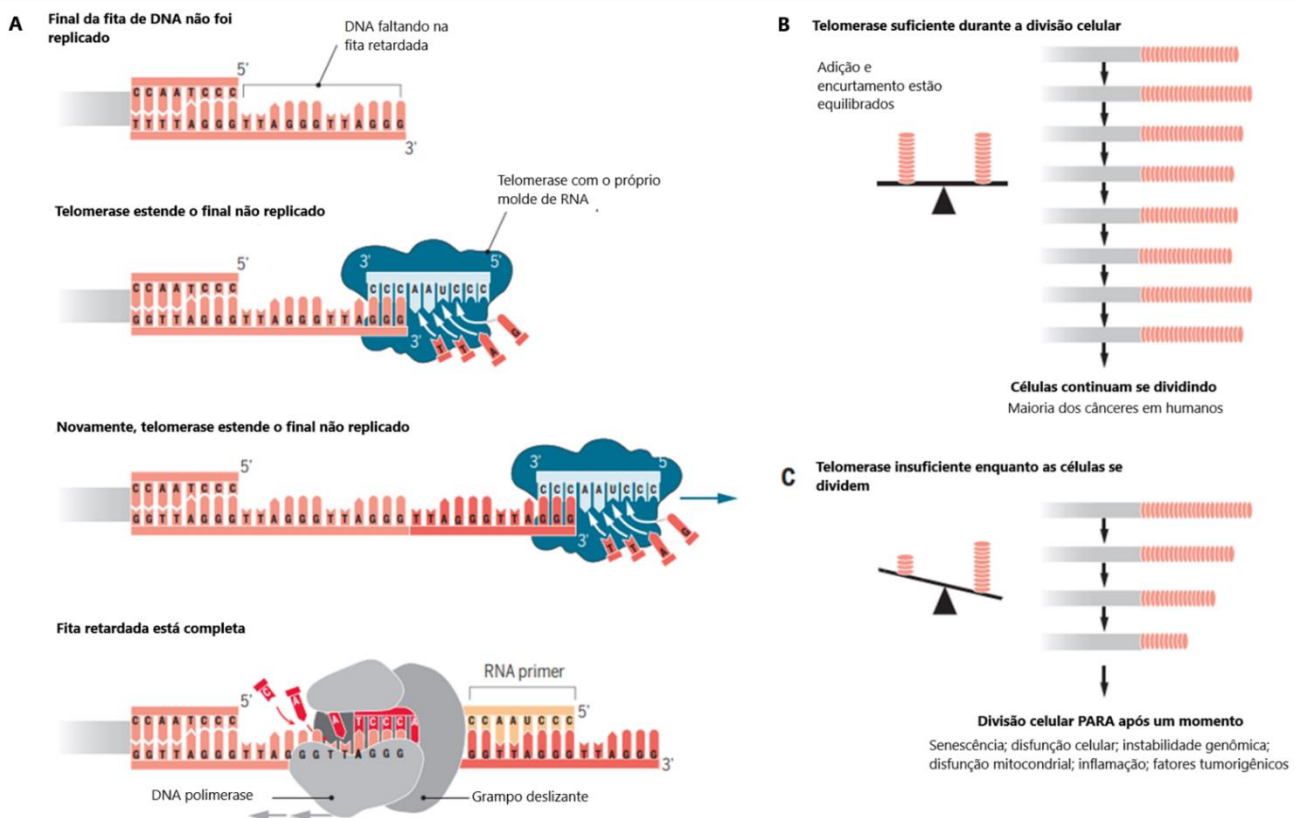


Figura 3. Replicação e encurtamento do DNA telomérico. Figura adaptada de Blackburn et al., 2015.¹³¹ Panoramas: (A) Problema da replicação final e alongamento da fita do DNA pela enzima telomerase; (B) Conforme as células se dividem, há perda dos telômeros, mas quando há telomerase suficiente, não há encurtamento significativo; (C) O encurtamento dos telômeros ocorre quando a telomerase é insuficiente. A divisão para com telômeros criticamente curtos que desencadeiam senescência celular e outros.

A taxa de atrito é altamente variável entre os indivíduos,⁴⁷ sendo maior no início da vida com o desenvolvimento de tecidos,⁴⁸ e progressivamente reduzida com o avanço da idade.¹³¹ A regulação do comprimento dos telômeros é extremamente complexa e moldada por vários fatores, incluindo eventos genéticos, epigenéticos e ambientais (i.e. dieta e atividade física).¹²⁹ A interação com fatores ambientais como tabagismo, consumo excessivo de álcool, estresse psicológico e outras doenças do espectro mental, status socioeconômico, nutrição e nível de atividade física são fatores que interferem na taxa de atrito dos telômeros.^{42, 43} Um exemplo desta interação foi um estudo realizado Marti e colegas que encontraram um aumento significativo no CT de mulheres que ingressaram em um programa intensivo de mudança no estilo de vida com intervenção de alimentação e exercício físico por 3 anos. Curiosamente, a adoção de um estilo de vida mais saudável reduziu em 83% o risco de encurtar o telômero.¹⁷⁸

Importantes vias bioquímicas e genéticas são afetadas e desencadeiam processos moleculares contribuintes no fenótipo do envelhecimento.¹⁴⁵ Do ponto de vista biológico, o comprimento dos telômeros é reconhecido como um marcador do envelhecimento devido a sua correlação com a longevidade.³⁵ O comprimento do telômero funciona como um relógio biológico uma vez que diminui com a idade.^{41,42} O atrito dos telômeros está associado a várias desordens sistêmicas^{129,164}, incluindo instabilidade do genoma, alterações epigenéticas e disfunção mitocondrial.⁴ O menor comprimento do telômero foi anteriormente associado ao aumento da mortalidade cardiovascular^{58,73,165} e por todas as causas.^{55,165} Especificamente, idosos apresentam maior taxa de mortalidade quando comparados aos seus pares com telômeros mais longos.⁴³⁻⁴⁵ Além disso, um estudo incluindo 4.053 chineses acima de 50 anos mediu o CT ao longo de 7 anos e os resultados demonstraram uma redução significativa no CT com a idade, tanto transversal quanto longitudinalmente. É interessante mencionar que o declínio longitudinal individual foi muito maior do que quando comparado ao declínio transversal entre indivíduos, reforçando a significância do dado, mesmo com a presença da variação biológica inerente a este tipo de análise.³¹⁶

Embora a replicação celular seja um mediador natural do atrito dos telômeros,³¹⁶ outros fatores podem afetar negativamente seu comprimento.⁴⁷ A exposição crônica a estresses internos como a inflamação, o estresse metabólico e oxidativo, podem provocar danos às células do organismo, levando a alterações funcionais que podem influenciar a

saúde, longevidade e a dinâmica dos telômeros.¹⁴⁵ Inclusive, a influência dos estressores externos/ambientais no comprimento dos telômeros é apoiada pelas alterações redox e interferências de sinalização associadas que comprometem a homeostase do organismo.³⁰² Devido ao alto conteúdo de guanina (G) presente na sequência do DNA telomérico, este parece ser particularmente mais vulnerável aos danos oxidativos.^{47,317} Outro fator que contribui para aumentar a suscetibilidade do telômero ao dano é que, se por um lado o *shelterin* é importante para proteção do DNA, por outro impede que seja realizado o recrutamento adequado das proteínas de resposta a danos do DNA (DDR).³⁰² Por fim, a 8-oxoguanina glicosilase (OGG1), enzima primária responsável pela excisão de 8-oxoG (produto do dano oxidativo do DNA), não pode atuar quando o dano está presente na fita simples do DNA ou em uma estrutura G-quadruplex dobrada, como no caso do DNA do telômero, dificultando o processo de reparo do DNA.³¹⁸

A inflamação crônica e o estresse oxidativo são indicados como os principais mecanismos envolvidos no encurtamento dos telômeros.^{41,59,60,305} A inflamação crônica de baixo grau presente na obesidade¹⁶ e no envelhecimento (“*inflammaging*”),^{11,253} estimula a produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias. Neste contexto, a infiltração dos macrófagos no tecido adiposo e na musculatura esquelética, provoca lipotoxicidade local e, conseqüentemente, acentua o estresse oxidativo.^{79,149,166,167} Enquanto isso, o estresse oxidativo está relacionado não apenas à disfunção mitocondrial nas fibras musculares,⁷⁶ mas também ao *inflammaging*.²⁵³ Além disso, o acúmulo de danos oxidativos termina em alterações microcelulares (i.e., modificações de bases, quebras de fita simples do DNA, maior atrito dos telômeros, alterações redox) contribuindo para o envelhecimento celular e tecidual.^{66,67,145} Além do risco de desenvolver doenças crônicas,¹⁷⁻¹⁹ o estresse oxidativo está associado ao encurtamento dos telômeros.¹³⁹ Conforme demonstrado em uma recente revisão, seis em cada oito estudos populacionais relataram marcadores de estresse oxidativo correlacionados com comprimento mais curto dos telômeros de leucócitos.¹⁴⁸

O estado de estresse oxidativo parece influenciar também as doenças crônicas que são acompanhadas por perda muscular.⁸⁴ Por exemplo, na sarcopenia, existe uma base patogênica (i.e., exposição crônica ao estresse oxidativo e a inflamação) comum entre comprimento dos telômeros de leucócitos e atrofia muscular.⁷⁶ Embora os estudos observacionais sejam inconsistentes no que diz respeito a relação entre o comprimento

dos telômeros e a sarcopenia,^{80,115,171,310} Lorenzi e colaboradores demonstraram que indivíduos com sarcopenia apresentam telômeros de células sanguíneas periféricas mononucleares significativamente mais curtos quando comparados aos não sarcopênicos, mas não apresentou associação entre CT e medidas de desempenho muscular, sugerindo que a relação encontrada entre CT e sarcopenia seja advindo da redução da massa muscular.⁸⁰ Em contrapartida, outra revisão sistemática mais recente encontrou associação positiva entre CT e índices de saúde muscular, como força de preensão, velocidade da marcha e tamanho muscular em 5 de 9 estudos incluídos, realizados em adultos de meia-idade e idosos.³¹¹

Apesar de ainda controversa a relação entre parâmetros de funcionalidade e telômeros, parece existir uma relação entre o CT e a massa e força muscular. Como demonstrou um estudo em idosos, a força muscular de membros inferiores foi positivamente associada a comprimento de telômeros mais longos, independentemente da idade, nível de atividade física e outros fatores de confusão.⁸¹ Além disso, outro trabalho avaliou a relação de CT com massa magra apendicular (MMA) ajustada pelo IMC, conforme proposto recentemente,¹¹⁷ e verificou uma fraca associação entre CT mais curto e baixa MMA em homens, e entre massa magra de membros inferiores de homens e mulheres, indicando que a manutenção da massa muscular é necessário para manter qualidade de vida em idade avançada e que o menor comprimento do telômero de leucócitos pode ser um fator de risco para baixa massa magra.³¹⁵

Na obesidade, há uma relação bem estabelecida na literatura entre indicadores da síndrome e telômeros.^{61,62,66-75} Parâmetros como índice de massa corporal (IMC), relação cintura quadril (RCQ), percentual de gordura corporal e outros, foram frequentemente correlacionados negativamente aos telômeros.^{62, 133-137} Em um estudo com mais de 45.000 mulheres e homens, o comprimento dos telômeros (CT) diminuiu em sete pares de bases por unidade de aumento no IMC.¹³⁶ Em outro trabalho com cerca de 2.700 idosos, após sete anos de acompanhamento, o CT de leucócitos foi relacionado positivamente a uma redução no IMC e no percentual de gordura corporal.⁷⁰ Apesar de fraca a moderada, Mundstock e colegas evidenciaram em sua revisão sistemática uma correlação negativa presente entre a obesidade e o comprimento dos telômeros.⁶⁷ Logo, vale ressaltar o potencial efeito no manejo da composição corporal, visto que intervenções de perda de peso já foram associadas a uma menor taxa de atrito dos telômeros.^{138,139}

Uma vez que o comprimento telomérico é afetado por múltiplos fatores (i.e. genética, obesidade, fatores nutricionais, comportamento sedentário, exercício físico)⁴¹ é plausível prever que alterações no estilo de vida possam levar ao envelhecimento saudável e a longevidade.⁸⁰

2.2 Envelhecimento, Inflamação e Estresse Oxidativo

O envelhecimento é um processo degenerativo natural complexo marcado pelo acometimento multissistêmico nos níveis molecular, celular e fisiológico, incluindo a instabilidade genômica, o desgaste dos telômeros, alterações epigenéticas, perda de proteostase, detecção desregulada de nutrientes, disfunção mitocondrial, senescência celular, exaustão de células-tronco e comunicação intracelular alterada.⁴ A perda progressiva de tecidos e funções orgânicas compromete a homeostase do organismo e contribui para o desenvolvimento de doenças e/ou agravamento das condições já existentes.^{3,4} A teoria dos radicais livres do envelhecimento postulada por Harman¹²⁸ sustenta a ideia de que o acúmulo de danos celulares nas mitocôndrias, proteínas, lipídios e DNA induzidos por ERO explica as disfunções do organismo.^{145,198} Para além das alterações fisiológicas, o estilo de vida pode prejudicar ainda mais a saúde neste período.⁵⁻⁷ Geralmente, os níveis reduzidos de atividade física, bem como alterações nutricionais (e.g. menor ingestão de energia, menor consumo de proteínas, preferência por alimentos palatáveis ricos em açúcares e gorduras),^{8,27} juntamente com a influência hormonal^{29,91} e respostas anabólicas deficientes^{5,163}, levam a diminuição da taxa metabólica de repouso,⁹ acarretando em modificações relevantes na composição corporal, principalmente na massa magra¹⁰ (massa muscular e óssea) e na gordura corporal.^{10,11}

O excesso calórico em conjunto com a baixa atividade física contribui para as alterações da composição corporal no envelhecimento.^{20,21,30} Os efeitos do acúmulo de gordura (especialmente visceral), associados a redução da massa magra decorrente da idade, podem ser subestimados se não considerarmos a redistribuição e infiltração dos lipídios no músculo esquelético.^{9,20} Um estudo que acompanhou por 5 anos 1.800 idosos entre 70 e 79 anos, verificou um aumento do tecido adiposo intermuscular (TAIM) independente da redução da gordura total (tecido adiposo visceral) e da massa magra (músculo da coxa).²¹ Esta gordura ectópica está associada ao constante balanço energético

positivo típico da obesidade,⁸ levando a uma desregulação do fluxo de ácidos graxos, resultando em níveis tóxicos dessas substâncias no músculo esquelético, fenômeno conhecido como lipotoxicidade,^{22,79} que se associa diretamente à resistência à insulina (RI) e à inflamação crônica.^{23,24} Tais respostas metabólicas ocasionam complicações músculo-esqueléticas da obesidade, como atrofia e disfunção muscular,^{64,141,242,256} perda de força, mobilidade^{14,20,25} e funcionalidade reduzida.^{26,27}

O excesso de ácidos graxos livres (AGL) culmina em maior produção de ERO devido a β -oxidação induzida pela alta disponibilidade de AGL.⁷⁹ A hiperlipidemia crônica bem como a hiperglicemia provocam alta produção de ERO e levam a lipotoxicidade e glicotoxicidade celular, resultando em inflamação sistêmica de baixo grau e estresse oxidativo.⁹⁰ Apesar da etiologia e causa do *inflammaging* permanecerem desconhecidas, as fontes podem ser diversas: macromoléculas e células danificadas que se acumulam devido ao aumento da produção e/ou eliminação inadequada; remodelação e desregulação relacionadas à idade no sistema imunológico (i.e., imunossenescência); disfunção mitocondrial e senescência celular.³¹⁴ Curiosamente, o acúmulo das células senescentes ocorre especialmente no tecido adiposo de indivíduos obesos, particularmente na gordura visceral.^{11,74,85} No tecido adiposo obeso, o aumento no número (hiperplasia) e no tamanho dos adipócitos (hipertrofia) resulta na infiltração de macrófagos pró-inflamatórios, que estimulam a produção e secreção de citocinas inflamatórias.¹⁶ Por isso, a obesidade também é uma importante fonte de inflamação que pode afetar a homeostase das células saudáveis e prejudicar sua função.⁹⁰

Além disso, o envelhecimento está intimamente associado ao comprometimento das mitocôndrias. A disfunção mitocondrial é causada por mutações, deleções e danos ao DNA mitocondrial^{78,272} e está relacionada à diversas doenças do envelhecimento (síndrome metabólica, DCVs, doenças neurodegenerativas e câncer), incluindo sarcopenia e obesidade.²⁴⁶ Além de ativar vias de inflamação,³¹⁴ as mitocôndrias quando danificadas aumentam consideravelmente a produção de ERO.³¹² Inclusive, a capacidade prejudicada das células musculares em remover as mitocôndrias disfuncionais também pode contribuir para o aumento da produção de ERO.²⁴¹ As ERO são produzidas principalmente pelas mitocôndrias, na cadeia de transporte de elétrons,³¹³ e a partir de outros estímulos, como citocinas inflamatórias.²⁴⁰ Os músculos também são geradores de ERO devido ao alto consumo de oxigênio. A redução no conteúdo e função mitocondrial

relacionado à idade resulta em um declínio acentuado na capacidade oxidativa/aeróbia das fibras musculares,^{76,195} e reduzem a eficiência na produção de energia, prejudicando o fornecimento adequado de ATP, ao mesmo tempo que aumenta a liberação de ERO.^{241,242,313} Tais níveis aumentados causam danos progressivos ao DNA mitocondrial, criando assim um ciclo vicioso.^{78,272}

Múltiplos fatores intrínsecos estão envolvidos nas alterações de composição corporal,^{21,27,30} dentre eles o estresse oxidativo^{76,221}, a inflamação crônica,²⁵³ o desequilíbrio entre síntese e degradação de proteínas,⁷⁶ a resistência anabólica¹⁶³ e danos oxidativos. A obesidade e a sarcopenia, tem efeitos moleculares que provocam e/ou que são consequências destas mudanças. Um exemplo disso é o indicativo de que a massa muscular reduzida resulta em menor gasto energético total e leva ao desenvolvimento da obesidade visceral. Por outro lado, o acúmulo da gordura visceral e a infiltração de macrófagos no tecido adiposo induz a inflamação crônica e resulta no desequilíbrio das adipocinas,²⁴⁴ cujo impacto no músculo se dá por meio de efeitos catabólicos. Esta interação se retroalimenta continuamente dificultando a distinção de qual delas seria a causa primária dos impactos.⁸⁵

O estresse oxidativo é caracterizado por uma superprodução de ERO que excede os sistemas de defesa do organismo^{64,147} e está substancialmente relacionado ao envelhecimento.¹⁴⁵ O estresse oxidativo é frequentemente proposto como causa direta devido ao acúmulo dos múltiplos danos oxidativos causados aos componentes celulares (proteínas, lipídios e DNA)⁶³ e à perda do equilíbrio redox.²²⁰ Nos idosos, o equilíbrio redox é de extrema importância uma vez que, em concentrações fisiológicas, as ERO participam como mensageiras na regulação de diversas vias de sinalização intracelular, como por exemplo a via de sinalização da insulina/fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1).^{145,239} O estresse oxidativo também pode ser compreendido como uma sinalização aos tecidos, cuja indução das vias de reparo tenta restaurar a homeostase de um sistema desafiado.¹⁹² As adaptações ao estresse oxidativo incluem aumento do fluxo sanguíneo e das defesas antioxidantes, buscando retomar o estresse a níveis fisiológicos evitando assim o acúmulo dos danos oxidativos, e indução de inflamação.^{90,313} Com a idade, a produção de oxidantes é aumentada advinda de fontes variadas e as enzimas e a capacidade antioxidante é atenuada.^{78,90} A partir disso, o estresse oxidativo pode comprometer as sinalizações celulares e acelerar o envelhecimento.²³⁹

O acúmulo lipídios intramiocelulares (IMCLs) e seus metabólitos interagem com peróxidos formadores de ERO, promovendo lipotoxicidade nas mitocôndrias,⁷⁹ contribuindo com a disfunção mitocondrial.^{84,85} Enquanto isso, os níveis aumentados de ERO também inibem a função mitocondrial, levando ao maior acúmulo de IMCLs, criando assim um ciclo vicioso de lipotoxicidade que também se relaciona com RI.^{85,166} Tanto a glicotoxicidade quanto a lipotoxicidade aumentam a suscetibilidade à RI, síndrome metabólica e sarcopenia, entre outras doenças.⁹⁰ Como a qualidade e a massa muscular são essenciais na captação de glicose, a sarcopenia frequentemente coexiste com a resistência à insulina do músculo esquelético.²⁴⁴ De fato, marcadores de estresse oxidativo circulantes estão presentes em sarcopênicos e também foram relacionados ao risco de doença cardiovascular na obesidade sarcopênica.⁸⁶

O avanço da idade *per se* resulta em desregulação da proteostase (homeostase do metabolismo de proteínas), originando o acúmulo de proteínas mal dobradas e agregadas.⁹⁰ As alterações na qualidade do músculo diminuem a eficiência na contração da fibra, reduzindo força e potência muscular nos idosos.⁷⁷⁻⁷⁹ Além disso, a detecção desregulada de nutrientes presente no envelhecimento⁹⁰ implica na redução da sensibilidade à insulina. A insulina é fundamental para a contração muscular e regulação da glicose, permitindo sua captação e utilização como fonte de energia intracelular para produção de adenosina trifosfato (ATP). Ainda, a insulina é o principal hormônio regulador da síntese de proteína. Logo, sua sinalização prejudicada resulta em contração mais fraca e atrofia de fibras musculares.²⁵⁸ Além disso, em conjunto com a desregulação de IGF-1, a RI inibe a síntese de proteínas.⁷⁸ Tanto a RI quanto a disfunção mitocondrial decorrente da idade, influenciam a perda de massa muscular.¹⁶⁹

A presença da obesidade reforça o desenvolvimento de RI uma vez que o mau funcionamento da insulina parece ser advindo do acúmulo de lipídios intracelulares e da dificuldade em oxidar ácidos graxos mitocondriais,³⁰⁶ com seus metabólitos acumulados desregulando a via de sinalização da insulina.^{76,79} Assim, a infiltração lipídica no músculo esquelético presente na obesidade é capaz de induzir a RI, independentemente da gordura visceral. No entanto, a obesidade visceral é responsável pela liberação de AGLs no plasma, os quais inibem a síntese de proteína muscular e favorecem RI no músculo (Figura 4).^{169,260} Logo, o estado inflamatório da obesidade compromete a síntese proteica através da produção de citocinas pró-inflamatórias intramusculares,^{195,260} além de reduzir

a sensibilidade à insulina¹⁶⁶ e deixar sua ação menos eficiente.^{169,260} Realmente, altos níveis dos marcadores inflamatórios interleucina-6 (IL-6), proteína C-reativa (PC-R) e fator de necrose tumoral alfa (TNF α) foram anteriormente associados ao aumento da massa gorda e a baixa massa e força muscular em idosos.^{82,97,307} Assim, podemos dizer que a inflamação é diretamente responsável por alterações negativas do metabolismo proteico ou até mesmo através de um envolvimento da RI, resultando em prejuízo na ação anabólica da insulina e consequente perda de massa muscular e funções musculares.^{85,166,260}

Da mesma forma, o estresse oxidativo no envelhecimento prejudica a sinalização e ação da insulina,⁷⁹ e interfere diretamente na proteostase, comprometendo a qualidade muscular e reforçando ainda mais a sarcopenia.¹⁶⁶ O aumento das ERO no músculo foi associado à RI, ao desenvolvimento de DM2 e ao mau funcionamento muscular em obesos.³¹³ Além disso, os danos ao DNA mitocondrial ocasionados pelo estresse oxidativo resultam em apoptose dos miócitos contribuindo para o declínio do volume muscular.²⁴⁴ A produção excessiva das ERO ativa o sistema ubiquitina-proteassoma levando à maior degradação de proteínas.¹²⁰ A perda muscular, por outro lado, reduz a qualidade dos tecidos-alvo responsivos à insulina,¹⁷⁰ levando a hiperinsulinemia, hiperglicemia, maiores níveis de toxicidade e à inflamação crônica.^{142,146,170} De fato, a produção elevada de ERO nas mitocôndrias do músculo esquelético de idosos induz a modificações pós-translacionais que comprometem a função da proteína muscular.³⁰⁸ Desta forma, o desequilíbrio redox no envelhecimento está intimamente ligado à perda muscular e à redução da funcionalidade.²⁴³

A disfunção mitocondrial resulta em menor produção de ATP e maior produção de ERO, exacerbando a perda muscular.⁸⁶ Se a disfunção mitocondrial no músculo esquelético causa a RI ou, em vez disso, surge como consequência dela ainda precisa ser melhor esclarecido.⁸⁵ No entanto, fica evidente que a interação entre esses mecanismos leva a menor capacidade oxidativa e prejudica a qualidade e funcionamento do músculo, além de contribuir para distúrbios no metabolismo de proteínas¹⁶⁹ e amplificar os efeitos negativos no desenvolvimento e progressão da sarcopenia relacionada à idade.³⁰⁹

Apesar da capacidade antioxidante reduzida ao longo do envelhecimento,²⁶⁸ o dano oxidativo é normalmente prevenido por defesas antioxidantes enzimáticas (i.e.,

superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não enzimáticas^{64,147} A proteção contra ERO normalmente ocorre por reações enzimáticas envolvendo superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), glutathione peroxidases (GPx) e reações não enzimáticas com antioxidantes endógenos (i.e., sistema glutathione (GSH)).^{145,221} No entanto, considerando a imunosenescência presente no envelhecimento, as defesas do organismo são reduzidas e incapazes de reparar os danos, desencadeando senescência celular (mecanismo fisiológico que interrompe a proliferação celular em resposta a danos que ocorrem durante a replicação) e o acúmulo das células senescentes termina aumentando a suscetibilidade a doenças e morte.^{173,305,221} Curiosamente, é mais eficiente para atenuar os efeitos do envelhecimento induzir os sistemas antioxidantes endógenos do que adicionar antioxidantes a um sistema comprometido sem enzimas capazes de utilizá-los.³¹³

Assim, o estresse oxidativo aparece como mecanismo central na patogênese do envelhecimento²⁵³ e de outros distúrbios metabólicos induzidos pelo declínio da massa muscular (Figura 4) e pelo acúmulo de gordura visceral (Figura 5).²⁴⁴ Os idosos com obesidade sarcopênica estão em um estado altamente inflamatório. A lipotoxicidade e disfunção mitocondrial decorrentes tanto do envelhecimento quanto da obesidade promovem o desenvolvimento da resistência à insulina^{170,254} e perda muscular em pessoas obesas.²⁵⁵ Logo, é possível entender o papel e a relação entre a disfunção mitocondrial, resistência à insulina, a inflamação crônica e o estresse oxidativo no envelhecimento e os efeitos deletérios desta interação no metabolismo da glicose e, principalmente, das proteínas, os quais prejudicam a massa muscular, a assim, repercutem o desenvolvimento e/ou agravamento das condições sarcopenia e obesidade.

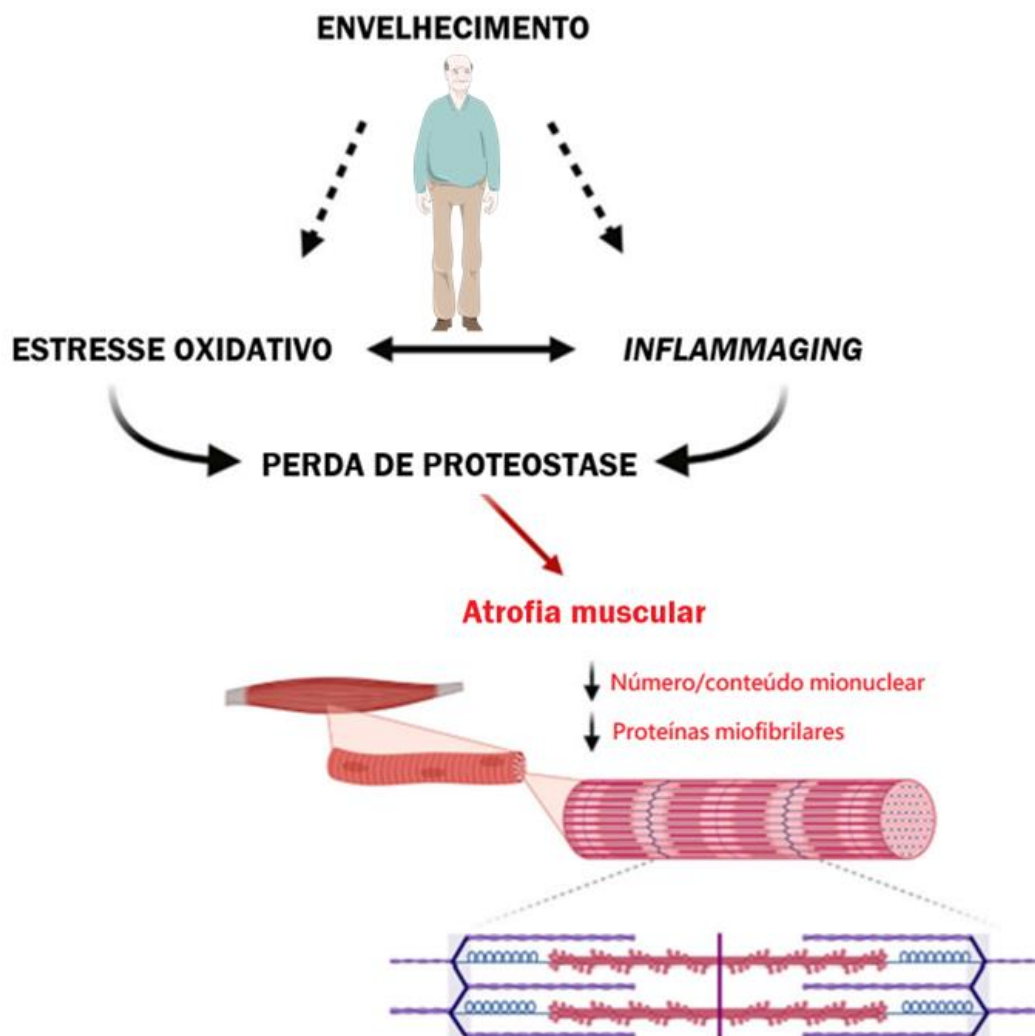


Figura 4. Mecanismos do envelhecimento e a relação com atrofia muscular. Adaptado de Kositsawat et al., 2021³¹⁹ O envelhecimento está relacionado a níveis aumentados de estresse oxidativo, *inflammaging* e comprometimento do metabolismo de proteínas.

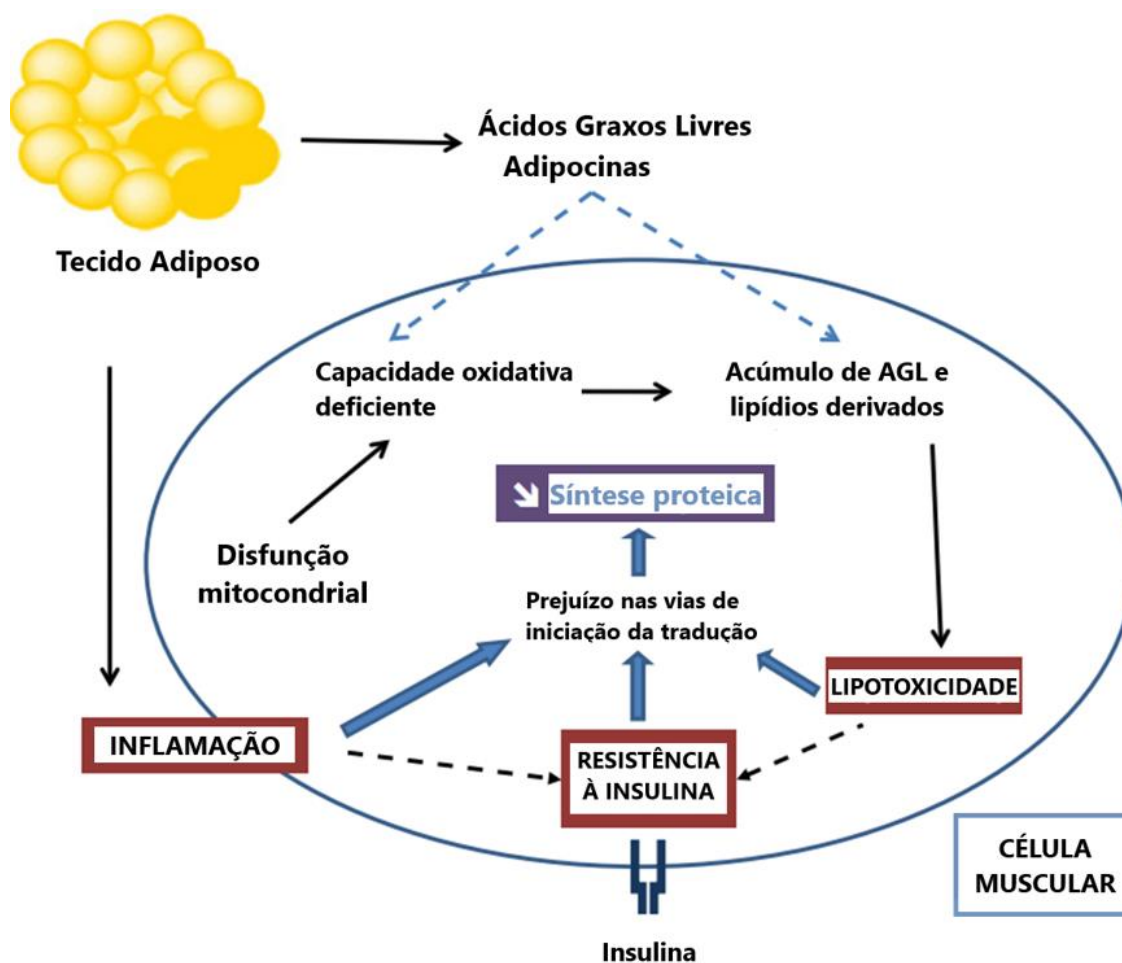


Figura 5. Mecanismos da obesidade e influência do tecido adiposo na célula muscular. Adaptado de Guillet et al., 2012.²⁶⁰ Os ácidos graxos livres (AGL) advindos do tecido adiposo se infiltram no músculo esquelético e as citocinas pró-inflamatórias geram inflamação, contribuindo para resistência à insulina e lipotoxicidade, interferindo negativamente no metabolismo das proteínas.

2.3 Obesidade Sarcopênica

A obesidade sarcopênica (OS) combina o excesso de tecido adiposo com a redução e disfunção muscular relacionada a idade, coexistindo sarcopenia e obesidade,^{28,29} estabelecendo uma relação complexa entre si. Enquanto a sarcopenia ocorre com o envelhecimento e é frequentemente acompanhada por um acúmulo de gordura, a obesidade pode causar sarcopenia de forma independente, uma vez que fatores adjacentes da obesidade podem afetar negativamente a sarcopenia.³⁴ A sarcopenia é ainda mais comum entre os idosos com doenças metabólicas (e.g. diabetes mellitus), indicando uma relação bidirecional entre as duas condições (obesidade e sarcopenia).^{142, 143} Quando presentes simultaneamente, a sarcopenia e a obesidade resultam em maiores prejuízos na

qualidade de vida do que quando comparado a presença de uma delas isoladamente.^{15,30,31} Trata-se de uma condição multifatorial, que engloba o estilo de vida sedentário, hábitos alimentares pouco saudáveis e é associado à RI, a inflamação sistêmica e estresse oxidativo.¹⁴⁹ Embora os critérios exatos para o prognóstico da obesidade sarcopênica ainda não sejam consensuais, sua relevância para a saúde populacional é inegável visto que, além de afetar a funcionalidade do idoso, potencializa o risco de desenvolvimento da síndrome metabólica, DCVs e mortalidade.^{28,29,32-34}

A inflamação crônica de baixo grau presente na obesidade sarcopênica é causada principalmente pela presença das adipocinas e seus metabólitos no tecido adiposo visceral, intermuscular e intramuscular, as quais atraem células imunes pró-inflamatórias, proporcionando um ambiente altamente inflamatório.^{20,23,24} Este mecanismo está diretamente associado à inflamação crônica^{26,27} e resulta em complicações como lipotoxicidade, deposição de gordura, desregulação do fluxo de ácidos graxos, padrão alterado de expressão de adipocinas.^{8,22} A IL-6 e a proteína C-reativa (PC-R) são importantes marcadores inflamatórios e seus níveis aumentados estão relacionados ao envelhecimento^{256,320} e já foram anteriormente associados à inflamação crônica.^{82,322,323}

Como demonstra o estudo realizado incluindo 130 mulheres com mais de 60 anos, pós menopausa, todos os marcadores inflamatórios mensurados (IL-6, TNF α e PC-R) foram aumentados nas mulheres com obesidade sarcopênica do que quando comparadas aos seus pares com ausência desta síndrome,³²⁰ mas somente a IL-6 atingiu significância estatística. Além disso, assim como a IL-6, a PC-R foi significativamente correlacionada ($P < 0,01$) com IMC, massa gorda e CC, considerados fenótipos relacionados à OS.³²⁰ De fato, os marcadores inflamatórios aumentam com o avanço da idade²⁵⁶ e foi sugerido que a inflamação relacionada pode estar envolvida na patogênese da obesidade sarcopênica.^{85,320} De fato, tanto o tecido adiposo intermuscular quanto os metabólitos lipídicos intramusculares podem causar prejuízo na oxidação dos ácidos graxos mitocondriais, aumento da lipólise e aumento do estresse oxidativo.³⁴ Esses eventos podem induzir disfunção mitocondrial,⁸⁵ promover lipotoxicidade, RI, resultando em diminuição da massa muscular.³⁴ As citocinas pró-inflamatórias parecem comprometer a ação anabólica do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF1) e induzir a diminuição da massa e função do músculo esquelético.³⁴ A insulina promove fundamentalmente a síntese proteica quando há disponibilidade de aminoácidos, assim a

RI no músculo esquelético contribui para a redução da massa muscular.^{144,169} Acredita-se que estes fatores em conjunto possam exacerbar a inflamação no músculo esquelético, desencadeando e apoiando o desenvolvimento de OS.⁸⁵

A perda progressiva de massa e força muscular esquelética é resultado esperado do processo de envelhecimento.^{12-15,142} A atrofia das fibras musculares do tipo II, o número reduzido de neurônio motores e mitocôndrias,^{140,141} e o referido acúmulo ectópico de gordura intramuscular caracterizam a sarcopenia.¹⁴¹ O metabolismo da proteína muscular é prejudicado nos idosos principalmente devido à resistência anabólica.¹⁶³ Ao contrário do que se imaginava, o declínio na massa muscular relacionado à idade não se deve a uma quebra aumentada de proteína muscular (MPB), mas a uma síntese prejudicada devido a uma resposta deficiente aos estímulos anabólicos (i.e., insulina, aminoácidos e exercício).^{163,327} Além disso, o papel da inflamação na regulação do metabolismo da proteína muscular tem ganhado cada vez mais destaque.²⁵⁶ Numerosos estudos transversais^{320,322} e longitudinais^{307,324} verificaram a relação entre massa muscular e inflamação. A título de exemplo, Yang e colaboradores compararam a resposta inflamatória entre 844 idosos sarcopênicos, obesos, obesos sarcopênicos e não sarcopênicos ou não obesos e observaram que, dentre os marcadores mensurados (IL-6, TNF α e PC-R), os níveis da PC-R foram maiores entre os indivíduos obesos e obesos sarcopênicos.³²⁵

Apesar das evidências, não está claro se o perfil inflamatório está mais relacionado à baixa massa magra ou ao excesso de massa gorda.³²⁶ No entanto, a IL-6 mais alta foi correlacionada a valores mais baixos de força muscular. Vale ressaltar que no estudo de Dutra e colegas, a massa livre de gordura relativa foi estatisticamente associada de forma positiva aos valores da PC-R, porém quando controlada pela variável de massa gorda, a correlação não se manteve, sugerindo uma possível maior influência da adiposidade.³²⁰ Esta ideia está em concordância com um trabalho anterior que demonstrou que a associação entre sarcopenia e inflamação é dependente dos índices de adiposidade.³²³ Apesar das correlações entre marcadores inflamatórios e índices de adiposidade na OS, a associação entre força muscular e OS ainda não foi totalmente elucidada. Porém, a combinação de maior massa gorda e baixa massa muscular parece determinar um risco aumentado para o aparecimento de inflamação de baixo grau do que cada condição isoladamente.³²⁰

A obesidade e a sarcopenia compartilham características de sua fisiopatologia, dentre estas, a RI, inflamação, alterações hormonais decorrentes da idade (declínio do hormônio do crescimento, testosterona e estrogênio), falta de atividade física e estresse oxidativo.³²⁸ O estresse oxidativo é um fator crítico de interligação entre as síndromes.³²⁹ Na sarcopenia, a disfunção mitocondrial ocorre devido aos danos oxidativos ao DNA⁶³ e, ao mesmo tempo, os mecanismos de reparo do DNA estão comprometidos devido ao excesso de ERO.²⁴¹ Além disso, a remoção das mitocôndrias disfuncionais é inadequada, perpetuando o estresse oxidativo.⁶⁴ Consequentemente, há uma diminuição na quantidade e qualidade mitocondrial, prejudicando a produção de ATP, ativando vias apoptóticas e induzindo a perda de fibras musculares.^{64,76} Na obesidade, também ocorre inibição da função mitocondrial devido ao estresse oxidativo, acarretando em prejuízo a sinalização da insulina, induzindo ao catabolismo muscular, levando ao desenvolvimento/reforço da IR e ampliando a inflamação.¹⁷⁰

Assim, o estresse oxidativo causa obesidade sarcopênica nos idosos por meio da disfunção mitocondrial, do estresse do retículo endoplasmático (RE) e do desequilíbrio no controle da massa muscular.^{328,329} O comprometimento de tecidos envolvidos no OS (principalmente, tecido adiposo e músculo esquelético), induz disfunção tecidual, incluindo disfunções mitocondriais e estresse do RE. Ainda, o desequilíbrio na via de controle da massa muscular e na função das células satélites afeta diretamente a massa muscular contribuindo para a perda.³²⁹ Além disso, a produção elevada das ERO nas mitocôndrias do músculo esquelético de idosos leva a produção de estresse oxidativo local e induz modificações pós-translacionais, que comprometem a função da proteína muscular.^{85,330}

Poucas são as evidências do efeito do estresse oxidativo na obesidade sarcopênica. No entanto, a relação entre o mecanismo e a síndrome da OS já foi apontada em um estudo em que marcadores de estresse oxidativo [GSH, glutatona oxidada (GSSG), malondialdeído plasmático (MDA) e 4-hidroxi 2-nonenal (4-HNE)] foram aumentados em indivíduos idosos com obesidade sarcopênica em comparação aos não sarcopênicos não obesos, sarcopênicos não obesos e não sarcopênicos obesos.⁸⁶

Uma vez que a obesidade sarcopênica compartilha dos mecanismos patológicos da inflamação crônica e do estresse oxidativo,^{82,85} é possível inferir que a condição exacerbe o atrito sob os telômeros.^{29,84,83} De fato, há evidência de marcadores circulantes

de estresse oxidativo aumentados em obesos sarcopênicos quando comparados a indivíduos com qualquer uma das condições isoladas.⁸⁶⁻⁸⁸ Além disso, a obesidade sarcopênica parece estar associada ao encurtamento dos telômeros e pode representar um fator de risco importante para o envelhecimento acelerado.⁸⁹ Assim, é fundamental o desenvolvimento de estratégias de tratamento da obesidade sarcopênica.⁹

Como a OS é uma síndrome multifatorial, o tratamento também deve abranger intervenções múltiplas.¹⁴⁹ Intervenções no estilo de vida parecem ser mais eficazes na melhoria na qualidade de vida e funcionalidade de idosos.^{9,102} Exercício físico e nutrição são essenciais para melhorar a qualidade miocelular e a resposta da MPS, preservando assim a massa muscular durante o envelhecimento.¹⁰² Além disso, preservar a massa muscular é uma estratégia eficaz para mitigar as complicações metabólicas e físicas relacionadas ao envelhecimento e à obesidade, com o objetivo final de manter a independência funcional e a qualidade de vida dos idosos com obesidade.²²⁷ Um trabalho demonstrou que mulheres idosas com obesidade treinadas exibem menor inflamação subcutânea, menor expressão de marcadores de estresse oxidativo, menor infiltração de macrófagos pró-inflamatórios em comparação com suas contrapartes sedentárias.³³¹ Além disso, os resultados de uma revisão sistemática com meta-análise recente indicaram que intervenções envolvendo controle calórico e exercícios adequados podem reduzir a gordura corporal.⁹² De maneira geral, as intervenções eficazes para reduzir gordura devem conter baixa caloria, gordura controlada e aumento da quantidade de exercício.¹⁵⁵

Não obstante, outras revisões destacaram o efeito do exercício físico na redução de gordura corporal, aumento de força muscular e melhora da funcionalidade.^{154,167,193} Embora o efeito na massa muscular seja inconsistente, o exercício combinado com intervenções nutricionais mostra um efeito significativo no seu aumento.¹⁶⁶ Assim, os efeitos combinados do exercício e intervenções nutricionais sobre a massa muscular e a força muscular requerem uma exploração adicional.

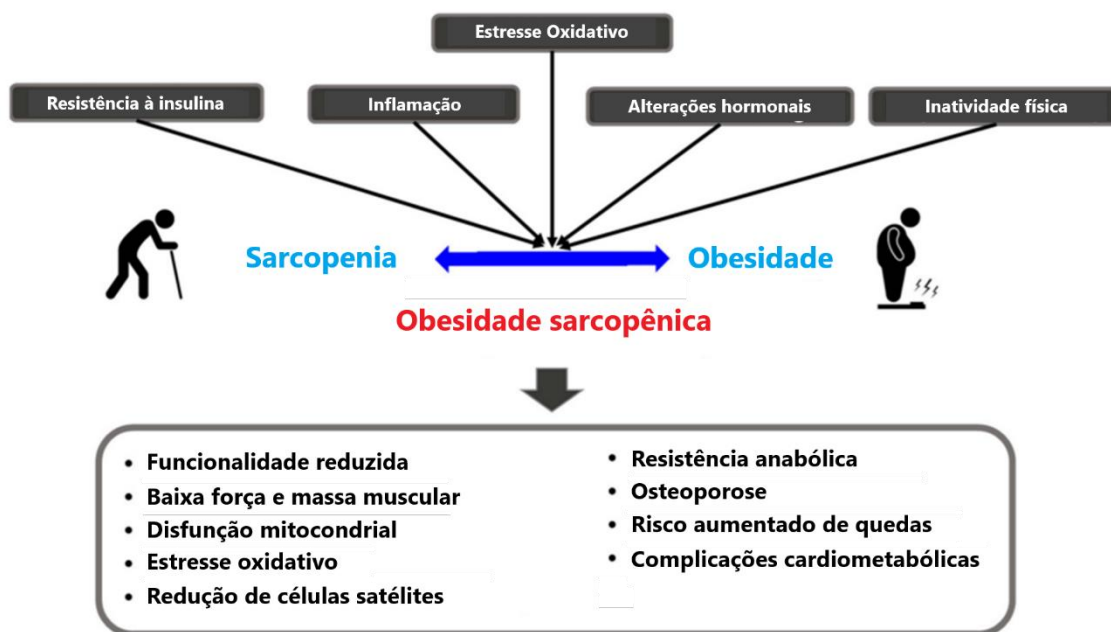


Figura 6. Patogênese e consequências da obesidade sarcopênica. Adaptado de Jung et al., 2023.³²⁸

2.4 Restrição calórica

A restrição calórica (RC) é uma das principais estratégias nutricionais propostas para perda de peso no tratamento da obesidade sarcopênica.^{90-94,168} A RC consiste em uma restrição energética sustentada em comparação ao consumo habitual, considerando a ingestão adequada de nutrientes (carboidratos, gorduras, proteína e micronutrientes).⁹⁰ No tratamento com RC, um déficit energético entre 200 a 700 quilocalorias (kcal) por dia, mostrou-se seguro e eficaz na perda de peso de idosos com obesidade e sarcopenia.⁹³

De fato, a literatura aponta resultados benéficos na perda de gordura corporal utilizando a estratégia de restrição calórica. A aplicação de um protocolo de 500 a 750 kcal de déficit energético por dia em relação à ingestão habitual mantendo 1g de proteína por quilo de peso corporal por 6 meses conferiu uma perda moderada de peso corporal, com cerca de 75% sendo tecido adiposo e aproximadamente 25% da perda sendo massa livre de gordura (MLG).²²⁶ Ainda, um ensaio clínico randomizado (ECR) de Boucherville e colaboradores avaliou a diferença entre a RC sozinha e/ou associada a um programa de exercício físico em idosos obesos frágeis durante um ano. Os resultados mostraram redução na perda de peso corporal para ambos os grupos, sem diferença estatística. Além da gordura visceral, os grupos apresentaram melhorias em outros parâmetros clínicos

como a sensibilidade à insulina e inflamação (TNF α , adiponectina), mas somente a presença do exercício físico manteve os benefícios após 6 meses.³³³

Um exemplo clássico dos efeitos da RC no envelhecimento é o CALERIE (*“Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy”*) que originou um ECR com objetivo de analisar dois anos de 25% restrição calórica nos marcadores de longevidade de 220 indivíduos saudáveis não obesos.³³⁴ A composição da dieta exigia apenas o consumo da quantidade mínima de micronutrientes e os participantes recebiam diariamente suplemento multivitamínico, mineral e cálcio para ajudar a garantir a ingestão adequada. A maioria dos participantes perderam massa gorda com a dieta quando comparados ao grupo controle (dieta ad libitum), porém houve perda de 4% de MLG.³³⁵ Em um estudo anterior do CALERIE, a RC proporcionou 10% da perda de peso corporal, reduzindo 27% da gordura visceral.^{218, 336} Apesar de a população estudada não possuir altos níveis de gordura ectópica, o conteúdo de gordura intramiocelular foi significativamente reduzido após 24 meses, além de melhorar a sensibilidade à insulina.³³⁷

Os efeitos da RC não se limitam a perda de peso corporal total e/ou a redução da adiposidade.²¹¹ A RC com aporte adequado de nutrientes essenciais é considerada padrão ouro para retardar o envelhecimento em diversas espécies.²¹² Em humanos, a RC provoca alterações moleculares e metabólicas que ajudam a prevenir diversas doenças relacionadas à idade, como a própria obesidade e DM2.^{168,213-215,218} Além de efeitos benéficos adjacente no estresse oxidativo⁸⁴, a RC aumenta a expectativa de vida e/ou reduz patologias e fatores de risco dependentes do envelhecimento.¹⁷³

Uma restrição energética de 10 até 30% da ingestão habitual é capaz de proporcionar benefícios na saúde e no envelhecimento.^{90,213} Na versão piloto com duração de 6 meses (CALERIE 1) foram observadas redução na fragmentação do DNA, sugerindo menor dano oxidativo²¹⁸ e o estudo de maior duração (12 e 24 meses) demonstrou de fato redução no biomarcador de estresse oxidativo (F2-isoprostano).^{215,338} Ainda, a RC parece melhorar o conteúdo de DNA mitocondrial e a expressão de genes codificadores de proteínas envolvidas na função mitocondrial, indicando maior eficiência energética.³³⁹ Por fim, efeitos anti-inflamatórios também foram encontrados como resultado da RC por meio da redução nos níveis séricos de TNF α e PC-R nos protocolos mais longos.^{340,341} Em conjunto, estes fatores dão indícios de que a RC tem influência no retardo do

envelhecimento em humanos. É importante ressaltar que a população dos estudos supracitados era jovem e saudável. Assim, cuidados são necessários ao interpretar e extrapolar os dados bem como há necessidade de reproduzir os achados na população idosa com obesidade sarcopênica.

Apesar dos resultados favoráveis induzidos pela RC na modulação de processos relacionados ao envelhecimento, até o momento pouco foi relatado sobre a associação direta desta estratégia com os telômeros. Alguns trabalhos investigaram sobre a ingestão de energia e o CT,^{133,185} mas apenas dois deles avaliaram a relação direta entre a RC e o CT em adultos mais jovens e apresentaram resultados inconsistentes.^{174,175} Enquanto um observou associação positiva entre RC e CT, o trabalho mais recente observou desgaste maior dos telômeros na fase da perda de peso, mas não na fase de manutenção.¹⁷⁵ Ademais, outro estudo com objetivo de comparar uma intervenção baseada em dieta mediterrânea com restrição energética e promoção de atividade física à um grupo controle (sem RC e sem aconselhamento para perda de peso), não demonstrou alterações no CT.³⁴⁵ Uma possível razão para os resultados inconsistentes na literatura pode ser a dificuldade em separar os efeitos da RC e da perda de peso relacionada à obesidade, uma vez que os telômeros parecem responder positivamente a intervenções de perda de peso induzida por dieta, exercícios ou cirurgia.^{103,139}

Sabe-se que dietas muito restritivas (cerca de 40% da energia) podem levar a graves prejuízos ao organismo, incluindo redução na massa magra (massa óssea e muscular).^{90,94-96} Não somente a ingestão de energia drasticamente reduzida, mas também a menor qualidade da dieta (variedade, perfil de macronutrientes e conteúdo de micronutrientes) aparenta ser igualmente prejudicial.³⁴² A recomendação para a população idosa ainda permanece em discussão devido aos efeitos deletérios induzidos pela RC na massa muscular e óssea.^{102,226} Conforme visto, a RC melhora a qualidade de vida e funcionalidade em idosos com obesidade mas está associada a perda de massa magra e ao aumento no risco de fraturas.³⁴³ Mesmo que a RC apresente adaptações moleculares eficazes no combate à sarcopenia, as reduções observadas na massa e força muscular de indivíduos mais velhos pode afetar adversamente a sarcopenia.⁹⁰ Portanto, estratégias complementares à RC a fim de atenuar os efeitos deletérios na força, massa muscular e funcionalidade são fundamentais para manter e/ou melhorar a saúde geral dos idosos com obesidade sarcopênica.

2.5 Treinamento físico

O exercício físico está entre as intervenções não farmacológicas mais recomendadas para o tratamento da obesidade sarcopênica.^{31,167,193} A literatura atual demonstra efeitos positivos na composição corporal, massa muscular, força, potência e desempenho físico a partir da prática de atividade física.³⁴⁵ Melhorias no percentual de gordura corporal, na massa muscular apendicular, bem como em parâmetros de funcionalidade (velocidade da marcha e força de preensão manual) já foram apresentados anteriormente.^{31,92,167,193} De maneira geral, o exercício físico para idosos traz adaptações relevantes na pressão arterial, na capacidade aeróbia e no metabolismo dos lipídeos e da glicose.³⁴⁵

Poucos trabalhos investigaram a modalidade de exercício ideal para os idosos com OS, mas melhorar a composição corporal parece ser um recurso terapêutico fundamental no tratamento.³⁴⁶ Se por um lado a RC é crucial para reduzir a gordura corporal,⁹⁰ por outro, o exercício físico é amplamente utilizado como contramedida a fim de minimizar os efeitos adversos da RC na massa magra.^{102,153,154} Curiosamente, o treino de força realizado durante 24 semanas com uma frequência de 3 vezes por semana, apesar de não reduzir a massa gorda, induziu um aumento significativo na massa livre de gordura em mulheres idosas com obesidade sarcopênica e melhorou o índice OS em relação ao grupo controle.^{347,348} Nesta mesma linha, Liao e colaboradores mostraram que três meses de exercício de força utilizando a resistência de elásticos foi capaz de melhorar a massa magra em mulheres idosas com OS.³⁴⁸

O treinamento combinado também se mostrou adequado para preservar a massa muscular e óssea durante um programa de perda de peso em idosos.¹⁰² Villareal e colaboradores demonstraram que combinar o exercício de força e aeróbio na mesma sessão preservou relativamente a massa magra, além de ser mais eficaz para melhorar a funcionalidade em adultos obesos mais velhos.¹⁰² Assim, o exercício físico é capaz de diminuir a progressão da OS através das adaptações promovidas pelo treino de força (i.e., diminuição das citocinas inflamatórias e aumento da função mitocondrial)^{347,349} e pelo treino aeróbio (i.e. preservação da massa muscular, melhor fluxo sanguíneo muscular e diminuição do estresse oxidativo).³⁵⁰ Vale destacar que combinar o treino de força e

aeróbio resultou em redução adicional de gordura ectópica (tecido adiposo visceral e TAIM) quando comparado a uma intervenção de única modalidade.²²⁷

Assim, o treinamento combinado parece interferir positivamente na qualidade muscular.³⁵¹ Um estudo recente comparou o efeito entre o exercício aeróbio, de força e combinado durante 6 meses de RC com uma ingestão de proteína de 1g/kg/dia e os resultados demonstraram que o treino combinado foi capaz de melhorar a síntese de proteína muscular e a qualidade do músculo esquelético, além de preservar a massa muscular em adultos mais velhos e obesos.³⁵¹ Esta literatura reforça a importância do exercício físico, especificamente, do treinamento combinado em idosos, mas chama a atenção para uma necessidade de combinar mais estratégias, como a suplementação de proteínas, para conter o efeito adverso do processo de emagrecimento em idosos com obesidade sarcopênica.

O exercício físico está atrelado a outros benefícios relacionados a longevidade, incluindo alteração na inflamação, na função mitocondrial, no estresse oxidativo e no comprimento dos telômeros. Por exemplo, o exercício físico parece ter papel importante na redução de marcadores inflamatórios de indivíduos com obesidade sarcopênica.^{346,352,353} Uma recente revisão sistemática e meta-análise com doze estudos incluídos (onze ECR e um ensaio clínico não randomizado) comparou os efeitos de três tipos de exercício [aeróbio, força e combinado (aeróbio + força)] na composição corporal, massa e força muscular, no desempenho físico e nos parâmetros hematológicos de idosos com OS.³⁴⁶ Os resultados mostraram que o treino aeróbio é eficaz na redução do peso corporal e do IMC, enquanto o treino de força melhora a porcentagem de gordura corporal e os indicadores de massa muscular (MMA e IMMA). O treino combinado também foi capaz de melhorar o IMC, porcentagem de gordura e IMMA nos idosos com sarcopenia e obesidade.³⁴⁶ Outros trabalhos estão em concordância com estes resultados,^{193,352,354} revelando o potencial do treinamento combinado para o tratamento da OS.

Curiosamente, a revisão sistemática supracitada não demonstrou alterações positivas no IGF-1 e nos marcadores inflamatórios, mostrando que a literatura sobre os efeitos do exercício físico na inflamação é ambígua.³⁴⁶ Em contrapartida, um trabalho demonstrou que tanto o treino aeróbio quanto o de força são capazes de reduzir a IL-6 em mulheres mais velhas.³⁵⁵ Ainda, um treino de força de dezesseis semanas foram suficientes para prevenir o aumento de IL-6 em mulheres pós menopausa quando

comparado a um treino de forçar de menor volume,³⁵⁶ indicando que a inconsistência entre os resultados pode estar relacionada à dose-resposta do exercício, mas não descarta sua eficácia.

Durante o envelhecimento, as deficiências nutricionais somadas ao estilo de vida sedentário e a presença de comorbidades concorrem pela capacidade antioxidante do organismo e aumenta consideravelmente a suscetibilidade ao estresse oxidativo.²⁶² As mitocôndrias afetadas²⁴¹ são boas respondedoras do exercício físico. O exercício aeróbico já demonstrou adaptações positivas no músculo esquelético,²⁶³ como a biogênese mitocondrial, gerando maior eficiência das mitocôndrias (oxidação de maior quantidade de AGL na produção de ATP). É importante destacar que a resposta do estresse oxidativo às intervenções baseia-se no conceito de hormese, em que diferentes concentrações de ERO interferem no sistema redox, isto é, baixos níveis podem beneficiar o músculo esquelético, enquanto a alta produção pode trazer danos.²⁶⁷ Por exemplo, o exercício físico extenuante excede os níveis de ERO, levando a uma perturbação celular através do aumento do dano oxidativo e do processo inflamatório.^{268,269} Assim, manter equilibrado o estado redox é a chave para um envelhecimento saudável.¹⁴⁵ Já foi demonstrado na literatura que a prática regular de exercício físico melhora a atividade antioxidante e apoia a homeostase do sistema redox.^{78,270} Ao contrário do que ocorre agudamente após o exercício,²⁷¹ as adaptações crônicas estão associadas à redução nos marcadores de estresse oxidativo e ao aumento da capacidade antioxidante enzimática e não enzimática em indivíduos de meia-idade e idosos.²⁷²

Tanto o treino aeróbico com intensidade moderada (entre os dois limiares ventilatórios; 50-80% do VO₂máx) a uma frequência de 2 a 3 sessões por semana²⁴⁰ como o treinamento de força de 12 semanas realizado pelo menos 2 dias por semana²⁷³ se mostraram doses suficientes para reduzir o estresse oxidativo relacionado à idade. Especificamente, a intensidade moderada realizada de forma crônica parece ser crucial para melhorar a função mitocondrial e proteger os idosos dos danos advindos do estresse oxidativo,²⁴⁰ além de induzir a respostas adaptativas à máquina de reparo do DNA.²⁷⁴ Durante o exercício físico, há produção de enzimas antioxidantes que protegem o DNA.²²⁸ As principais defesas enzimáticas são SOD, CAT e GPx²⁴⁰ e suas concentrações podem ser modificadas por exercício e nutrição.²⁷⁵

O benefício do treinamento físico parece se estender a biologia dos telômeros.^{74, 103-106} Apesar dos resultados inconsistentes,³⁵⁷ a atividade física já se mostrou eficiente em retardar o encurtamento dos telômeros e/ou até alongá-los,¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ sugerindo que alterações no estilo de vida podem influenciar o comportamento dos telômeros.^{110,111} Diversos estudos observacionais relataram associações positivas entre atividade física e o CT.^{71,106,111,112,228,358-360} Níveis moderados de atividade física são mais comumente associados aos telômeros mais longos,³⁵⁸ enquanto baixos ou níveis excessivos correlacionam-se com telômeros mais curtos.^{108,360} Uma revisão sistemática e meta-análise de Mundstock e colaboradores concluiu que as evidências não tem qualidade suficiente para confirmar a associação entre atividade física e CT. A maioria das associações são fracas a moderadas,³⁶¹ e apenas dois estudos relataram forte associação positiva.^{111,358}

A intensidade, duração, bem como a modalidade do exercício ideal ainda precisam ser aprofundadas.²³⁴ O exercício aeróbio parece aumentar o comprimento dos telômeros,^{104, 107,108,111-113} possivelmente por meio da melhora na capacidade máxima de oxigênio/aptidão cardiorrespiratória.¹⁰⁴ O VO2máx medido na coorte de Mason e colaboradores foi positivamente associado ao CT de mulheres obesas após uma intervenção de exercício físico aeróbio.³²¹ De maneira similar, o exercício de força aponta uma relação positiva com comprimento telomérico.¹¹⁴ Mesmo na população idosa com obesidade sarcopênica, o exercício físico apresentou melhora da sarcopenia e redução do risco de declínio funcional.^{83, 106} Para além disso, uma intervenção de oito semanas com treinamento combinado verificou um aumento de 2% no comprimento do telômero de mulheres obesas, com melhora também nos parâmetros de força muscular e aptidão cardiorrespiratória.¹⁰³ Ainda neste estudo foi encontrada uma correlação inversa entre os telômeros e as medidas da circunferência da cintura, corroborando com achados anteriores.^{69,116}

Em geral, reduzir a quantidade de comportamento sedentário^{71,106} e aumentar atividade física¹⁰⁶ tem efeito positivo na preservação e aumento do CT.²³⁰ A associação entre os exercícios moderados e o aumento do CT parece ser mediado pelo aumento nas defesas antioxidantes induzidas pelo exercício, bem como pela atenuação na inflamação crônica e estresse oxidativo.³⁵⁷ O encurtamento do telômero foi associado a concentrações mais elevadas de IL-6 e TNFα.³⁶² Se o exercício físico reduz a inflamação e

posteriormente o atrito dos telômeros ou se diminui diretamente o desgaste telomérico ainda é uma questão, no entanto, o consenso predominante é que a melhora no estresse oxidativo e na inflamação induzidas pelo exercício, seja o mediador deste efeito.³⁵⁷

2.6 Suplementação de proteína

O metabolismo da proteína muscular é regulado por flutuações nas taxas de síntese (MPS) e degradação (MPB).¹⁶³ A síntese acontece conforme a disponibilidade de aminoácidos a partir de estímulos anabólicos e a degradação ocorre para remodelação muscular em resposta a demandas metabólicas e/ou à medida que envelhecemos,³⁶³ levando a perda progressiva de massa muscular esquelética.¹⁶³ O equilíbrio entre MPS e MPB é perturbado nos idosos. Em condições basais, os idosos não apresentam comprometimento na MPS comparados a indivíduos mais jovens. Contudo, a resposta da MPS aos estímulos fisiológicos é atenuada,³⁶⁴ isto é, os idosos são menos sensíveis às propriedades anabólicas dos aminoácidos (AAs).³⁶⁵ A sinalização é dinâmica, sendo assim, qualquer alteração bioquímica no músculo interfere nos processos celulares e pode contribuir negativamente para a desregulação da síntese de proteínas musculares.³⁶³ Além disso, as alterações na quantidade e na contribuição do músculo para o metabolismo basal e/ou pós-prandial podem aumentar o risco do desenvolvimento de doenças metabólicas.³⁶³ Exemplos disso são a interferência negativa da obesidade no turnover de proteínas musculares.^{350,366} bem como os efeitos prejudiciais da inflamação relacionada à idade na sensibilidade anabólica dos músculos.¹⁶³

Muitos estímulos parecem estimular a via de sinalização da síntese muscular mTORC1, incluindo AAs essenciais (leucina em particular), insulina, hormônios liberados durante contração muscular, enquanto a privação de energia e estresse/hipóxia inibem a atividade mTORC1.^{256,367} Portanto, a ingestão de proteínas é considerada um potente estímulo anabólico para o músculo esquelético humano, principalmente em conjunto com o exercício físico e no contexto da restrição calórica. A ingestão de proteínas fornece o substrato necessário (AAs essenciais) para sintetizar novas proteínas.³⁶³ A leucina em particular é importante tanto para a síntese como para reduzir a degradação das proteínas, além de contribuir na sensibilidade à insulina nos idosos.²⁵⁶

Assim, a suplementação de proteínas é apresentada como a intervenção nutricional mais importante para reter a perda de massa muscular em idosos,²⁵⁶ principalmente no contexto da restrição calórica.^{90,226} As dietas hipocalóricas recomendadas no tratamento de idosos com OS têm o desafio de suprir a necessidade de proteína diária, que já é dificultada pela falta de apetite e pela menor quantidade de ingestão energética.³⁵⁰ Um estudo incluindo 104 mulheres que comparou a ingestão proteica recomendada (0,8 g/kg de peso corporal por dia) com um consumo maior de proteína (1,2 g/kg/dia) no contexto da dieta hipocalórica demonstrou que a dieta rica em proteínas foi capaz reduzir o peso corporal preservando a massa muscular estimada em mulheres com obesidade sarcopênica.³⁶⁸ No entanto, nem todos os trabalhos estão de acordo com estes resultados. Ainda que os adultos de meia idade do estudo CALERIE 2 tenham consumido 1,2 g/kg/dia de proteína, foram observadas reduções na força e massa muscular durante a perda de peso.^{90,334,338} Além disso, uma revisão sistemática e meta-análise indicou que a suplementação de proteínas ou aminoácidos não proporciona ganhos significativos na massa magra e força muscular em uma população idosa quando comparada a uma ingestão de placebo.³⁶⁹

A divergência nos resultados pode estar relacionada ao fato de que ainda não há um consenso sobre a dose ideal de proteína no contexto dos idosos com OS. Especialistas concordam que há necessidade de um aporte proteico maior (1,0 a 1,2 g/kg/dia) do que o recomendado para adultos.^{97,196,370} Em sarcopênicos e/ou indivíduos com doenças crônicas, os requisitos parecem ser de fato maiores (1,5 g/kg/d).^{97,196,197} No entanto, quando a restrição energética é muito grande, nem mesmo uma ingestão diária aumentada de proteína parece ser suficiente para moderar as reduções na massa magra.¹⁹⁴ A dose de proteína diária de 1,2 a 1,6 g/kg é recomendada para estimular MPS e suprimir MPB¹⁹⁸ e assim manter a massa muscular durante o envelhecimento.¹⁹⁷ No entanto, vale ressaltar que suplementar proteína além de 1,6 g/kg/dia parece não resultar em ganhos adicionais de massa muscular e força.¹⁹⁹

Outros fatores como a distribuição uniforme de proteína por refeição,¹⁹⁹ o conteúdo de AAs (i.e. leucina) bem como a qualidade da proteína são importantes para estimular a síntese.³⁵⁰ O *whey protein*, proteína do soro do leite que possui rápida digestão e absorção, é capaz de estimular MPS e superar a resistência anabólica em idosos devido à sua alta concentração do AA essencial leucina.³¹⁹ De fato, dez dias de suplementação

com proteína do soro do leite parecem ser suficiente para melhorar a MPS pós prandial em homens idosos saudáveis.⁶ Especificamente na obesidade sarcopênica, são poucos os estudos disponíveis que investigaram os efeitos da suplementação com proteína/aminoácidos.^{196,201,350} As evidências existentes apontam para uma necessidade adequada de ingestão proteica,¹⁴⁹ embora a quantidade e qualidade ideal da suplementação ainda não tenha sido determinada. Alguns autores postularam que a presença de AAs essenciais (leucina, arginina e cisteína) é o mais relevante.^{13,350} Além disso, um efeito positivo na preservação da massa muscular a partir da suplementação tem sido apresentado bem como a melhora na funcionalidade dos idosos com OS.^{191,196,201}

O aumento no consumo de proteínas ajuda a reduzir a progressão da inflamação de baixo grau e o agravamento da sarcopenia em idosos.^{172,176} Apesar da alta heterogeneidade, uma meta-análise demonstrou que o *whey protein* reduz os níveis séricos de PC-R e assim é capaz de mitigar a inflamação.¹⁸ Mais recentemente, uma revisão sistemática com meta-análise demonstrou que a suplementação de proteína de soro de leite e soja reduziram os níveis IL6 e TNF α , respectivamente entre indivíduos de 50 a 80 anos com alguma comorbidade.¹⁷² De fato, em indivíduos com sarcopenia e pré-fragilidade, a análise de subgrupo revelou um declínio significativo nos níveis circulantes de IL-6.¹⁷² Uma possível explicação para esta redução pode ser um aumento concomitante nas concentrações de glutathiona e redução no acúmulo de ERO.³⁸ Acredita-se que a proteína do soro de leite exerça efeitos antioxidantes devido ao seu alto teor de cisteína, uma precursora na síntese de glutathiona, principal defesa antioxidante do organismo.³⁰⁴

Poucos estudos examinaram o impacto dos biomarcadores de saúde metabólica em adultos mais velhos com obesidade sarcopênica.¹⁹¹ No entanto, um estudo com pacientes diabéticos (DM2) demonstrou que a suplementação diária de *whey protein* (rico em cisteína) por 3 meses melhorou o estresse oxidativo (SOD, GSH-Px, GSH/GSSG) e os marcadores inflamatórios (PCR, TNF α e IL-6) em comparação ao placebo,⁵¹ indicando o potencial da suplementação proteica na redução da inflamação crônica e do estresse oxidativo. Visto que estes são indicados como os principais mecanismos envolvidos no encurtamento dos telômeros^{41,59,60}, inclusive em indivíduos obesos e diabéticos (DM2),^{61,62} é plausível supor que a suplementação proteica possa induzir alterações no comprimento dos telômeros através dos efeitos na inflamação e no estresse oxidativo. Até onde sabemos, não há estudos demonstrando o efeito da suplementação de proteína nos telômeros de idosos com OS.

Em idosos com obesidade sarcopênica, uma revisão buscou verificar as intervenções mais eficientes no tratamento e identificou que a suplementação de proteína sozinha por um período de aproximadamente dois a quatro meses foi capaz de melhorar o peso corporal, a CC, a força muscular e a massa muscular.¹⁹¹ De acordo com uma meta-análise anterior, dietas ricas em proteínas e com restrição energética podem ajudar a preservar o músculo esquelético enquanto reduzem a massa gorda.⁵⁷ Isso pode ser explicado pelo menor declínio observado na MPS pós prandial em indivíduos que reduziram peso utilizando a suplementação com *whey protein*.⁶⁵ No entanto, ainda que a ingestão proteica em condições de restrição calórica melhore o perfil de saúde dos idosos com obesidade e alto risco de doenças crônicas, o exercício físico (treino de força principalmente) parece ser necessário para reter massa magra.^{68,200}

O efeito da suplementação de proteína associada aos exercícios físicos foi amplamente pesquisado. Em adultos saudáveis, combinar as estratégias induziu ganhos adicionais na massa e força muscular, quando comparado ao treino de força isoladamente.³⁷¹ Embora as diretrizes recomendem a combinação de RC, aumento na ingestão de proteínas e exercícios físicos para tratar a obesidade sarcopênica,^{88,91,196} se o efeito protetor proveniente da ingestão proteica se aplica aos idosos submetidos à restrição calórica, com ou sem o exercício físico, ainda não está claro.^{149,256} Como demonstrado por Amamou e colegas, uma população de idosos com sobrepeso (60–75 anos, IMC $32,4 \pm 3,9$ kg/m²) que reduziu a ingestão energética em 500 kcal/dia e manteve a ingestão proteica equivalente 1,4 g/kg/dia associada ao treino de força foi capaz de sustentar a massa magra,¹⁷⁷ apontando para a necessidade do consumo proteico mesmo com o treinamento físico.¹⁷⁷ Curiosamente, uma revisão sistemática e meta-análise incluindo 17 ECRs comparou o efeito do exercício de força sozinho e somado à suplementação de proteínas em idosos com sobrepeso/obesidade. A conclusão foi que o adicional proteico foi eficaz na redução de massa gorda e no aumento de massa magra em maior magnitude do que quando comparado ao treino de força sozinho.¹⁵⁵ Assim, em idosos saudáveis, combinar o treinamento físico à ingestão aumentada de proteína parece promover maiores ganhos na massa e força muscular do que qualquer uma das abordagens sozinhas.⁷² Em discordância, trabalhos com intervenções de exercícios de força e aeróbios isolados ou combinados com consumo de proteína apresentaram benefícios na composição corporal que não se traduziram em aumento de massa muscular.^{154,176}

Apesar do exercício regular mitigar os efeitos negativos da restrição calórica no tecido muscular esquelético, pode não ser suficiente para prevenir totalmente a perda muscular, indicando a necessidade de estratégias complementares no combate a OS.⁹⁴ Nessa perspectiva, a suplementação de proteína – particularmente a proteína do soro do leite – tem sido extensivamente estudada em combinação com a restrição calórica e intervenções de exercícios. Além de apresentar benefícios nos marcadores de saúde metabólica dos idosos,⁸⁷ a suplementação proteica combinada ao exercício físico parece ser mais eficaz na manutenção da massa muscular.^{99,154,155} Assim, o maior consumo de proteínas é indicado no tratamento da OS devido à redução no peso corporal e melhora na condição da sarcopenia,¹⁰² principalmente se associada ao treinamento de força.^{9,191-193} No entanto, não está claro se existe um benefício adicional na suplementação de proteínas para os idosos com obesidade sarcopênica. Espera-se que a suplementação proteica associada ao treinamento e restrição calórica seja capaz de alterar positivamente o comprimento dos telômeros dos idosos com obesidade sarcopênica, através da redução da gordura corporal⁹² e do controle da inflamação e estresse oxidativo.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos da suplementação de proteína sobre o envelhecimento celular, marcadores de estresse oxidativo, e composição corporal de indivíduos idosos com obesidade sarcopênica submetidos a restrição calórica e exercício físico.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1. Primário

Investigar o efeito da suplementação de proteínas combinada ao treinamento físico e restrição calórica no comprimento dos telômeros em indivíduos idosos com obesidade sarcopênica.

3.2.2. Secundário

Investigar o efeito da suplementação de proteínas combinada ao treinamento físico e restrição calórica em indivíduos idosos com obesidade sarcopênica, sobre:

- i Marcadores de estresse oxidativo sanguíneos [substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione S-transferase (GTS), superóxido dismutase (SOD), catalase]
- ii Composição corporal (massa magra e massa gorda)

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta dissertação está aninhada em um estudo maior (Projeto Temático FAPESP: 2017/13552-2), que investiga múltiplos desfechos clínicos em indivíduos idosos com obesidade sarcopênica. O estudo foi pré-registrado no ClinicalTrials.gov (NCT04981366). Os procedimentos foram aprovados pelo Conselho de Revisão Ética local (CAPPesq; No. 04234918.1.0000.0065) e conduzidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em conformidade com os padrões éticos da Declaração de Helsinque de 1964, incluindo suas revisões subsequentes. Todos os participantes foram devidamente informados sobre os possíveis benefícios e riscos da participação no estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

4.1 *Desenho Experimental*

Este é um ensaio clínico randomizado e controlado por placebo, de centro único e duplo-cego. A Figura 7 ilustra o desenho do estudo. Participantes em potencial foram contatados por meio de ligações telefônicas ou entrevistas pessoais. Aqueles que atendiam aos critérios preliminares foram convidados para avaliação presencial da sua condição médica e critérios de elegibilidade. Os participantes elegíveis foram pareados por sexo usando um desenho de blocos gerado por computador e, em seguida, alocados aleatoriamente utilizando *software* específico (<https://randomizer.org>), na proporção de 1:1:1 em um dos três possíveis grupos: (a) suplementação de proteína associada ao treinamento físico e restrição calórica (PTN), (b) suplementação de placebo associada ao treinamento físico e restrição calórica (PLA) ou (c) controle (CTL). Os grupos PTN e PLA receberam suplementação dietética, foram submetidos à restrição calórica e participaram de um programa de treinamento físico supervisionado. Os participantes do grupo CTL não receberam nenhuma intervenção além de orientações gerais sobre alimentação saudável e atividade física. Todos os desfechos foram avaliados antes da intervenção (PRÉ) e imediatamente após 16 semanas de intervenção (PÓS). Os parâmetros dietéticos foram reavaliados nas semanas 4, 8 e 12 por meio de diários alimentares. Os participantes fizeram reuniões quinzenais com um nutricionista experiente da equipe de pesquisa para garantir a adesão à intervenção dietética. Além

disso, os participantes levavam de volta os frascos vazios entregues a cada duas semanas, contendo o adicional proteico ou o placebo, para garantir que tomaram corretamente.

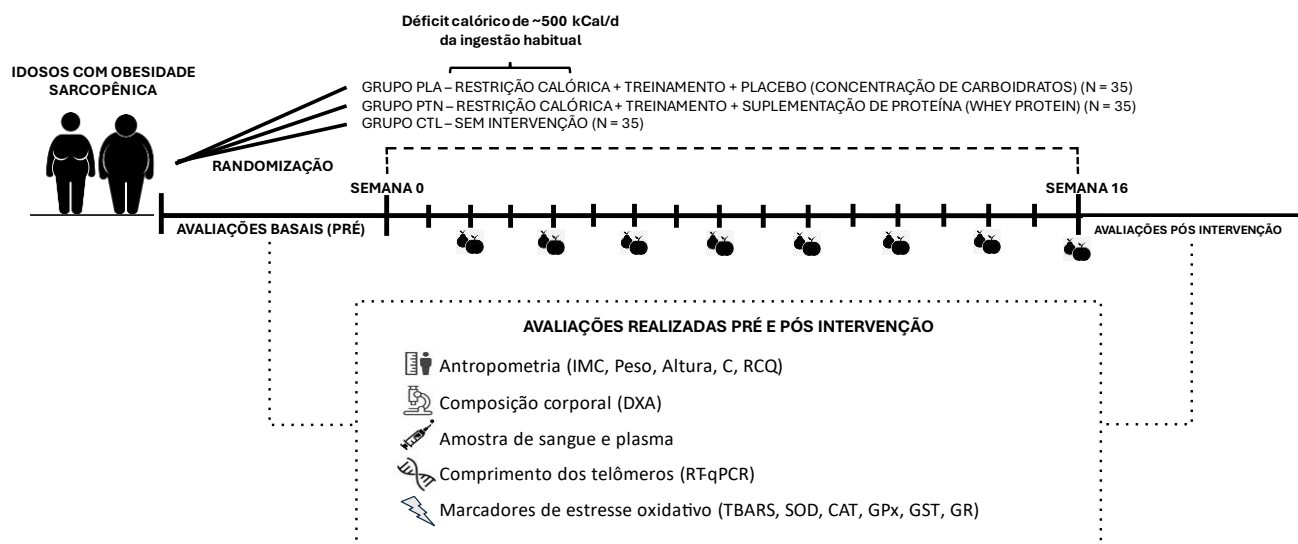


Figura 7. Desenho experimental e avaliações realizadas no momento antes (PRÉ) e após 16 semanas de intervenção (PÓS).

4.2 Seleção da Amostra

Indivíduos idosos foram recrutados na Divisão de Geriatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, bem como por meio de anúncios em redes sociais e em centros comunitários para idosos, divulgação de panfletos nas residências e nos comércios com proximidade da instituição Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Homens e mulheres com idade igual ou superior a 65 anos, com obesidade central [(circunferência da cintura >102 cm para homens e >88 cm para mulheres), índice de massa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, sarcopenia (de acordo com os critérios estabelecidos pela Fundação dos Institutos Nacionais de Saúde (FNIH)], que não estivessem engajados em um programa de treinamento físico, e que estivessem com peso estável (variação menor que 2 kg nos últimos 6 meses), foram considerados elegíveis para participar do presente estudo. Os valores de referência para sarcopenia foram: razão de força de preensão manual para IMC inferior a 1,0 kg/IMC e razão de massa magra apendicular para IMC inferior a 0,789 kg/IMC para os homens; e razão de força de preensão manual para IMC inferior a 0,56

kg/IMC e razão de massa magra apendicular para IMC inferior a 0,512 kg/IMC para as mulheres.¹¹⁷

Foram excluídos participantes que: estivessem utilizando medicamentos para perda de peso (e.g., Sibutramina, Orlistate, Ozempic); tivessem alterado o uso de medicamentos de uso contínuo nos últimos 6 meses; estivessem consumindo suplementos nutricionais que pudessem interferir nos desfechos do estudo nos últimos 2 meses; tivessem histórico de neoplasias recentes (nos últimos 5 anos); apresentassem déficits cognitivos ou demência que os impedissem de ler e assinar o termo de consentimento informado; tivessem doença cardiopulmonar grave [angina instável, infarto do miocárdio, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), insuficiência cardíaca]; ou apresentassem condições médicas que contraindicassem a realização de testes físicos ou o envolvimento em treinamento físico (e.g., deficiências locomotoras ou doenças cardiopulmonares, incluindo angina instável, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, DPOC).

O cálculo amostral foi determinado a priori utilizando o software G-Power (versão 3.1.9.2, Universidade de Kiel, Alemanha). A análise foi conduzida inserindo erro α (0,05), poder ($1 - \text{erro } \beta = 0,99$) e tamanho do efeito ($g \text{ de Hedges} = 0,61$), considerando dados anteriores indicando uma menor perda de massa livre de gordura em indivíduos submetidos à restrição calórica que tiveram um aumento na ingestão de proteína em comparação com seus equivalentes que mantiveram sua ingestão usual de proteína.⁵⁷ Os cálculos foram baseados em uma ANOVA com medidas repetidas (interações dentro-entre) e o tamanho total da amostra foi determinado em 81 indivíduos. Para contabilizar as retiradas no meio do teste, a amostra será aumentada em ~30% (ou seja, 105 participantes).

Todos os participantes foram informados a respeito dos objetivos, procedimentos, bem como os possíveis riscos envolvidos. O consentimento foi obtido por escrito antes de qualquer avaliação relacionada ao estudo.

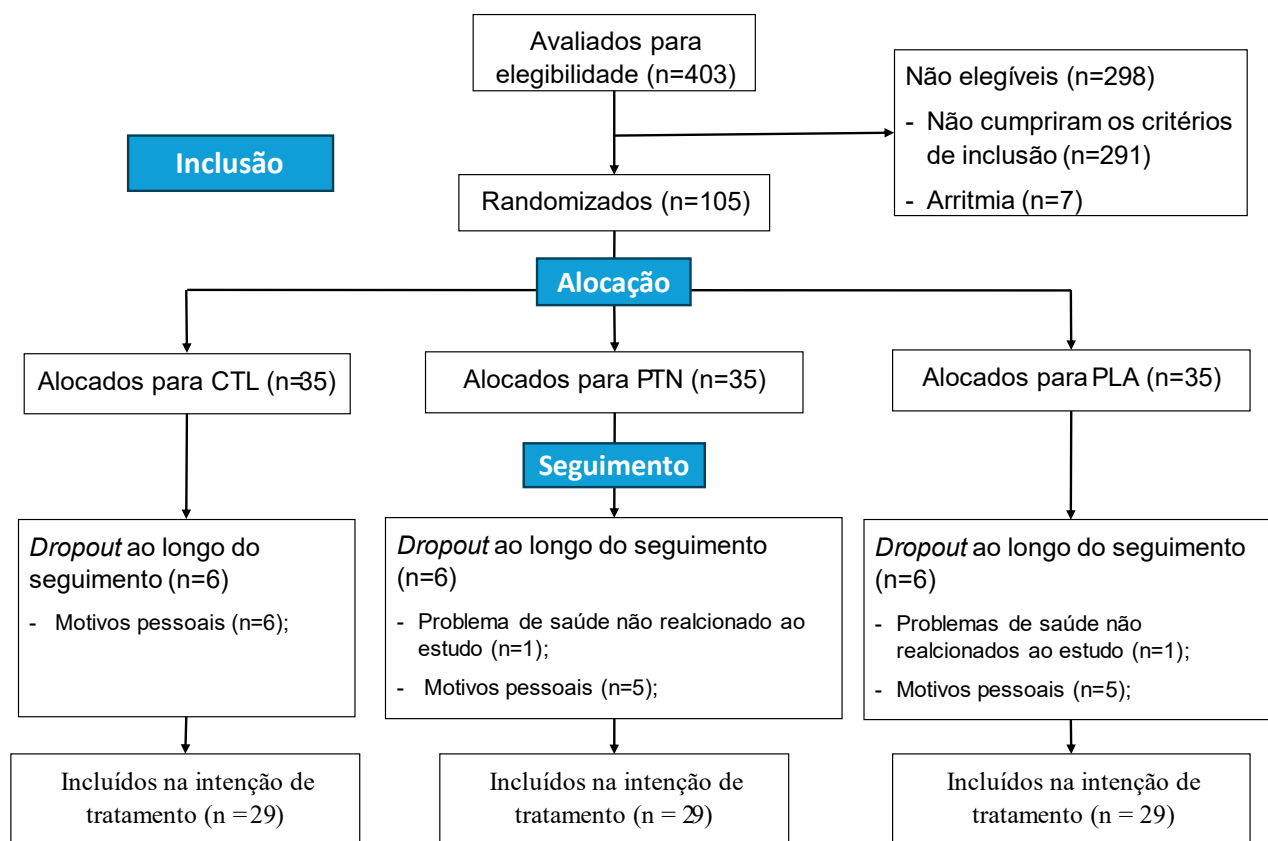


Figura 8. Fluxograma do recrutamento e inclusão dos pacientes elegíveis para o estudo

4.3 Antropometria e Composição Corporal

O peso corporal e a estatura foram medidas em uma balança digital (Filizola Beyond Technology, Personal Line 180) calibrada e um estadiômetro compacto 2 metros (MD), respectivamente. Ambas as medidas foram utilizadas para o cálculo do IMC. Além disso, dados antropométricos, incluindo as circunferências da cintura (CC) e do quadril (CQ) foram cuidadosamente mensurados com o participante em pé com uma fita antropométrica por um pesquisador experiente. A CC foi determinada no ponto médio entre a costela mais baixa e o topo da crista ilíaca no plano axial, enquanto a CQ foi medida na parte mais larga dos quadris, com referência na inserção do fêmur.

Parâmetros relacionados a composição corporal, incluindo massa magra e massa gorda total e segmentar, foram avaliados por meio de densitometria por dupla emissão de raios-X de corpo inteiro (DXA), utilizando o equipamento Hologic QDR 4500^a

(Discovery Densitometer, Hologic Inc., Bedford, MA, EUA). A massa magra apendicular (MMA) foi calculada somando-se a massa magra dos membros superiores e inferiores.⁹⁵ Já o índice de massa magra apendicular (IMMA), foi calculado dividindo o MMA pelo quadrado da estatura, em metros. Ambos os parâmetros são considerados no diagnóstico da sarcopenia.⁹⁵

O DXA foi calibrado com *phantoms* de acordo com as especificações do fabricante, diariamente, antes da realização das medições. Todas as avaliações foram feitas pela manhã, utilizando um posicionamento consistente dos participantes na maca de escaneamento do equipamento.⁹⁸ Todos os exames foram realizados pelo mesmo técnico experiente, que não tinha conhecimento da alocação dos participantes nos grupos do estudo.

4.4 *Análise do comprimento dos telômeros*

Para análise do comprimento dos telômeros, amostras de sangue venoso dos participantes foram coletadas após um período de jejum de 8h em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e foram armazenadas a -80°C até o momento da análise.

A primeira etapa foi a extração de DNA realizada com amostra de sangue total utilizando o kit *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit* (Thermo Fisher Scientific) de acordo com as instruções do fabricante. A fim de garantir a integridade/qualidade das amostras de DNA, após a extração, foi feita a quantificação do DNA utilizando o espectrofotômetro *NanoVue Plus* (General Electric) e aplicada a técnica eletroforese em gel.¹⁵⁶

A segunda etapa foi a leitura da amplificação do DNA por meio da técnica Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR do inglês “*Real-Time Polymerase Chain Reaction*”). A RT-qPCR foi realizada de acordo com o protocolo modificado e adaptado descrito por Cawthon e colegas.¹¹⁸

As reações da RT-qPCR foram realizadas em placas de 96 poços utilizando o termociclador *StepOnePlus™ Real-Time PCR System* (Applied Biosystems®). As placas eram idênticas quanto à quantidade de DNA, volume de reação e ordem da amostra. Todas as amostras e DNA de referência foram analisados em duplicatas usando 25 ng de DNA. Três poços para controle interno foram incluídos em cada corrida.

Para a reação, foi utilizado o *SYBR® Green PCR Mastermix kit* (PureLink™) com um volume final de 25 µl. As sequências de iniciadores (“*primers*”) específicos utilizadas

para os telômeros foram: Tel 1 para frente (“*forward*”) GGT TTT TGA GGG TGA GGG TGA GGG TGA GGG TGA GGG T; e Tel 2 reverso TCC CGA CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA (“*reverse*”). Ambos em uma concentração de 300 nanomolar (nM).

O gene 36B4 (fosfoproteína ribossomal ácida P0), referência para o gene de cópia única, foi utilizado para normalizar a quantidade do DNA de entrada. A sequência do *primer* 36B4u *forward* foi CAG CAA GTG GGA AGG TGT AAT CC na concentração de 300nM; e 36B4d *reverse* foi CCC ATT CTA TCA TCA ACG GGT ACA A, na concentração de 500nM. A reação 36B4 incluiu 12,5 µL de SYBR Green (PureLink™), 0,03 µL de *primer forward*, 0,05 µL de *primer reverse* e 11,42 µL de água ultrapura. Para reação de telômeros foram utilizados 12,5 µL de SYBR Green, 0,03 µL de *primer forward*, 0,03 µL de *primer reverse* e 11,44 µL de água ultrapura.

O comprimento dos telômeros foi determinado pela razão entre o número de cópias da região telomérica (T) e o número de cópias do gene de cópia única (S). A proporção relativa de telômeros para genes de cópia única (T/S) reflete o comprimento médio dos telômeros. As reações de PCR foram realizadas separadamente em placas destinadas aos telômeros e aos 36b4 e dão a informação numérica de quantidade de ciclos de DNA amplificados necessários para atingir o limiar de fluorescência da reação (Ct do inglês “*Cycle threshold*”). A corrida PCR foi realizada em 4 etapas. A primeira etapa na temperatura de 50°C por 2 minutos. Na segunda etapa foram 40 ciclos a 95°C por 2 minutos. A terceira etapa a 55°C por 15 segundos e a última etapa a 60°C por 1 minuto.

Seguindo o proposto por Scheinberg e colaboradores, a razão T/S foi calculada como $\Delta Ct [Ct(\text{telômeros})/Ct(\text{gene de cópia única})]$.¹¹⁹ O comprimento do telômero é apresentado como razão T/S relativa, normalizada pela razão média T/S de uma amostra de referência utilizando o cálculo: $[2^{-(\Delta Ctx - \Delta Ctr)} = 2^{-\Delta \Delta Ct}]$,¹¹⁹ sendo Ctx referente aos telômeros e Ctr ao gene 36b4. Para garantir a comparabilidade entre diferentes execuções de placas, os resultados de cada placa foram aceitos somente se a razão T/S relativa da amostra de referência de validação respeitasse a variação de até 3%.¹¹⁹

4.5 Análise de Marcadores de Estresse Oxidativo

Para análise dos biomarcadores de estresse oxidativo, amostras de sangue venoso dos participantes foram coletadas após um período de jejum de 8h em tubos de EDTA

(ácido etilenodiaminotetracético). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos para separação e obtenção do plasma, e posteriormente armazenadas a -80 °C até o momento da análise.

Para os ensaios de atividade enzimática antioxidante catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase (GR) e Glutathione S-transferase (GST), as amostras de plasma foram centrifugadas a 10.000 g por 10 min a 4°C e o sobrenadante foi separado.

4.5.1 Atividade enzimática da Catalase (CAT)

Para a análise da atividade da CAT, o método ocorreu em duas etapas. Na primeira reação (R1), a CAT contida na amostra dismuta o H₂O₂ (de concentração conhecida) em água e oxigênio molecular. Em seguida, na segunda reação (R2), o H₂O₂ remanescente é determinado pela oxidação do reagente o-dianisidina (OD) em uma reação catalisada pela enzima peroxidase (HRP, de acordo com o método modificado de Fossati et al., 1980).¹⁵⁷

Primeiramente, uma curva padrão de H₂O₂ foi preparada em tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 nas concentrações: 8820, 4410, 2205, 1125, 882, 441, 221, 113, 88, 44, 22 e 11 µM. Em seguida, as amostras de plasma foram diluídas 1:3 em tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 e uma alíquota foi separada para o preparo do branco de cada amostra, que foi incubada a 60°C por duas horas (para se obter a inativação da catalase).

A primeira reação foi realizada incubando-se 15 µL das amostras (brutas ou inativadas) com 250 µL de H₂O₂ 10 mM em temperatura ambiente durante 20 min (como previamente determinado). A reação foi interrompida com 250 µL de NaN₃ 1 mM. Em paralelo, 15 µL de tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 foram incubados com 250 µL de H₂O₂ (nas diferentes concentrações da curva) com os respectivos tempos de incubação.

A segunda reação foi realizada em microplaca pipetando-se 20 µL do produto obtido na primeira reação com 200 µL de reagente contendo 0,167 mg/ml de OD e 0,095 µg/mL de HRP em tampão fosfato 5 mM, pH 6,0. A velocidade de formação do produto de oxidação da OD foi registrada pelo aumento da absorbância a 460 nm, por meio de leituras coletadas em intervalos de 10 segundos durante 10 min.

Os valores de atividade da CAT foram calculados a partir da velocidade máxima por minuto de cada reação corrigidas pelos respectivos valores dos brancos e extrapoladas na curva padrão de H₂O₂. O resultado foi expresso em U Catalase/mL de plasma sendo

que, uma unidade de CAT foi definida como a quantidade de H₂O₂ (em μ mol) degradada por minuto.

4.5.2 Atividade enzimática Superóxido Dismutase (SOD)

O ensaio enzimático da enzima de defesa antioxidante SOD foi realizado utilizando o kit comercial para teste colorimétrico (Sigma Aldrich) com pequenas modificações e baseia-se na formação do produto WST-1 formazan (solúvel em água). Na reação entre Xantina, Xantina Oxidase (XOD), SOD, a formação de ânion superóxido, e a redução do reagente WST-1 (2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazólio, sal monossódico) pelo ânion superóxido para um produto WST-formazan que absorve luz a 440 nm, a enzima SOD sequestra ânion superóxido e reduz a formação do produto WST-formazan.

As amostras de plasma foram primeiramente diluídas (1:10) em tampão de diluição do kit. Os ensaios foram realizados de acordo com o protocolo do fabricante, incluindo um branco para cada amostra, preparado fervendo uma alíquota de amostra diluída durante 5 min.

As reações foram realizadas em microplaca. Cada reação continha 20 μ L de amostra (bruta ou fervida para o branco), 200 μ L de solução de trabalho WST e 20 μ L da solução enzimática EWS e foram incubadas à 37°C. A velocidade de formação do produto WST-1 formazan foi registrada pelo aumento da absorbância a 450 nm, por meio de leituras coletadas em intervalos de 10 segundos durante 20 min.

Os resultados da atividade da SOD foram expressos como porcentagem (%) de inibição/2 μ L de plasma calculados a partir dos valores obtidos de velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$) de cada amostra. O valor de $V_{m\acute{a}x}$ das amostras fervidas foram tomados como 100% de atividade.

4.5.3 Atividade enzimática Glutathiona Peroxidase (GPx)

Este método baseia-se na medida indireta da atividade da GPx, por meio de uma reação associada a glutathiona redutase (GR). A glutathiona oxidada (GSSG), produzida pela redução de hidroperóxidos pela GPx, é reciclada para seu estado reduzido (GSH) através da GR e NADPH.¹⁵⁸

O substrato utilizado neste ensaio foi o terc-butil hidroperóxido. A oxidação de NADPH a NADP⁺ foi acompanhada pelo decaimento da absorbância a 340 nm à 37°C. Em uma microplaca de quartzo, 30 µL de amostra (diluídas 1:3) foram incubados por 5 minutos à 37°C na presença de 145 µL de tampão fosfato 50 mM pH 7,0 contendo EDTA 0,1 M, 5 µL de glutathiona reduzida (GSH) 80 mM e 5 µL de glutathiona redutase (GR) 0,0096 U/µL. Em seguida foram adicionados 5 µL de solução de terc-butil hidroperóxido 0,46% e 10 µL de solução de NADPH 1,2 mM.

O decréscimo na absorbância foi monitorado a 340 nm por 10 minutos. As amostras foram analisadas em duplicata e os resultados foram expressos como µmol GSH/min/mL de plasma.

4.5.4 Atividade enzimática Glutathiona Redutase (GR)

A medida da atividade da GR utiliza o NADPH como cofator na redução da GSSG em GSH. A oxidação de NADPH a NADP⁺ é acompanhada pelo decaimento da absorbância a 340 nm à 37°C.¹⁵⁹

Em uma microplaca de quartzo, 10 µL de amostra (diluída 1:3) foram incubados à 37°C na presença de 190 µL de um meio reacional (tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 contendo EDTA 50 mM, GSSG 2 mg/ml e NADPH 0,4 mg/ml).

O decréscimo dos valores de absorbância foi monitorado a 340 nm por 30 minutos. As amostras foram analisadas em duplicata e os resultados foram expressos como µmol NADPH/min/ mL de plasma.

4.5.5 Atividade da glutathiona S-transferase (GST)

O método baseia-se na formação de um complexo entre a GSH e o composto 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), catalisado pela GST. O aumento de absorbância é diretamente proporcional à atividade da GST na amostra.¹⁶⁰

A reação foi feita em microplaca de quartzo e, cada poço recebeu 10 µL de amostra, 180 µL de tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 e 5 µL de solução de CDNB 0,1 M. Essa mistura foi pré-incubada por 10 minutos à temperatura ambiente e em seguida, adicionou-se 15 µL de glutathiona reduzida (GSH) 0,1 M.

O aumento na absorbância foi monitorado a 340 nm por 15 minutos à 25°C. Os resultados foram expressos como µmol GSH conjugada/min./mL de plasma.¹⁶⁰

4.5.6 Peroxidação lipídica através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para verificar lesões celulares decorrentes da peroxidação lipídica foi realizada a determinação do conteúdo tecidual de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).¹²⁰

Este ensaio consiste na análise da quantidade de peroxidação lipídica mediante a quantificação dos aldeídos, especificamente o MDA, formado pela degradação de hidroperóxidos, como descrito por Conti e colaboradores.¹⁶¹

Cem microlitros de amostras de plasma foram diluídas 1:2 em solução de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,4 contendo butil hidroxitolueno (BHT, 12,6 mM) e adicionadas a 400 µl de solução contendo ácido tiobarbitúrico (0,37 %) em meio fortemente ácido (contendo 15% de ácido tricloroacético e ácido clorídrico 0,25 N). Os tubos foram agitados em vórtex e incubados a 90°C durante 45 min.

Em paralelo, foi preparada uma curva padrão de MDA, usando o composto 1,1,3,3, tetrametoxipropano (TMP, Sigma, EUA) hidrolisado com concentrações de 0,4 a 25 µM.

Em seguida, em temperatura ambiente, 300 µl da mistura foram submetidos à extração do produto de reação adicionando-se 300 µl de n-butanol juntamente com 30 µl de solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Os tubos foram agitados em vórtex durante 30 segundos e após centrifugação (5 min a 12.000g), 200 µl dos sobrenadantes (fase orgânica) foram pipetados em microplaca para leitura dos valores de absorbância.

As leituras das absorbâncias foram realizadas em leitor de microplaca a 535 nm e corrigidas pelos valores de absorbância a 572 nm. Os resultados foram expressos como equivalentes de MDA (µM).

4.6 Avaliação da força

A força isométrica foi avaliada utilizando um dinamômetro de preensão manual (Jamar®, Sammons Preston Rolyan, EUA), de acordo com o protocolo de Southampton¹²² e utilizada como ponto de corte no diagnóstico de obesidade sarcopênica. O teste foi realizado com o paciente sentado, ombros em adução e em rotação neutra, com o cotovelo flexionado a um ângulo de 90°. ¹⁰⁰ Foram realizadas três tentativas de esforço

máximo, cada uma com duração de 5 segundos e com intervalo de descanso de 1 minuto. O melhor resultado foi considerado para análise.

A força dinâmica máxima foi avaliada por meio do teste de uma repetição máxima (1RM) para posterior determinação da intensidade do protocolo de treinamento de força, seguindo recomendações amplamente utilizadas e globalmente aceitas.¹²¹ Resumidamente, os participantes realizaram um aquecimento geral de 5 minutos em uma esteira a $3 \text{ km} \times \text{h}^{-1}$, seguido de um aquecimento específico composto por uma série de oito repetições a 50% do 1RM estimado e uma série de três repetições a 70% do 1RM estimado, com um intervalo de descanso passivo de 1 minuto entre as séries. Após isso, os participantes tiveram até cinco tentativas para atingir o 1RM, com intervalos de 3 minutos entre cada tentativa. O 1RM foi considerado o maior peso com o qual o participante conseguiu realizar um movimento completo excêntrico-concêntrico em uma amplitude de movimento de 90° . Se faz importante ressaltar que, antes das avaliações iniciais, os participantes realizaram duas sessões de familiarização com pelo menos 72 horas de intervalo entre elas. Caso a variação entre as sessões de familiarização e de teste fosse superior a 5%, o que é reconhecido como a variação interdiária normal em avaliações da força muscular,^{101,105} uma sessão de teste adicional seria realizada, respeitando o mesmo intervalo de tempo entre as sessões. O coeficiente de variação (CV) para os testes de 1RM no *leg press* e no *bench press* foi de 1,4% e 3,0%, respectivamente. Todas as sessões foram conduzidas por um pesquisador experiente, com forte encorajamento verbal durante as tentativas. Os participantes foram instruídos a respirar normalmente durante o teste de força para evitar a manobra de Valsalva.

4.7 Teste ergoespiométrico

Um teste de esforço cardiopulmonar foi realizado para posterior determinação da intensidade do protocolo de treinamento aeróbio. O teste foi realizado em uma esteira rolante (Centurion C200, Micromed, Brasil) usando um protocolo de Balke modificado e individualizado até o limite de tolerância.¹²⁷ Todos os testes foram conduzidos no mesmo laboratório intra-hospitalar sob temperatura ambiente controlada ($20\text{-}23^\circ\text{C}$). O sistema foi calibrado imediatamente antes de cada teste, utilizando gases de calibração padrão (12% O_2 , 5% CO_2 e balanceado em N_2) e uma seringa de calibração de 3 L (Cortex, Alemanha) seguindo as especificações do fabricante. A troca gasosa foi avaliada a cada respiração por meio de amostragem contínua, utilizando uma máscara facial acoplada a

um analisador de gases (Metalyzer 3B, Cortex, Alemanha). Parâmetros ventilatórios foram medidos por uma turbina (Cortex, Alemanha) com um transdutor de volume e sensor de fluxo. A frequência cardíaca foi monitorada continuamente utilizando um eletrocardiógrafo de 12 derivações (ErgoPC Elite, Micromed, Brasil). Todos os exames foram conduzidos por um médico capacitado e avaliados por um pesquisador; os limiares metabólicos foram determinados e utilizados como parâmetro base para prescrição do treinamento físico aeróbico.

4.8 Avaliação dietética

Parâmetros dietéticos, incluindo ingestão calórica e conteúdo de macronutrientes e micronutrientes, foram determinados com auxílio de um *software* específico (Nutritionist Pro® v.7.3, Axxya Systems, Woodinville, WO, EUA) baseado no banco de dados de alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Inicialmente, um nutricionista experiente forneceu instruções verbais e escritas sobre como preencher diários alimentares de três dias (dois de dias da semana não consecutivos e um de um dia de final de semana), incluindo orientações sobre horários e estimativa de porções utilizando medidas caseiras. Todos os registros alimentares de foram revisados individualmente em entrevistas presenciais estruturadas com o mesmo nutricionista, utilizando o Método Automatizado de Passos Múltiplos do USDA validado e padronizado que inclui cinco etapas de memória (1: lista rápida; 2: lista de alimentos esquecidos; 3: hora e ocasião; 4: detalhes e revisão; e 5: verificação final) para evitar erros de registro e garantir uma recordação abrangente de todos os alimentos consumidos.¹³⁴ Essa estratégia de verificação dupla foi implementada para reduzir o viés de recordação e melhorar a precisão da coleta de dados. Durante as entrevistas, o auxílio no tamanho das porções foi ainda mais esclarecido utilizando livretos alimentares com medidas caseiras.^{123,135} e fotos de alimentos em tamanho real.¹⁸⁰

Intervenções

As avaliações descritas a seguir foram utilizados apenas para definir adequadamente os protocolos de restrição calórica, suplementação e treinamento físico.

4.9 Restrição Calórica e Suplementação Nutricional

Os participantes alocados aos grupos de intervenção (PTN e PLA) tiveram suas dietas ajustadas individualmente para induzir um déficit calórico de 300-500 kcal por dia em relação à sua ingestão energética habitual. Esse ajuste foi feito com base nas avaliações realizadas a cada quatro semanas para determinar os parâmetros dietéticos dos pacientes, incluindo a ingestão calórica e o conteúdo de macronutrientes e micronutrientes. Além disso, os participantes se encontraram quinzenalmente com nutricionistas registrados para terapia comportamental individual envolvendo educação nutricional, a fim de melhorar a adesão ao protocolo de restrição calórica. Neste momento, era realizada a pesagem corporal e a definição de metas comportamentais semanais. O objetivo foi obter uma perda de peso de aproximadamente 10% ao final dos 4 meses de intervenção.

Devido à restrição calórica, os participantes dos grupos PTN e PLA também receberam suplementos de cálcio e vitamina D para garantir uma ingestão diária de 1500 mg de cálcio e 1000 UI de vitamina D, conforme recomendado previamente.^{102,226} Por fim, estes participantes também receberam semanalmente garrafas de suplementos alimentares sem rótulo para serem consumidos diariamente no café da manhã; os suplementos foram entregues por um pesquisador cego quanto à alocação dos participantes nos estudos. O grupo PTN recebeu 40g de *whey protein* (Cocoa Nature Whey 70% Nutrata®, São Paulo, Brasil), enquanto os participantes do grupo PLA receberam um placebo isocalórico (Nutrata®, São Paulo, Brasil). O placebo era composto por uma mistura de carboidratos (isomalto-oligossacarídeo, milho ceroso, maltodextrina), com o mesmo sabor (chocolate natural) e textura do *whey protein*. Os participantes foram solicitados a registrar sua ingestão de suplementos (hora e dia) e devolver os frascos (vazios ou não) semanalmente para monitorar a adesão. A equipe de pesquisa estava disponível para responder a quaisquer perguntas a respeito do protocolo de suplementação durante todo o estudo.

4.10 Protocolo de Treinamento

Participantes dos grupos PTN e PLA foram submetidos a um programa de treinamento físico de 16 semanas de duração, com realização de três sessões de treinamento semanais. O programa incluía tanto exercícios de fortalecimento quanto exercícios aeróbicos, ambos realizados na mesma sessão. O treinamento de força consistiu em seis exercícios para os principais grupos musculares, incluindo: *leg press*

inclinado a 45°, cadeira extensora, cadeira flexora, flexão plantar em pé, *bench press* e puxada frontal. O treinamento aeróbico envolveu caminhada e/ou corrida em esteira rolante (Movement® RT 250). A periodização do protocolo de treinamento físico seguiu as recomendações de diretrizes amplamente aceitas para idosos.^{182,203} Para cada exercício, o treinamento de força progrediu de 1 série de 15-20 repetições máximas (RM) na primeira semana para 3 séries de 10-12 RM nas últimas quatro semanas de treinamento. Sempre que um participante excedia o limite superior da faixa de repetições por duas séries consecutivas, a intensidade era ajustada, aumentando o peso levantado no exercício. Ao longo de todo o programa, foi concedido um intervalo de descanso entre as séries de 60 segundos. Da mesma forma, o exercício aeróbico progrediu de 30 minutos a 55–65% da frequência cardíaca máxima (FC_{max}) durante as primeiras quatro semanas, para 40 minutos a 70–80% da FC_{max} nas últimas quatro semanas de treinamento. A Escala de Percepção de Esforço de Borg (PSE)¹²⁴ foi utilizada como uma ferramenta auxiliar para monitorar a intensidade do exercício e a progressão do treinamento. Nesses casos, a intensidade alvo variou de ‘muito leve’/‘relativamente leve’ (PSE de Borg 9–11 a.u.) a ‘um pouco difícil’/‘difícil’ (PSE de Borg 13–15 a.u.). Todas as sessões de treinamento foram supervisionadas por um profissional de educação física experiente, que estava cego para a alocação dos participantes no estudo. Uma planilha com dados registrados de cada sessão de treino foi mantida, a fim de monitorar a adesão e controlar a progressão de treinamento ao longo das semanas.

Tendo em vista a maior prevalência de comorbidades nessa população, precauções adicionais foram implementadas. Todos os participantes tiveram a pressão arterial em repouso medida por um monitor automático (SPACELABS, São Paulo, Brasil) imediatamente antes de cada sessão de treinamento; as sessões foram suspensas se as leituras da pressão arterial sistólica ou diastólica fossem ≥ 160 mmHg ou ≥ 105 mmHg, respectivamente.^{204,207} Da mesma forma, os níveis de glicose no sangue foram medidos antes das sessões de treinamento para participantes com diabetes tipo 2, sendo considerados valores aceitáveis entre 90 e 250 mg/dL.²⁰⁸ Além disso, a FC e a saturação de oxigênio periférico (SpO_2) foram monitoradas continuamente utilizando um oxímetro de pulso portátil (G-Tech, modelo Oled Graph) durante o exercício aeróbico. Sempre que

necessário, os participantes recebiam atendimento ambulatorial e consulta com nossa equipe médica.

Semana	Aeróbio	Força
1 ^a a 4 ^a	30 minutos a 55-65% FC _{máx} ou PSE entre 10-12 pontos	1 ^a sem 1x15 a 20 reps; Demais 2x15-20 RMs
5 ^a a 8 ^a	35 minutos a 55-65% FC _{máx} ou PSE entre 10-12 pontos	3 séries de 15-20 RMs
9 ^a a 12 ^a	40 minutos a 60-70% FC _{máx} ou PSE 11-13 pontos	3 séries de 12-15 RMs
13 ^a a 16 ^a	40 minutos a 70-80% FC _{máx} ou PSE entre 13-15 pontos.	3 séries de 10-12 RMs

Figura 9. Detalhes do protocolo de treinamento. Incrementos de volume e intensidade do treinamento de aeróbio e de força conforme a semana de treinamento.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Antes da análise inferencial, os outliers foram identificados por inspeção visual, e os dados foram testados quanto à homogeneidade de variância e esfericidade. Dados descritivos foram comparados no PRÉ usando o teste exato de Fisher ou ANOVA *one-way* com ajuste pós-hoc de Sidak, quando necessário. Dados longitudinais referentes aos desfechos de interesse foram analisados usando um modelo linear misto para medidas repetidas, assumindo "grupo" (PTN, PLA e CON) e "tempo" (PRÉ e PÓS) como fatores fixos, e "sujeitos" como fator aleatório; valores basais foram usados como covariável. Para todos os modelos, foram aplicados o método de máxima verossimilhança restrita e o ajuste de graus de liberdade de Kenward-Roger. Sempre que foram encontradas interações significantes (grupo×tempo), testes pós-hoc com ajuste de Sidak foram realizados para comparações múltiplas; diferenças entre grupos no pós-intervenção foram apresentadas como a diferença média estimada (EMD) e intervalo de confiança de 95% (IC95). Na análise estatística, todos foram incluídos seguindo o princípio de intenção de tratamento, com exceção de um único participante do grupo PTN que não possuía dados de comprimento dos telômeros para nenhum dos tempos (PRÉ e PÓS).

Uma análise secundária pós-hoc agrupando os grupos de intervenção (INT; ou seja, PTN+PLA) foi realizada para avaliar o efeito combinado do treinamento físico e da restrição calórica, independentemente da suplementação de proteína. Adicionalmente, uma análise de sensibilidade pós-hoc foi realizada utilizando a correlação de medidas repetidas (rmcorr) para avaliar a relação entre as mudanças no comprimento dos telômeros e as mudanças nos marcadores de estresse oxidativo, parâmetros

antropométricos e de composição corporal. Este método foi escolhido porque a análise de correlação convencional, quando aplicada a observações não independentes, como dados agregados de medidas repetidas, pode produzir resultados enviesados devido à violação da independência e/ou padrões diferentes entre e dentro dos sujeitos.¹⁶²

A abordagem de intenção de tratar foi utilizada em todas as análises, a fim de preservar a integridade da randomização. Dados faltantes foram estimados pelo modelo misto. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (versão 4.2.1, R Development Core Team). O nível de significância foi estabelecido em $p \leq 0,05$. Os dados são apresentados como frequências (n, %) ou média $\pm$ DP, salvo indicação em contrário.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1 Participantes

O fluxo dos participantes no estudo está representado na Figura 8. Quatrocentos e três participantes foram avaliados para elegibilidade. Destes, cento e cinco atenderam a todos os critérios de inclusão e exclusão, e foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos experimentais (n=35 por grupo). Ao longo do estudo, houve perda de seis participantes por grupo (n=18 no total) devido a problemas de saúde não relacionados ao estudo (n=2 no total) ou por razões pessoais (n=16 no total). Todos os participantes foram incluídos para a análise final, seguindo o princípio de intenção de tratar.

As características basais dos participantes estão representadas na Tabela 1. A idade média da amostra foi de $71,5 \pm 5,4$ anos, o peso corporal $87,0 \pm 13,7$ kg, o IMC $35,1 \pm 4,4$ kg/m². Os critérios de sarcopenia (força de preensão manual (FPM)/IMC, MMA/IMC) e a presença de comorbidades estão descritos detalhadamente na Tabela 1. A prevalência de diabetes foi de 28,5%, hipertensão 68,5%, doenças psicológicas 22%, doenças reumáticas 12%, dislipidemia 42%, e osteopenia 59%. Os indivíduos não apresentaram diferenças significantes entre as variáveis antes do início da intervenção, indicando homogeneidade entre a amostra (Tabela 1).

A aderência dos participantes ao programa de treinamento físico e à suplementação nutricional foi de $85 \pm 16\%$ e $99,9 \pm 0,7\%$ no grupo PTN e de $89 \pm 16\%$ e $99,9 \pm 0,5\%$ no grupo PLA, respectivamente.

Tabela 1. Caracterização da amostra

Características Basais	PTN (n=35)	PLA (n=35)	CTL (n=35)	P valor
Sexo				1,0000
Masculino	8 (23%)	8 (23%)	8 (23%)	
Feminino	27 (77%)	27 (77%)	27 (77%)	
Idade (anos)	$72,2 \pm 5,5$	$71,8 \pm 5,5$	$71,0 \pm 5,2$	0,7003
Composição Corporal				
Peso Corporal (kg)	$88,6 \pm 15,7$	$87,3 \pm 12,1$	$84,9 \pm 12,9$	0,5097
Estatura (m)	$1,57 \pm 0,09$	$1,59 \pm 0,09$	$1,57 \pm 0,08$	0,5866
Circunferência da Cintura (cm)	$111,7 \pm 12,4$	$110,4 \pm 9,08$	$108,9 \pm 9,3$	0,5256
Circunferência do Quadril (cm)	$113,8 \pm 9,6$	$112,3 \pm 8,36$	$110,5 \pm 8,5$	0,2411

Força muscular				
FPM/IMC (kg)	0,52 ± 0,17	0,56 ± 0,18	0,58 ± 0,18	0,3621
1-RM <i>leg press</i> (kg)	99,86 ± 35,61	99,56 ± 35,66	106,86 ± 42,97	0,6676
1-RM <i>bench press</i> (kg)	21,89 ± 8,82	23,24 ± 8,37	23,24 ± 8,58	0,7529
Comorbidades				
Diabetes	11 (31%)	12 (34%)	7 (20%)	0,3929
Hipertensão	29 (83%)	20 (57%)	23 (66%)	0,0568
Doenças Psicológicas	6 (17%)	12 (34%)	5 (14%)	0,1119
Doenças Reumatológicas	4 (11%)	3 (9%)	6 (17%)	0,6606
Dislipidemia	16 (46%)	15 (43%)	13 (37%)	0,8266
Osteopenia	21 (60%)	20 (57%)	21 (60%)	1,0000
Uso de Medicamentos				
Anti-hipertensivos	29 (83%)	20 (57%)	23 (66%)	0,0568
Hipoglicemiantes	11 (31%)	12 (34%)	7 (20%)	0,3929
Estatinas	16 (46%)	15 (43%)	13 (37%)	0,8266
Tiroideanas	6 (17%)	11 (31%)	9 (26%)	0,4194
Ansiolíticos ou antidepressivos	6 (17%)	12 (34%)	5 (14%)	0,1119

Dados representadas por média ± DP ou por número de participantes (%).

6.2 Análise primária

Todos os participantes foram incluídos na análise estatística de acordo com o princípio de intenção de tratar. No momento pós, houve problemas técnicos na etapa de extração do DNA, impedindo a análise do comprimento dos telômeros de 1 participante do grupo PTN. Adicionalmente, 2 participantes do grupo CTL realizaram apenas a coleta sanguínea, não completando todas as avaliações após as 16 semanas.

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise primária por intenção de tratar para as mudanças no comprimento dos telômeros, marcadores de estresse oxidativo, parâmetros antropométricos e de composição corporal relacionados à obesidade e sarcopenia. Tanto o grupo PTN quanto o grupo PLA mostraram melhoras significantes no peso corporal, IMC, RCQ, massa gorda total e aumentos em MMA/IMC e FPM/IMC em comparação com o grupo CTL (todos $p < 0,05$; Tabela 2). Em relação as mudanças na massa magra, foi observada apenas um efeito principal do tempo (EMD: -0,48, [IC95% = -0,94: -0,02], $p = 0,042$), sem interação entre tempo x grupo. Similarmente, observamos um efeito principal do tempo para os níveis de TBARS (EMD: 0,33, [IC95% = 0,09: 0,57], $p = 0,007$), sem interação entre tempo x grupo.

O grupo PTN apresentou melhorias médias significantes em relação ao grupo PLA para todas as variáveis: peso corporal, IMC e MMA/IMC (todos $p < 0,05$; Tabela 2), além de uma tendência para a massa gorda total ($p = 0,087$). No entanto, as mudanças de RCQ

foram menores no grupo PTN em comparação do grupo PLA ($p < 0,05$; Tabela 2). As alterações na razão entre FPM/IMC e da massa gorda total foram estatisticamente comparáveis entre ambos os grupos experimentais ($p > 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos da suplementação de proteína combinada ao exercício físico e restrição calórica nos parâmetros antropométricos, composição corporal, comprimento dos telômeros e marcadores de estresse oxidativo.

	PTN		PLA		CTL		Interação o Grupo- Tempo	Diferenças entre grupos após intervenção					
								PTN vs. PLA		PTN vs. CTL		PLA vs. CTL	
	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=27)	p valor	EMD (95CI)	p valor	EMD (95CI)	p valor	EMD (95CI)	p valor
Peso corporal (kg)	88,6±15,7	82,6±13,0	87,3±12,1	82,0±10,8	84,9±12,9	82,0±11,1	<0,001	-1,8 (-3,0; -0,6)	<0,001	-5,4 (-6,7; -4,2)	<0,001	-3,6 (-4,8; -2,4)	<0,001
IMC (kg/m ²)	36,0±4,79	33,7±4,85	34,7±4,51	32,69±3,32	34,49±3,97	34,2±4,2	<0,001	-0,8 (-1,2; -0,3)	<0,001	-2,2 (-2,7; -1,7)	<0,001	-1,5 (-2,0; -1,0)	<0,001
RCQ	0,98±0,08	0,95±0,07	0,99±0,08	0,94±0,08	0,99±0,09	0,9±0,09	<0,001	0,02 (0,00; 0,04)	0,044	-0,03 (-0,05; -0,01)	<0,001	-0,05 (-0,07; -0,03)	<0,001
Massa gorda (kg)	41,7±8,93	37,10±8,75	40,7± 7,48	36,43±5,93	39,56±8,0	39,6±7,8	<0,001	-0,84 (-1,76; -0,07)	0,087	-4,65 (-5,59; -3,71)	<0,001	-3,81 (-4,74; -2,87)	<0,001
Massa magra (kg)	42,1±8,66	41,66±6,85	42,3±7,29	41,85±7,16	41,26±6,90	39,1±4,8	0,595						
MMA /IMC	0,49±0,12	0,54±0,11	0,52±0,11	0,54±0,11	0,51±0,10	0,48±0,09	<0,001	0,03 (0,02; 0,04)	<0,001	0,06 (0,04; 0,7)	<0,001	0,03 (0,01; 0,04)	<0,001
FPM /IMC	0,52±0,17	0,71±0,21	0,56±0,18	0,73±0,18	0,58±0,18	0,5±0,1	<0,001	0,00 (-0,04; 0,05)	1,000	0,22 (0,17; 0,26)	<0,001	0,21 (-0,16; 0,26)	<0,001
CT (T/S)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=28)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)							
	0,978±0,049	0,992±0,055	0,986±0,060	0,990±0,043	0,987±0,052	0,986±0,05	0,147						
TBARS (eq. MDA uM)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)	PRÉ (n=35)	PÓS (n=29)							
	1,94±0,66	1,92±0,77	1,95±0,95	2,05±0,93	1,94±0,53	2,25±0,94	0,109						

GPx (umol GSH/min/ mL)	400,4±55,6	415,1±45,3	407,9±47,2	414,5±45,8	402,3±39,5	396,5±38,0	0,090
GR (umol NADPH/m in/mL)	48,60±2,96	49,62±4,10	48,15±2,95	47,22±4,64	48,51±2,38	49,02±2,46	0,211
GST (pmol GSH conjugado/ min/mL)	17,1±6,4	21,2±7,0	19,5±11,2	21,1±10,4	19,3±9,7	18,7±8,2	0,999
SOD (% inibição/2 uL)	22,5±5,7	23,0±4,8	21,7±3,9	23,5±4,0	22,0±5,6	22,6±3,9	0,367
CAT (U/mL)	6,2±2,2	5,9±2,5	6,5±2,9	6,5±3,6	6,0±2,8	5,6±2,1	0,800

Comparações baseadas no modelo misto linear com análise de medidas repetidas ajustadas pelo valor inicial, Dados apresentados com média±DP; diferença média estimada (EMD) e 95% do intervalo de confiança (95CI), Abreviações: PTN: suplementação de proteína; PLA: suplementação de placebo; CTL: controle (sem intervenção); IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura quadril; MMA/IMC: massa magra apendicular ajustada pelo IMC; FPM/IMC: força de preensão manual ajustada pelo IMC; CT: comprimento do telômero; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GST: glutathione S-transferase; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; **Negrito** indica $p \leq 0,05$.

6.3 Análise secundária

A análise secundária pós-hoc (agrupando os grupos de intervenção PTN e PLA) revelou interações grupo×tempo favoráveis a INT (Tabela 3). Em comparação ao grupo CTL, o *cluster* INT revelou melhoras significantes no comprimento do telômero, níveis de TBARS, além do peso corporal, IMC, RCQ, MMA/IMC, FPM/IMC, e na massa gorda total após 16 semanas de intervenção (todos $p < 0,05$; Tabela 3). Para a massa magra total foi observado um efeito principal do tempo (EMD: -0.43, [IC95% = -0,82: -0,05], $p = 0,042$). Nenhuma outra interação grupo por tempo ou efeito principal foi observado (todos $p > 0,05$; Tabela 3).

Tabela 3. Efeitos do exercício físico e restrição calórica nos parâmetros antropométricos, composição corporal, comprimento dos telômeros e marcadores de estresse oxidativo.

	INT		CTL		Interação Grupo-Tempo <i>p</i> valor	Diferenças entre grupos após intervenção	
	PRÉ (n = 70)	PÓS (n = 58)	PRÉ (n = 35)	PÓS (n = 27)		EMD (95CI)	<i>p</i> valor
Peso corporal (kg)	88,0±14,0	82,3±11,9	84,9±12,9	82,1±11,1	<0,001	-4,5 (-5,5; -3,5)	<0,0001
IMC (kg/m ²)	35,4±4,7	33,2±4,1	34,5±4,0	34,3 ± 4,2	<0,001	-1,8 (-2,2; -1,4)	<0,0001
RCQ	0,98±0,08	0,95±0,08	0,99±0,09	0,99 ±0,09	<0,001	-0,05 (-0,06; -0,03)	<0,0001
Massa gorda (kg)	41,2±8,2	36,8±7,4	39,6±8,0	39,6±7,8	<0,001	-4,2 (-5,0; -3,5)	<0,0001
Massa magra (kg)	42,2±7,9	41,8±6,9	41,3±6,9	39,1±4,9	0,598		
MMA/IMC	0,51±0,12	0,54±0,11	0,51±0,12	0,48±0,09	<0,001	0,04 (0,03; 0,05)	
FPM/IMC	0,54±0,17	0,72±0,19	0,58±0,18	0,54±0,17	<0,001	0,21 (0,18; 0,25)	
	PRÉ (n = 70)	PÓS (n = 57)	PRÉ (n = 35)	PÓS (n = 27)			
CT (T/S)	0,975±0,05	0,991±0,04	0,987±0,05	0,986±0,05	0,0355	0,014 (0,001; 0,027)	0,040
	PRÉ (n = 70)	PÓS (n = 58)	PRÉ (n = 35)	PÓS (n = 27)			
TBARS (eq. MDA uM)	1,95±0,81	1,99±0,85	1,94±0,53	2,25 ±0,94	0,0467	-0,31 (-0,57; -0,04)	0,007

GPx (umol GSH/min/m L)	404,2±51,2	414,8±45,1	402,3±39,5	396,5±38,0	0,0640
GR (umol NADPH/min /mL)	48,38±3,05	48,47±4,49	48,51±2,38	49,02±2,46	0,6127
GST (pmol GSH conjugado/m in/mL)	18,3±9,2	21,2±8,8	19,3±9,7	18,7±8,2	0,1730
SOD (% inibição/2 uL)	22,16±4,86	23,29±4,42	22,05±5,69	22,62±3,94	0,3139
CAT (U/mL)	6,31±2,61	6,27±3,14	6,01±2,88	5,68±2,16	0,6077

Comparações baseadas no modelo misto linear com análise de medidas repetidas ajustadas pelo valor inicial. Dados apresentados com média±DP; diferença média estimada (EMD) e 95% do intervalo de confiança (95CI). Abreviações: INT (suplementação de proteína + suplementação de placebo agrupados); CTL: controle (sem intervenção); IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura quadril; MMA/IMC: massa magra apendicular ajustada pelo IMC; FPM/IMC: força de preensão manual ajustada pelo IMC; CT: comprimento do telômero; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx: glutational peroxidase; GR: glutational redutase; GST: glutational S-transferase; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; **Negrito** indica $p \leq 0,05$.

6.4 Correlações de medidas repetidas

Foram conduzidas correlações de medidas repetidas entre as mudanças no comprimento dos telômeros e os resultados secundários, exibidos na Tabela 4. O aumento no comprimento dos telômeros foi positivamente correlacionado com as mudanças na razão entre a força de preensão manual pelo IMC, FPM/IMC ($p=0,041$), nos níveis de atividade de GPx ($p=0,048$), além de apresentar uma tendência à significância entre as mudanças no TBARS ($p=0,078$), e negativamente correlacionado com as mudanças no peso corporal, IMC, RCQ e massa gorda total (todos $p < 0,05$). Nenhuma outra associação significativa foi encontrada entre as mudanças no comprimento dos telômeros e a massa magra, MMA/IMC ou qualquer outro marcador de estresse oxidativo (GR, GST, SOD ou a atividade da catalase) (todos $p > 0,05$).

No *cluster* INT, resultados semelhantes foram observados, exceto por correlações positivas entre mudanças no comprimento do telômero e mudanças na razão FPM/IMC, que

mostraram tendências em direção à significância ($p>0,05$). Ao analisar os grupos de forma independente, encontramos correlações entre mudanças no peso corporal, IMC, RCQ, massa gorda, FPM/IMC e atividade GPx no grupo PTN. Além disso, uma tendência em direção à significância foi encontrada entre mudanças no comprimento do telômero e mudanças em MMA/IMC ($p=0,072$). Por outro lado, no grupo PLA observamos apenas uma correlação negativa entre a mudança no comprimento dos telômeros e a alteração do IMC, embora tendências tenham sido encontradas para correlações com RCQ e massa gorda total (ambos $p<0,10$). Nenhuma correlação significativa foi observada nos grupos PLA ou CTL.

Tabela 4. Correlação de medidas repetidas entre o comprimento dos telômeros e os parâmetros antropométricos, massa gorda total, massa magra total e marcadores de estresse oxidativo,

	Amostra total (n=84)		INT (n=57)		PTN (n=28)		PLA (n=29)		CTL (n=27)	
	r	p valor	r	p valor	r	p valor	r	p valor	r	p valor
Peso corporal	-0,37	0,001	-0,39	0,005	-0,37	0,001	-0,32	0,107	-0,19	0,350
IMC	-0,40	<0,001	-0,41	0,002	-0,49	0,011	-0,42	0,028	-0,21	0,302
RCQ	-0,34	0,003	-0,37	0,006	-0,43	0,026	-0,35	0,072	-0,05	0,812
Massa gorda	-0,37	0,001	-0,38	0,006	-0,37	0,001	-0,34	0,087	-0,27	0,176
Massa magra	0,00	0,980	-0,07	0,614	0,00	0,980	-0,03	0,881	0,16	0,432
MMA/IMC	0,16	0,167	0,15	0,292	0,36	0,072	0,05	0,798	0,27	0,181
FPM/IMC	0,23	0,041	0,24	0,092	0,46	0,019	0,17	0,419	0,17	0,405
GPx	0,23	0,048	0,31	0,031	0,23	0,048	0,14	0,137	0,00	0,985
TBARS	0,21	0,078	0,21	0,157	0,21	0,078	0,24	0,249	0,32	0,105
GR	0,04	0,712	0,03	0,832	-0,20	0,331	0,08	0,711	0,11	0,590
GST	-0,10	0,394	-0,14	0,322	0,00	0,990	-0,25	0,224	0,06	0,778
SOD	0,08	0,478	0,09	0,549	0,07	0,731	0,10	0,635	0,16	0,433
CAT	-0,15	0,202	-0,23	0,116	-0,34	0,094	-0,18	0,389	0,13	0,523

Dados apresentados como média±DP. Abreviações: INT (suplementação de proteína + suplementação de placebo agrupados); PTN: suplementação de proteína; PLA: suplementação de placebo; CTL: controle (sem intervenção); IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura quadril; MMA/IMC: massa magra apendicular ajustada pelo IMC; FPM/IMC: força de preensão manual ajustada pelo IMC; GPx: glutatona peroxidase; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GR: glutatona redutase; GST: glutatona S-transferase; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; **Negrito** indica $p\leq 0,05$.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

7. DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou investigar o efeito combinado da suplementação de proteína com treinamento físico e restrição calórica no comprimento do telômero e nos marcadores de estresse oxidativo de idosos com obesidade sarcopênica. Os achados revelaram que: (i) uma abordagem multidisciplinar combinando as estratégias do treinamento físico e restrição calórica melhorou os parâmetros relacionados à obesidade e à sarcopenia com benefícios adicionais observados após a suplementação de proteína; (ii) o treinamento físico e a restrição calórica melhoraram o comprimento do telômero e atenuaram as alterações nos níveis de TBARS sem nenhum efeito adicional da suplementação de proteína; e (iii) as melhorias no comprimento do telômero foram positivamente correlacionadas com alterações nos níveis de TBARS, atividade de GPx e FPM/IMC, e negativamente correlacionadas com as reduções no peso corporal, IMC, RCQ e massa gorda total.

A análise primária demonstrou que combinar o treinamento físico e restrição calórica melhorou significativamente os parâmetros relacionados à obesidade (peso corporal, IMC, RCQ, massa gorda total) e à sarcopenia (MMA/IMC e FPM/IMC), com maiores efeitos advindos da suplementação de proteína nas variáveis peso corporal, IMC e MMA/IMC em relação ao PLA, corroborando seu valor terapêutico no tratamento de idosos com obesidade sarcopênica. É sabido que o tratamento mais indicado para a redução de gordura corporal na obesidade sarcopênica é combinar o exercício físico a estratégias nutricionais.⁹ A capacidade do exercício como contramedida para conter a perda da massa magra durante o envelhecimento, e/ou para melhorar força muscular, desempenho físico e reduzir a massa gorda em idosos com obesidade sarcopênica é cada vez mais evidente.^{167,193,201} Particularmente, o treinamento físico combinado (aeróbico e força na mesma sessão), utilizado em nosso protocolo, se mostrou anteriormente mais eficaz em reduzir deposição de gordura ectópica, melhorar a funcionalidade física e metabólica entre adultos mais velhos com obesidade do que quando comparada aos treinos de força e aeróbico isoladamente.²²⁷ Nossos resultados estão de acordo com a literatura que mostra que combinar o treinamento de força com o aeróbico, sozinhos ou atrelados ao consumo de proteína, reduz a massa gorda, apesar de os benefícios não se traduzirem necessariamente em aumento de massa muscular.¹⁷⁶

Apesar dos desafios na aplicação prática da RC na população de idosos com obesidade sarcopênica em função dos efeitos adversos já mencionados na massa magra (muscular e óssea),^{102,226} o presente trabalho mostrou que a RC de aproximadamente 450 calorias (dados não apresentados) garantindo a necessidade diária de minerais (1.500 mg de cálcio/dia e 1.000 UI de vitamina D/dia) pode ser aplicada de forma segura para fins de redução de gordura sem apresentar prejuízos à saúde muscular. Isso foi confirmado pela melhora apresentada na massa magra apendicular e na força de preensão manual ajustadas pelo IMC (MMA/IMC e FPM/IMC, respectivamente) e pela maior magnitude do benefício na MMA/IMC conferida ao combinar a suplementação de proteína à RC e ao treinamento físico. Esta recomendação está alinhada com trabalhos anteriores²²⁶ que destacaram o papel crucial dos micronutrientes (magnésio, cálcio, vitamina D etc.) nos indivíduos com obesidade sarcopênica uma vez que a ingestão insuficiente está relacionada ao desenvolvimento da sarcopenia.¹⁹¹ Por este motivo, foi necessário garantir a ingestão de micronutrientes durante o protocolo de restrição calórica deste trabalho, uma vez que tal deficiência poderia tornar-se um fator de confusão para os resultados.³¹⁹

O comprimento dos telômeros é influenciado por diversos fatores biológicos,¹³⁷ ambientais,^{42,43,129} condições crônicas (por exemplo, obesidade e sarcopenia) e estilo de vida.^{66,133,181,184,294} Sua taxa de atrito pode influenciar profundamente a estabilidade do genoma, bem como a saúde geral do organismo.²⁹⁴ Inclusive, além de marcador de envelhecimento biológico, o CT pode ser um preditivo para riscos na saúde.²⁹⁹ Como o encurtamento dos telômeros está intimamente ligado a senescência celular, distúrbios sistêmicos, desenvolvimento de doenças relacionadas à idade^{58,131,299} e aumento do risco de mortalidade por todas as causas,^{43,55,58,131,165} é interessante promover intervenções de estilo de vida para retardar ou neutralizar¹⁷⁸ o encurtamento a fim de evitar suas consequências patológicas.²⁹⁴

O objetivo primário deste trabalho foi responder se a suplementação de proteínas combinada ao treinamento físico e restrição calórica alterou o comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica. Os resultados da análise primária não apontaram diferenças estatísticas entre grupo e tempo, revelando que não houve efeito adicional da suplementação de proteínas na biologia dos telômeros. Na literatura, é bem estabelecido o

benefício associado ao consumo de alimentos saudáveis (ricos em frutas, vegetais, grãos e legumes) no comprimento dos telômeros.¹⁷⁸⁻¹⁸³ No entanto, o efeito do consumo de proteínas permanece incerto. Sabe-se que a alta ingestão de carne vermelha (rico em proteínas),^{129,185} alimentos ultraprocessados,¹⁸⁷ açúcar artificial e bebidas açucaradas são prejudiciais aos telômeros.¹⁸⁶ Por outro lado, a suplementação de outros componentes, por exemplo o chá verde, já foram capazes de alongar os telômeros de mulheres obesas.^{188,189} Contudo, cada vez mais pesquisas mostram que o conteúdo nutricional dos alimentos se configura como um aspecto relevante para o consumo e seus potenciais benefícios e malefícios.¹⁸⁶ Um exemplo disso é o conteúdo de aminoácidos essenciais com propriedades antioxidantes do *whey protein* (i.e. cisteína, precursora da GSH) que, diferente da carne vermelha, parece atenuar a inflamação,^{18,304} o que poderia indiretamente favorecer os telômeros.

No entanto, neste trabalho a suplementação de 40g de *whey protein* no café da manhã por 16 semanas não se mostrou suficiente para modificar o comprimento nos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica. Este resultado está alinhado com a maioria dos estudos de intervenção com suplementos que não observou alterações no comprimento telomérico.¹⁹⁰ Uma explicação para isso pode ser a relação controversa entre nutrição e longevidade, bem como a quantidade de proteína utilizada.¹⁷³ Se por um lado são sugeridas dietas ricas em proteínas para melhorar a massa e força muscular de idosos e/ou para conter a perda durante o envelhecimento, de outro estudos epidemiológicos sugerem sua associação a um maior risco de doenças.¹⁷³ Além disso, uma recomendação mais recente sugeriu um consumo de 1,2 a 1,5 g/kg/dia como ideal para indivíduos em condições de restrição calórica (RC).²⁰⁰ Como a suplementação oferecida em nosso protocolo atingiu o consumo médio de aproximadamente 1,2g/kg/dia, é possível que esta quantidade tenha sido suficiente apenas para melhorar os parâmetros da sarcopenia e obesidade, mas não para promover ganhos a nível genômico.¹⁷³

Embora a literatura demonstre que os benefícios do treinamento físico se estendem a biologia dos telômeros, prevenindo o desgaste e/ou até mesmo alongando-os,²²⁸ nossos resultados não puderam demonstrar o efeito do exercício separadamente da intervenção como um todo devido à natureza do desenho experimental. Porém, sabe-se que, geralmente as melhorias no CT ocorrem através do treinamento aeróbio,²²⁹⁻²³¹ já que poucos trabalhos

avaliaram o treinamento de força.^{114,232} Notavelmente, uma recente meta-análise sugeriu que combinar os exercícios de força e aeróbio traz maiores benefícios ao CT do que cada um deles isoladamente.²³³ Isso pode ser verificado no estudo prospectivo de Brandao e colaboradores que observaram um aumento de 2% no comprimento dos telômeros de mulheres obesas pré-menopausa após oito semanas de treinamento combinado (3 sessões por semana).¹⁰³ Apesar das evidências, a intervenção do atual trabalho demonstrou apenas uma tendência à significância para interações grupo por tempo no comprimento do telômero ($p = 0,082$). Vale mencionar que, mesmo com as mudanças significativas nas medidas antropométricas e de composição corporal resultantes da intervenção, parte da amostra ainda permanece com obesidade. Portanto, a inflamação crônica, cujo mecanismo está entre os principais responsáveis pelo atrito dos telômeros, persiste e pode explicar a ausência de alteração no comprimento dos telômeros inicialmente.

Curiosamente, os resultados da análise secundária apresentaram um aumento significativo no comprimento dos telômeros no *cluster* INT quando comparado ao CTL, sugerindo que tal mudança pode ter relação com outros fatores que não a suplementação proteica diretamente, mas com a RC, exercício físico e/ou com o efeito da intervenção como um todo na composição corporal. A alteração no CT pode ser explicada pela perda de peso, como já demonstrado anteriormente em obesos.^{103,138,139,209} Altas magnitudes de redução de peso corporal, como na cirurgia bariátrica, revelaram recuperação no comprimento telomérico,^{209,210} confirmando o potencial deste artifício para retardar o envelhecimento.^{139,173} Corroborando com esta ideia, Mason e colaboradores descobriram que uma perda e manutenção de 5 a 10% do peso corporal por 12 meses possibilita o aumento dos telômeros entre indivíduos adultos com obesidade.²³⁵ Assim, os dados da análise secundária estão em concordância com estudos anteriores pois alterações no comprimento dos telômeros de idosos com obesidade sarcopênica foram observados com uma perda de peso de aproximadamente 7% após os 4 meses.

Os grupos PTN e PLA também receberam suplementos de cálcio e vitamina D, o que pode ter contribuído para os efeitos positivos observados no comprimento do telômero e nos marcadores de estresse oxidativo no grupo INT.¹⁷⁹ Outra possibilidade para explicar o aumento no CT pode ter relação específica com a redução do estresse oxidativo.²²¹ O estresse

oxidativo, idade e presença de comorbidades foram anteriormente associadas a menor CT,²³⁶ bem como à patogênese de diversas doenças,²¹⁴ já que a fonte principal das ERO é a inflamação e/ou disfunção mitocondrial.²¹⁹ A nível molecular, o estresse oxidativo pode alterar o DNA e tem sido associado à redução do comprimento dos telômeros.²⁴⁸ De fato, um experimento com cultura de fibroblastos humanos mostrou que o estresse oxidativo leve acelerou o encurtamento dos telômeros,⁴⁷ possivelmente através do dano oxidativo ao DNA.²¹⁹ Evidências recentes indicam que mudanças no estilo são capazes de promover saúde através da redução da carga inflamatória e oxidativa do organismo.^{178,294} Um exemplo disso é a redução no estresse oxidativo induzida pelo treinamento físico, capaz de melhorar as defesas antioxidantes e proteger contra danos celulares, mesmo em idosos.^{240,257}

Além disso, a RC foi anteriormente associada a biomarcadores de envelhecimento e longevidade,²¹³ e correlacionada aos telômeros de maior comprimento em adultos mais jovens,¹⁷⁴ sugerindo um envolvimento na regulação telomérica através da melhora dos marcadores do estresse oxidativo.^{259,265,332} De fato, estudos mostram a correlação positiva entre o encurtamento no CT e biomarcadores do estresse oxidativo no envelhecimento.²³⁷ O aumento do CT pode ser devido a redução do estresse oxidativo através do aumento na defesa oxidante e/ou na boa remoção na eliminação das ERO.²⁸⁷ A RC parece reduzir o estresse oxidativo via aumento das defesas antioxidantes, incluindo glutathione oxidada e reduzida (GSH/GSSG),²²⁰ e prevenção no declínio das enzimas antioxidantes SOD e catalase,^{221,222} o que poderia explicar a redução de danos celulares^{215,223} e justificar uma possível ação protetiva aos telômeros. O cenário contrário, ou seja, uma maior depleção de glutathione²²⁴ e a presença de produtos da peroxidação lipídica²²⁵ parecem inibir o reparo do DNA e induzir o estresse oxidativo. Ainda, vários genes antienvhecimento, incluindo aqueles envolvidos na produção de enzimas antioxidantes, reparo de DNA e autofagia, são ativados e regulados positivamente pela restrição calórica, impactando diretamente os telômeros.¹⁷³ Além disso, a RC melhora sensibilidade à insulina,¹⁷³ e a sinalização do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1),²¹⁷ que são fatores interligados a glicotoxicidade e lipotoxicidade e fontes de ERO contribuintes para manutenção do estresse oxidativo. Assim, é possível que o benefício aos telômeros neste trabalho seja advindo da melhora na saúde metabólica, derivada da perda de peso.²¹⁶ Inclusive, pode-se argumentar

que mudanças perceptíveis nos resultados da composição corporal tendem a se manifestar mais cedo como consequência da intervenção aplicada, enquanto efeitos mensuráveis no comprimento do telômero e no estresse oxidativo podem levar mais tempo para ocorrer.

Neste trabalho foi explorada a atividade enzimática antioxidante de CAT, SOD, GPx, GR e GST e não houve interações de grupo e tempo para os marcadores no decorrer das análises (todos $p > 0,05$). GPx, GR e GST são parte do sistema principal glutathiona e atuam juntamente com a SOD na eliminação do peróxido de hidrogênio e de hidroperóxidos lipídicos.²²¹ A GPx é a enzima responsável pela oxidação de glutathiona reduzida (GSH), formando o dissulfeto de glutathiona (GSSG), assim como a conversão GSSG novamente à glutathiona reduzida GSH ocorre pela ação da glutathiona redutase (GR).²⁷⁸ O excesso de GSSG (glutathiona oxidada) e/ou a depleção de GSH são indicadores de estresse oxidativo.²⁷⁹ A glutathiona S-transferase (GST) participa na catalização das reações desintoxicantes da GSH.²⁸⁰

Os dados a respeito de antioxidantes na literatura variam conforme a idade e/ou atividade física e são inconsistentes. Durante o envelhecimento, há um declínio da atividade antioxidante^{276,285} e um aumento dos agentes pró-oxidantes.^{246,247} No entanto, a expressão da CAT, por exemplo, foi maior em idosos treinados ao longo da vida^{282,283} e em idosos ativos comparados aos sedentários, assim como os valores de SOD e GR.²⁷⁶ Além disso, a atividade da CAT medida no músculo esquelético dos idosos foi maior após treino de força.²⁸¹ Em contrapartida aos resultados deste trabalho, um ECR de 8 semanas de treino aeróbio demonstrou que as atividades musculares de CAT e SOD2 aumentaram nos idosos, indicando o potencial do exercício na capacidade antioxidante.²⁸⁴ Contrastando esta ideia, uma maior produção de hidroperóxido de hidrogênio (H₂O₂), marcador de estresse oxidativo, foi observada após 16 semanas de exercício aeróbio.²⁶⁴ A hipótese, assim como neste estudo, era de que a intervenção reduzisse o estresse oxidativo,²⁶⁴ no entanto este dado contraditório corrobora com outros achados sobre o fato de a contração muscular *per se* aumentar acentuadamente a produção de ERO.²⁶⁴⁻²⁶⁶ Além disso, a correlação entre o declínio significativo no CT com biomarcadores de estresse oxidativo²³⁷ não foi confirmada por todos os trabalhos.²³⁸ Um ECR de mulheres obesas de meia-idade que realizaram treinamento aeróbio por 6 meses demonstrou que, apesar de um aumento nos marcadores de estresse

oxidativo (GPx e MDA), este não foi acompanhado pela alteração no comprimento dos telômeros.²³⁸ Vale o destaque para o fato de que a maior peroxidação lipídica neste caso não foi suficiente para atingir toxicidade ao organismo, o que pode ser visto como um resultado positivo.

A peroxidação lipídica no presente trabalho foi mensurada através do TBARS, método de medição que quantifica substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (incluindo, mas não se limitando ao MDA), como marcador de estresse oxidativo.²¹⁰ Altos níveis de peroxidação lipídica da membrana podem levar a respostas inflamatórias e à proliferação celular/apoptose.²⁸⁷ Curiosamente, a atividade física parece ser responsável por reduzir os níveis de peroxidação lipídica em idosos.^{286,290} Além disso, idosos fisicamente ativos mostram níveis de peroxidação lipídica semelhantes a jovens sedentários,^{286,288} e níveis mais baixos de MDA quando comparados aos pares inativos.²⁹⁰ No atual trabalho, a análise primária de TBARS não mostrou diferenças estatísticas entre os grupos após 16 semanas de intervenção, apesar de uma tendência à significância para interações grupo por tempo ter sido observada ($p = 0,051$). Embora não reproduzidos nos resultados do presente trabalho, o MDA plasmático já foi anteriormente associado a mudanças positivas (reduções) induzidas pelo exercício na massa e função muscular de idosos.²⁸⁹ Ainda, um estudo realizado em mulheres que realizaram treinamento de força mostrou aumento na capacidade antioxidante total ao mesmo tempo que reduziu os níveis de MDA.²⁹⁰ Inclusive, o efeito do treinamento combinado parece ser semelhante.²⁹¹

Inicialmente, a ausência de alteração dos valores de TBARS após a intervenção pode ser um indicativo de que a capacidade antioxidante resistiu ao aumento na produção de ERO. Isto é, é possível que a intervenção com exercício físico, RC e suplementação de proteína promova benefícios no sistema redox e na prevenção de danos ao DNA sem que ocorra alterações nos marcadores.²⁹⁶ De forma interessante, a análise secundária encontrou significância nos níveis de TBARS, com um aumento aparentemente impulsionado principalmente pelos valores de CTL, indicando uma possível influência positiva do exercício físico e restrição calórica. Uma importante discussão consiste em que por mais que haja aumento na atividade enzimática antioxidante como resposta ao exercício, muitas vezes esta não é suficiente para prevenir o estresse oxidativo presente nos idosos. Isso pode explicar

o aumento observado nos níveis de TBARS após as 16 semanas, decorrentes provavelmente do próprio envelhecimento. Em geral, o conjunto de evidências disponíveis sobre a influência do estresse oxidativo no encurtamento dos telômeros mostra pouca associação com a defesa antioxidante especificamente.²⁹⁴ Além disso, como o efeito principal apareceu na análise secundária, pode-se argumentar que o estudo pode não ter tido poder estatístico suficiente para detectar pequenas diferenças entre os grupos.

Poucos trabalhos avaliaram de fato idosos com obesidade sarcopênica. Gutiérrez-López e colegas mostraram os efeitos de um programa de exercícios combinados de intensidade moderada no dano oxidativo (mensurados por TBARS e MDA) em mulheres idosas com obesidade sarcopênica comparadas aos pares saudáveis. Após três meses de intervenção foi verificado que o dano oxidativo diminuiu e a defesa antioxidante aumentou em maior extensão em mulheres com obesidade sarcopênica. Vale referir que o estresse oxidativo já era maior duas vezes maior antes do início do programa, e que houve redução na gordura corporal de forma significativa,²⁶¹ o que pode explicar os benefícios observados na peroxidação lipídica e na redução dos danos oxidativos.²¹⁰ A prática do exercício físico promove adaptações celulares benéficas através de um aumento fisiológico das ERO bem como da atividade das enzimas antioxidantes, garantindo a homeostase dos diversos tecidos.^{292,293} A perda de peso intencional, por sua vez, seja por meio de dieta ou exercício, reduz o estresse oxidativo em indivíduos obesos²¹⁰ e parece ser uma estratégia importante no tratamento de patologias caracterizadas por presença de estresse oxidativo.

Por fim, foi conduzida a análise de correlação entre as mudanças observadas no comprimento dos telômeros e mudanças em múltiplos resultados secundários, abrangendo toda a amostra. A análise mostrou correlações fracas a moderadamente significativas. O aumento no comprimento dos telômeros foi positivamente correlacionado com as mudanças FPM/IMC, que reflete melhorias na funcionalidade muscular e na sarcopenia. Infelizmente tal correlação não se manteve na análise do *cluster* INT, marcando apenas uma tendência. Vale destacar a correlação positiva encontrada entre CT e os níveis de atividade de GPx. Uma maior atividade de GPx induzida por atividade física em idosos não praticantes de atividade física foi verificada.²⁷⁶ A amostra do presente trabalho é semelhante ao trabalho citado, pois os idosos obesos sarcopênicos incluídos neste estudo não praticavam exercícios antes do

início da intervenção. No geral, a GPx parece reduzir com a idade, indicando que o aumento observado em sua atividade (capacidade antioxidante) pode ser advindo do benefício do exercício físico ou restrição calórica.²⁷⁷ Assim, é possível inferir que este resultado tenha relação com o aumento do CT identificado no grupo INT. Curiosamente, níveis mais altos de antioxidantes não indicam necessariamente uma proteção maior.³¹³ Isto é, baseado no conceito de “hormese”, a presença dos baixos níveis de radicais livres promove adaptações benéficas ao meio,²⁶⁷ enquanto em doses mais altas é prejudicial. A defesa antioxidante reduzida nos idosos somada ao comprometimento do sistema imunológico (incapaz de eliminar todas as células senescentes)²⁴⁸ leva a alterações da homeostase redox, resultando em inflamação²²² e no aparecimento de doenças relacionadas à idade.^{246,249} A presença de comorbidades impacta ainda mais o desequilíbrio redox,^{250,251} levando a um risco aumentado de complicações metabólicas e aceleração do atrito telomérico.^{129,250-252}

As alterações positivas no CT foram negativamente correlacionadas com as mudanças no peso corporal, IMC, RCQ e massa gorda total. De fato, estudos anteriores demonstraram uma correlação negativa entre parâmetros relacionados à obesidade (como IMC, RCQ e massa de gordura corporal) e comprimento do telômero.⁶⁷ Inversamente, a massa muscular esquelética foi positivamente associada ao comprimento do telômero.^{344,359} Assim, o encurtamento do telômero na obesidade sarcopênica parece ser parcialmente impulsionado pelo estresse oxidativo associado à alta adiposidade e à baixa massa muscular.⁸⁹ Uma revisão recente reforça ainda mais essa ligação, mostrando que a maioria dos estudos experimentais indica uma conexão entre o desgaste do telômero e o estresse oxidativo, fornecendo uma base para nossa hipótese inicial de que melhorar a composição corporal poderia reduzir o estresse oxidativo e ajudar a mitigar o encurtamento do telômero.¹⁴⁸

É importante ressaltar que, quando analisadas separadamente, a maioria das correlações persistiu apenas no *cluster* INT e PTN, mas não nos grupos PLA e CTL, sugerindo que as associações gerais foram impulsionadas principalmente por mudanças entre os participantes do grupo PTN. Embora essa conjectura possa parecer contradizer as evidências atuais sobre a suplementação de proteína de soro de leite para esses propósitos específicos,³⁰³ a literatura anterior apoia o papel de dietas ricas em proteínas e com restrição energética na preservação da massa muscular magra, ao mesmo tempo em que promovem

maiores reduções de peso corporal e perdas de massa gorda,⁵⁷ especialmente quando combinadas com exercícios,¹⁵⁵ o que pode ter impactado positivamente o estresse oxidativo e, finalmente, desacelerado a taxa de encurtamento do telômero. Portanto, é razoável supor que as maiores mudanças observadas nos parâmetros relacionados à obesidade e à sarcopenia entre os participantes do PTN podem estar relacionadas a essas associações.

Os pontos fortes deste estudo são seu robusto desenho experimental, que apresenta um ensaio randomizado com braços de controle rigoroso de placebo e controle sem intervenção, juntamente com monitoramento próximo de exercícios e parâmetros dietéticos para garantir alta conformidade com as intervenções. Além disso, este trabalho é um dos primeiros a avaliar o comprimento dos telômeros e o estresse oxidativo nos idosos com obesidade sarcopênica.

No entanto, este trabalho não é isento de limitações. Primeiro, como esta pesquisa está aninhada em um estudo maior, a estimativa do tamanho da amostra foi calculada a priori considerando a massa livre de gordura como o desfecho primário. Visto que encontramos efeito no CT apenas ao unificar os grupos, é possível que a falta de significância em nossa análise primária possa ser devido ao poder insuficiente. Segundo, não avaliamos a atividade da telomerase, o que poderia oferecer ideias a respeito dos mecanismos envolvidos nas mudanças observadas (ou a ausência delas) no comprimento do telômero, principalmente sobre a influência do exercício físico já que o desenho não abrangeu um grupo comparativo que realizasse somente o treinamento físico, sem a restrição calórica. Terceiro, mesmo que a literatura mostre que o tempo de intervenção entre os trabalhos varia de 3 meses a 1 ano,²⁹⁴ não se pode descartar que o estudo teve duração relativamente curta e pode não ser suficiente para observar alterações a nível genômico, além de dificultar conclusões mais profundas sobre a eficácia e viabilidade da intervenção em prazos mais longos. Quarto, existem considerações sobre a medição do comprimento dos telômeros e sobre os marcadores de estresse oxidativo. Além de seu comprimento variar bastante entre indivíduos (4 a 15 kb aproximadamente),⁴⁴ a relação T/S não é uma medida direta da região telomérica e não há uma medida padrão-ouro clara, e por isso a metodologia é muito heterogênea.²⁹⁴ Além disso, muitos trabalhos utilizam estimativas relativas para mensurar o CT e não valores absolutos, assim a precisão é dificultada.²⁹⁵ Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, há

diversas limitações referente a sua mensuração. Embora existam vários biomarcadores disponíveis, os métodos de medição são variáveis, pouco reprodutíveis e muitas vezes imprecisos, dificultando a aplicação e os resultados.^{297,298} Ainda, utilizar mais de um biomarcador para medir o estresse oxidativo pode ser interessante para melhor caracterizar a resposta celular aos estímulos. O sistema glutationa poderia ter sido mais bem explorado para obter maiores informações sobre o estado de saúde física dos idosos.^{281,299} O marcador de dano oxidativo 8-hidroxi-2-desoxiguanosina poderia ter sido incluído para melhorar a precisão da mensuração do dano ao DNA, uma vez que é um marcador específico de dano da região telomérica.⁶⁴

Em resumo, as descobertas sugerem que o treinamento físico e a restrição calórica podem oferecer uma opção não farmacológica valiosa para gerenciar o comprimento do telômero e o estresse oxidativo em idosos com obesidade sarcopênica. Em períodos mais longos, a suplementação de proteína pode influenciar positivamente o envelhecimento saudável ao apoiar maiores mudanças no peso corporal, IMC, RCQ, massa gorda, MMA/IMC, FPM/IMC e marcadores de estresse oxidativo (particularmente níveis de TBARS e atividade de GPx).

8. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente trabalho, o treinamento físico e a restrição calórica podem oferecer uma opção não farmacológica valiosa para gerenciar o comprimento do telômero e o estresse oxidativo em idosos com obesidade sarcopênica uma vez que o tratamento foi capaz de aumentar o comprimento dos telômeros e atenuar o estresse oxidativo desta população. Além disso, adicionar a suplementação de proteína é eficiente para melhorar os parâmetros relacionados à obesidade e à sarcopenia especificamente, exercendo benefício adicional nestes parâmetros.

Assim, apesar do efeito conhecido da perda de peso resultante da restrição calórica em reverter o encurtamento acelerado dos telômeros e retardar o envelhecimento, o exercício físico mostrou ser uma abordagem eficaz na melhora da composição corporal e na redução

do estresse oxidativo em idosos com obesidade sarcopênica, enfatizando a importância da atividade física e alimentação para atenuar os comprometimentos associados ao envelhecimento. Em geral, nossos resultados estão em concordância com estudos anteriores e apresentaram fortes evidências de que intervenções no estilo de vida podem influenciar os telômeros, reduzindo atrito e/ou retardando seu encurtamento.

Ainda não está claro se os benefícios encontrados no comprimento dos telômeros são decorrentes do melhor perfil de inflamação e estresse oxidativo ou de mecanismos indiretos associados as mudanças para um estilo de vida mais saudável. São necessários mais estudos para melhor explorar os mecanismos. Por fim, o estudo reitera a importância de aumentar a atividade física e hábitos saudáveis para melhorar os marcadores de saúde e atenuar a senescência celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nations, U, 2017. World Population Prospects: The 2017 Revisions, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No ESA/P/WP/248.
2. Organization, W. H. World report on ageing and health. World Health Organization, 2015. 9241565047.
3. Flatt T. A new definition of aging? *Front Genet.* 2012;3:148.
4. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013 Jun 6;153(6):1194-217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039. PMID: 23746838; PMCID: PMC3836174.
5. Breen L and Phillips SM. Interactions between exercise and nutrition to prevent muscle waste during ageing. *Br J Clin Pharmacol* 2012. 75:3 708–715. Doi:10.1111/j.1365-2125.2012.04456.x
6. Walrand S, Gryson C, Salles J, Giraudet C, Migné C, Bonhomme C, Le Ruyet P, Boirie Y. Fast-digestive protein supplement for ten days overcomes muscle anabolic resistance in healthy elderly men. *Clin Nutr.* 2016 Jun;35(3):660-8. doi: 10.1016/j.clnu.2015.04.020. Epub 2015 May 8. PMID: 26008820
7. Garatachea N, Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, et al. Exercise attenuates the major hallmarks of aging. *Rejuvenation research.* 2015; 18(1):57–89.
8. Zamboni, M., Rossi, A.P., Fantin, F., Zamboni, G., Chirumbolo, S., Zoico, E., Mazzali, G., 2014. Adipose tissue, diet and aging. *Mech. Ageing Dev.* 136–137, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2013.11.008>.
9. Batsis JA, Villareal DT. Sarcopenic obesity in older adults: aetiology, epidemiology and treatment strategies. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Sep;14(9):513-537. doi: 10.1038/s41574-018-0062-9. PMID: 30065268; PMCID: PMC6241236.
10. Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB, Abellan van Kan G, Andrieu S, Bauer J, Breuille D, Cederholm T, Chandler J, De Meynard C, Donini L, Harris T, Kannt A, Keime Guibert F, Onder G, Papanicolaou D, Rolland Y, Rooks D, Sieber C, Souhami E, Verlaan S, Zamboni M. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc.* 2011 May;12(4):249-56. doi: 10.1016/j.jamda.2011.01.003. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21527165; PMCID: PMC3377163.
11. Fougère B, Boulanger E, Nourhashémi F, Guyonnet S, Cesari M. Chronic Inflammation: Accelerator of Biological Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2017 Sep 1;72(9):1218-1225. doi: 10.1093/gerona/glw240. Retraction in: *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2019 Feb 15;74(3):431. doi: 10.1093/gerona/gly284. PMID: 28003373.
12. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, Cooper C, Landi F, Rolland Y and Sayer AA. Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP2) and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* 2019, 48, 16–31.
13. Chang MC, Choo YJ. Effects of Whey Protein, Leucine, and Vitamin D Supplementation in Patients with Sarcopenia: A Systematic Review and Meta-

- Analysis. *Nutrients*. 2023 Jan 19;15(3):521. doi: 10.3390/nu15030521. PMID: 36771225; PMCID: PMC9920795
14. Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Newman AB, Nevitt M, Rubin SM, et al. Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005;60:324–33. <http://dx.doi.org/10.1093/gerona/60.3.324>.
 15. Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, Morley JE. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res* 2004;12:1995–2004. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2004.250>.
 16. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH; World Obesity Federation. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev*. 2017 Jul;18(7):715-723. doi: 10.1111/obr.12551. Epub 2017 May 10. PMID: 28489290.
 17. Bluher M. Fat tissue and long life. *Obes Facts* 2008;1:176–82
 18. Zhou LM, Xu JY, Rao CP, Han S, Wan Z, Qin LQ. Effect of whey supplementation on circulating C-reactive protein: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2015 Feb 9;7(2):1131-43. doi: 10.3390/nu7021131. PMID: 25671415; PMCID: PMC4344580
 19. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019 May;15(5):288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8. PMID: 30814686
 20. Colleluori G, Villareal DT. Aging, obesity, sarcopenia and the effect of diet and exercise intervention. *Exp Gerontol*. 2021 Nov;155:111561. doi: 10.1016/j.exger.2021.111561. Epub 2021 Sep 23. PMID: 34562568; PMCID: PMC8807026.
 21. Santanasto AJ, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Miljkovic I, Satterfield S, Schwartz AV, Cummings SR, Boudreau RM, Harris TB, Newman AB. Body Composition Remodeling and Mortality: The Health Aging and Body Composition Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2017 Apr 1;72(4):513-519. doi: 10.1093/gerona/glw163. PMID: 27567109; PMCID: PMC5897837.
 22. Guo W, Pirtskhalava T, Tchkonja T, Xie W, Thomou T, Han J, Wang T, Wong S, Cartwright A, Hegardt FG, Corkey BE, Kirkland JL. Aging results in paradoxical susceptibility of fat cell progenitors to lipotoxicity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007 Apr;292(4):E1041-51. doi: 10.1152/ajpendo.00557.2006. Epub 2006 Dec 5. PMID: 17148751.
 23. Giordano A, Murano I, Mondini E, Perugini J, Smorlesi A, Severi I, Barazzoni R, Scherer PE, Cinti S. Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J Lipid Res*. 2013 Sep;54(9):2423-36. doi: 10.1194/jlr.M038638. Epub 2013 Jul 8. PMID: 23836106; PMCID: PMC3735940.
 24. Lumeng CN, Liu J, Geletka L, Delaney C, Delproposto J, Desai A, Oatmen K, Martinez-Santibanez G, Julius A, Garg S, Yung RL. Aging is associated with an increase in T cells and inflammatory macrophages in visceral adipose tissue. *J Immunol*. 2011 Dec 15;187(12):6208-16. doi: 10.4049/jimmunol.1102188. Epub 2011 Nov 9. PMID: 22075699; PMCID: PMC3237772.
 25. Koster A, Ding J, Stenholm S, Caserotti P, Houston DK, Nicklas BJ, et al. Does the amount of fat mass predict age-related loss of lean mass, muscle strength, and muscle

- quality in older adults? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66A:888–95. <http://dx.doi.org/10.1093/gerona/glr070>.
26. Brinkley TE, Hsu FC, Beavers KM, et al. Total and abdominal adiposity are associated with inflammation in older adults using a factor analysis approach. *The Journals of gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*. 2012 Oct;67(10):1099-1106. DOI: 10.1093/gerona/gls077. PMID: 22451470; PMCID: PMC3437966.
 27. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, Simonsick EM, Tykavsky FA, Visser M, Newman AB. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Oct;61(10):1059-64. doi: 10.1093/gerona/61.10.1059. PMID: 17077199.
 28. Roubenoff, R. Sarcopenic obesity: The confluence of two epidemics. *Obes. Res.* 2004, 12, 887–888
 29. Roh E, Choi KM. Health consequences of sarcopenic obesity: a narrative review. *Front Endocrinol*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00332>.
 30. Baumgartner RN. Body composition in healthy aging. *Ann N Y Acad Sci* 2006;904:437–48. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06498.x>.
 31. Theodorakopoulos C, Jones J, Bannerman E, Greig CA. Effectiveness of nutritional and exercise interventions to improve body composition and muscle strength or function in sarcopenic obese older adults: A systematic review. *Nutr Res*. 2017 Jul;43:3-15. doi: 10.1016/j.nutres.2017.05.002. Epub 2017 May 11. PMID: 28739051.
 32. Van Aller C, Lara J, Stephan BCM, Donini LM, Heymsfield S, Katzmarzyk PT, Wells JCK, Prado CM, Siervo M. Sarcopenic obesity and overall mortality: Results from the application of novel models of body composition phenotypes to the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. *Clin Nutr*. 2019 Feb;38(1):264-270. doi: 10.1016/j.clnu.2018.01.022. Epub 2018 Feb 15. PMID: 29499977.
 33. Zhang X, Xie X, Dou Q, Liu C, Zhang W, Yang Y, Deng R, Cheng ASK. Association of sarcopenic obesity with the risk of all-cause mortality among adults over a broad range of different settings: a updated meta-analysis. *BMC Geriatr*. 2019 Jul 3;19(1):183. doi: 10.1186/s12877-019-1195-y. PMID: 31269909; PMCID: PMC6610788.
 34. Hong SH, Choi KM. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan 13;21(2):494. doi: 10.3390/ijms21020494. PMID: 31941015; PMCID: PMC7013734
 35. Saretzki G. Telomeres, Telomerase and Ageing. *Biochemistry and Cell Biology of Ageing: Part I Biomedical Science*. 2018; Subcellular Biochemistry 90 (Chapter 9). https://doi.org/10.1007/978-981-13-2835-0_9
 36. Moyzis RK, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1988; 85:6622–6626.
 37. de Lange T. How telomeres solve the end-protection problem. *Science*. 2009;326(5955):948–952. doi:10.1126/science.1170633

38. Kerasioti E, Stagos D, Priftis A, Aivazidis S, Tsatsakis AM, Hayes AW, Kouretas D. Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. *Food Chem.* 2014 Jul 15;155:271-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.066. Epub 2014 Jan 30. PMID: 24594185
39. Kong CM, Lee XW and Wang X. Telomere shortening in human diseases. *FEBS Journal* 280 (2013) 3180–3193. doi:10.1111/febs.12326
40. Wang LJ, Ma F, Tang B, Zhang CY. Sensing telomerase: From in vitro detection to in vivo imaging. *Chem Sci.* 2017 Apr 1;8(4):2495-2502. doi: 10.1039/c6sc04801c. Epub 2016 Dec 13. PMID: 28553482; PMCID: PMC5431678.
41. Sanders JL, Newman AB. Telomere length in epidemiology: a biomarker of aging, age-related disease, both, or neither? *Epidemiol Rev* (2013) 35:112–131. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxs008>
42. Srinivas N, Rachakonda S, Kumar R. Telomeres and Telomere Length: A General Overview. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 28;12(3):558. doi: 10.3390/cancers12030558. PMID: 32121056; PMCID: PMC7139734.
43. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet.* 2003; 361:393–395. [PubMed: 12573379]
44. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, Desai K, Granick M, Aviv A. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun.* 2013;4:1597. doi: 10.1038/ncomms2602. PMID: 23511462; PMCID: PMC3615479
45. Mons U, Muezzinler A, Schöttker B, Dieffenbach AK, Butterbach K, Schick M, Peasey A, De Vivo I, Trichopoulou A, Boffetta P, Brenner H (2017) Leukocyte telomere length and all-cause, cardiovascular disease, and cancer mortality: results from individual-participant-data meta-analysis of 2 large prospective cohort studies. *Am J Epidemiol* 185(12):1317–1326. <https://doi.org/10.1093/aje/kww210>
46. Trajano LASN, Trajano ETL, Silva MAS, Stumbo AC, Mencalha AL, da Fonseca, AS. Genomic stability and telomere regulation in skeletal muscle tissue. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 98 (2018) 907–915. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.004>
47. Von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 2002; 27:339–344)
48. Sidorov I, Kimura M, Yashin A, et al. Leukocyte telomere dynamics and human hematopoietic stem cell kinetics during somatic growth. *Exp Hematol.* 2009;37(4):514–524.
49. Maciejowski J, de Lange T. Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 18 (2017) 175–186. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2016.171>
50. Lima LCJ, Simões HG. Telômeros: estrutura, função e relação com o exercício físico. *R. bras. Ci. e Mov* 2014;22(4):185-201.
51. Derosa G, D'Angelo A, Maffioli P. Change of some oxidative stress parameters after supplementation with whey protein isolate in patients with type 2 diabetes. *Nutrition.* 2020 May;73:110700. doi: 10.1016/j.nut.2019.110700. Epub 2019 Dec 14. PMID: 32065880

52. Saliques S, Zeller M, Lorin J, et al. Telomere length and cardiovascular disease. *Arch Cardiovasc Dis.* 2010;103(8-9):454–459. doi:10.1016/j.acvd.2010.08.002
53. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1965;37:614–636. doi:10.1016/0014-4827(65)90211-9
54. Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD, van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530(7589):184–189. <https://doi.org/10.1038/nature16932>
55. Wang Q, Zhan Y, Pedersen NL, Fang F, Hägg S. Telomere Length and All-Cause Mortality: A Meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2018;48:11–20. doi:10.1016/j.arr.2018.09.002
56. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet.* 2012 Oct;13(10):693-704. doi: 10.1038/nrg3246. Epub 2012 Sep 11. Erratum in: *Nat Rev Genet.* 2013 Mar;14(3):235. PMID: 22965356; PMCID: PMC3548426.
57. Wycherley TP, Moran LJ, Clifton PM, Noakes M, Brinkworth GD. Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard-protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(6):1281-98
58. Haycock PC, Heydon EE, Kaptoge S, Butterworth AS, Thompson A, Willeit P. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2014; 349:g4227. doi.org/10.1136/bmj.g4227
59. Ivancich M, Schrank Z, Wojdyla L, Leviskas B, Kuckovic A, Sanjali A, Puri N. Treating cancer by targeting telomeres and telomerase. *Antioxid. (Basel.)* 6 (2017) E15, <http://dx.doi.org/10.3390/antiox6010015>
60. Richter T, von Zglinicki T (2007) A continuous correlation between oxidative stress and telomere shortening in fibroblasts. *Exp Gerontol* 42(11):1039–1042
61. Monickaraj F, Gokulakrishnan K, Prabu P, Sathishkumar C, Anjana RM, Rajkumar JS, et al. Convergence of adipocyte hypertrophy, telomere shortening and hypoadiponectinemia in obese subjects and in patients with type 2 diabetes. *Clin Biochem* 2012;45:1432-8.
62. Müezziner A, Zaineddin AK, Brenner H. Body mass index and leukocyte telomere length in adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2014;15(3):192-201.
63. Scandalios JG. Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005, 38, 995–1014.
64. Liguori I, Russo G, Aran L, Bulli G, Curcio F, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Sarcopenia: assessment of disease burden and strategies to improve outcomes. *Clin Interv Aging.* 2018 May 14;13:913-927. doi: 10.2147/CIA.S149232. PMID: 29785098; PMCID: PMC5957062.
65. Hector AJ, Marcotte GR, Churchward-Venne TA, et al. Whey protein supplementation preserves postprandial myofibrillar protein synthesis during short-term energy restriction in overweight and obese adults. *J Nutr* 2015; 145:246–252.
66. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet* 2005;366:662-4.

67. Mundstock E, Sarria EE, Zatti H, Mattos Louzada F, Kich Grun L, Herbert Jones M, et al. Effect of obesity on telomere length: systematic review and meta-analysis. *Obesity* 2015;23:2165–74.
68. Murphy CH, Churchward-Venne TA, Mitchell CJ, Kolar NM, Kassis A, Karagounis LG, Burke LM, Hawley JA, Phillips SM. Hypoenergetic diet-induced reductions in myofibrillar protein synthesis are restored with resistance training and balanced daily protein ingestion in older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015 May 1;308(9):E734-43. doi: 10.1152/ajpendo.00550.2014. Epub 2015 Mar 3. PMID: 25738784; PMCID: PMC4420900
69. Lee M, Martin H, Firpo MA, Demerath EW. Inverse association between adiposity and telomere length: The Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol.* 2011 JanFeb;23(1):100-6. doi: 10.1002/ajhb.21109. PMID: 21080476; PMCID: PMC3245638.
70. Njajou OT, Cawthon RM, Blackburn EH, Harris TB, Li R, Sanders JL, Newman AB, Nalls M, Cummings SR, Hsueh WC. Shorter telomeres are associated with obesity and weight gain in the elderly. *Int J Obes (Lond).* 2012 Sep;36(9):1176-9. doi: 10.1038/ijo.2011.196. Epub 2011 Oct 18. PMID: 22005719; PMCID: PMC3408817.
71. Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, Richards JB, Gardner JP, Surdulescu GL, Kimura M, Lu X, Spector TD, Aviv A. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Arch Intern Med.* 2008 Jan 28;168(2):154-8. doi: 10.1001/archinternmed.2007.39. PMID: 18227361
72. Markofski MM, Jennings K, Timmerman KL, Dickinson JM, Fry CS, et al. 2019. Effect of aerobic exercise training and essential amino acid supplementation for 24 weeks on physical function, body composition and muscle metabolism in healthy, independent older adults: a randomized clinical trial. *J. Gerontol. A* 74:1598–604
73. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, Psaty BM, Jenny NS, Tracy RP, et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *Am J Epidemiol* 2007;165:14-21.
74. Shin YA. How Does Obesity and Physical Activity Affect Aging?: Focused on Telomere as a Biomarker of Aging. *J Obes Metab Syndr.* 2019 Jun;28(2):92-104. doi: 10.7570/jomes.2019.28.2.92. Epub 2019 Jun 30. PMID: 31294341; PMCID: PMC6604845
75. Khosravaniardakani S, Bokov DO, Mahmudiono T, Hashemi SS, Nikrad N, Rabieemotmaen S, Abbasalizad-Farhangi M. Obesity Accelerates Leukocyte Telomere Length Shortening in Apparently Healthy Adults: A Meta-Analysis. *Front Nutr.* 2022 May 26;9:812846. doi: 10.3389/fnut.2022.812846. PMID: 35719148; PMCID: PMC9199514.
76. Marzetti E, Calvani R, Cesari M, et al. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(10):2288–2301. PubMed doi:10.1016/j.biocel.2013.06.024
77. Liu CK, Lyass A, Larson MG, et al. Biomarkers of oxidative stress are associated with frailty: the Framingham Offspring Study. *Age (Dordr).* 2016;38(1):1.
78. Gomes MJ, Martinez PF, Pagan LU, et al. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. *Oncotarget.* 2017; 8(12):20428–20440.

79. Tumova, J., Andel, M., & Trnka, J. (2016). Excess of free fatty acids as a cause of metabolic dysfunction in skeletal muscle. *Physiological research*, 65(2), 193.
80. Lorenzi M, Bonassi S, Lorenzi T, Giovannini S, Bernabei R, Onder G. A review of telomere length in sarcopenia and frailty. *Biogerontology*. 2018;19. <https://doi.org/10.1007/s10522-018-9749-5>.
81. Loprinzi PD, Loenneke JP. Lower Extremity Muscular Strength and Leukocyte Telomere Length: Implications of Muscular Strength in Attenuating Age-Related Chronic Disease. *J Phys Act Health*. 2016 Apr;13(4):454-7. doi: 10.1123/jpah.2015-0120. Epub 2015 Aug 27. PMID: 26314088.
82. Schragger MA, Metter EJ, Simonsick E, Ble A, Bandinelli S, Lauretani F, et al. Sarcopenic obesity and inflammation in the InCHIANTI study. *J Appl Physiol*. 2007;102. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00627.2006>.
83. Shamas MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011;14. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834121b1>.
84. Meng SJ and Yu LJ, 2010. Oxidative Stress, Molecular Inflammation and Sarcopenia. *Int. J. Mol. Sci*. 2010, 11, 1509-1526; doi:10.3390/ijms11041509
85. Kalinkovich A, Livshits G. Sarcopenic obesity or obese sarcopenia: a cross talk between age-associated adipose tissue and skeletal muscle inflammation as a main mechanism of the pathogenesis. *Ageing Res Rev*. (2017) 35:200–21. doi: 10.1016/j.arr.2016.09.008
86. Bellanti F, Romano AD, Lo Buglio A, Castriotta V, Guglielmi G, Greco A, Serviddio G, Vendemiale G. Oxidative stress is increased in sarcopenia and associated with cardiovascular disease risk in sarcopenic obesity. *Maturitas*. 2018 Mar;109:6-12. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.12.002. Epub 2017 Dec 5. PMID: 29452783.
87. Maltais ML, Perreault K, Courchesne-Loyer A, Lagacé JC, Barsalani R, Dionne IJ. 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. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2016 Feb;26(1):71-7. doi: 10.1123/ijnsnem.2015-0160. PMID: 26894503
88. Barazzoni R, Bischoff SC, Boirie Y, Busetto L, Cederholm T, Dicker D, et al. Sarcopenic obesity: time to meet the challenge. *Clin Nutr*. 2018;37:1787–93.
89. Goddard T, Tsintzas K, Stephan BCM, Prado CM, Mazidi M, Siervo M. Sarcopenic obesity is associated with telomere shortening: findings from the NHANES 1999-2002. *Int J Obes (Lond)*. 2022 Feb;46(2):437-440. doi: 10.1038/s41366-021-00995z. Epub 2021 Nov 4. PMID: 34737398; PMCID: PMC8794780.
90. Flanagan EW, Most J, Mey JT, Redman LM. Calorie Restriction and Aging in Humans. *Annu Rev Nutr*. 2020 Sep 23;40:105-133. doi: 10.1146/annurev-nutr122319-034601. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32559388; PMCID: PMC9042193.
91. Trouwborst I, Verreijen A, Memelink R, Massanet P, Boirie Y, Weijs P, Tieland M. Exercise and Nutrition Strategies to Counteract Sarcopenic Obesity. *Nutrients*. 2018 May 12;10(5):605. doi: 10.3390/nu10050605. PMID: 29757230; PMCID: PMC5986485
92. Yin YH, Liu JYW, Välimäki M. Effectiveness of non-pharmacological interventions on the management of sarcopenic obesity: A systematic review and meta-analysis.

- Exp Gerontol. 2020 Jul 1;135:110937. doi: 10.1016/j.exger.2020.110937. Epub 2020 Mar 30. PMID: 32240820.
93. Goisser S, Kemmler W, Porzel S, Volkert D, Sieber CC, Bollheimer LC, Freiburger E. Sarcopenic obesity and complex interventions with nutrition and exercise in community-dwelling older persons--a narrative review. *Clin Interv Aging*. 2015 Aug 6;10:1267-82. doi: 10.2147/CIA.S82454. PMID: 26346071; PMCID: PMC4531044
 94. Weinheimer EM, Sands LP, Campbell WW. A systematic review of the separate and combined effects of energy restriction and exercise on fat-free mass in middle-aged and older adults: implications for sarcopenic obesity. *Nutr Rev*. 2010;68(7):375-88.
 95. Heymsfield SB, Smith R, Aulet M, Bensen B, Lichtman S, Wang J, Pierson RN Jr. Appendicular skeletal muscle mass: measurement by dual-photon absorptiometry. *Am J Clin Nutr*. 1990 Aug;52(2):214-8. doi: 10.1093/ajcn/52.2.214. PMID: 2375286
 96. Waters DL, Ward AL, Villareal DT. Weight loss in obese adults 65 years and older: a review of the controversy. *Experimental gerontology*. 2013;48(10):1054-61.
 97. Bauer J, Biolo G, Cederholm T, Cesari M, Cruz-Jentoft AJ, Morley JE, et al. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE study group. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14(8):542-59. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.05.021>
 98. Nana A, Slater GJ, Hopkins WG, Burke LM. Effects of daily activities on dual-energy X-ray absorptiometry measurements of body composition in active people. *Med Sci Sports Exerc*. 2012 Jan;44(1):180-9. doi: 10.1249/MSS.0b013e318228b60e. PMID: 22179140
 99. Verreijen AM, Verlaan S, Engberink MF et al. A high whey protein-, leucine- and vitamin D-enriched supplement preserves muscle mass during intentional weight loss in obese older adults: a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 101, n. 2, p. 279-286, Feb 2015.
 100. MacDermid J, Solomon G, Valdes K. *Clinical Assessment Recommendations*. 2015: American Society of Hand Therapists.
 101. Schroeder ET, Wang Y, Castaneda-Sceppa C, Cloutier G, Vallejo AF, Kawakubo M, Jensky NE, Coomber S, Azen SP, Sattler FR. Reliability of maximal voluntary muscle strength and power testing in older men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007 May;62(5):543-9. doi: 10.1093/gerona/62.5.543. PMID: 17522360
 102. Villareal DT, Aguirre L, Gurney AB, Waters DL, Sinacore DR, Colombo E, Armamento-Villareal R, Qualls C. Aerobic or Resistance Exercise, or Both, in Dieting Obese Older Adults. *N Engl J Med*. 2017 May 18;376(20):1943-1955. doi: 10.1056/NEJMoa1616338. PMID: 28514618; PMCID: PMC5552187
 103. Brandao CFC, Nonino CB, de Carvalho FG, Nicoletti CF, Noronha NY, San Martin R, de Freitas EC, Junqueira-Franco MVM, Marchini JS. The effects of short-term combined exercise training on telomere length in obese women: a prospective, interventional study. *Sports Med Open*. 2020 Jan 16;6(1):5. doi: 10.1186/s40798020-0235-7. PMID: 31950310; PMCID: PMC6965549
 104. Denham J, O'Brien BJ, Charchar FJ. Telomere Length Maintenance and Cardio-Metabolic Disease Prevention Through Exercise Training. *Sports Med*. 2016 Sep;46(9):1213-37. doi: 10.1007/s40279-016-0482-4. PMID: 26914269

105. Salem GJ, Wang M-Y, Sigward S. Measuring Lower Extremity Strength in Older Adults: The Stability of Isokinetic versus 1RM Measures. *Journal of Aging and Physical Activity*, 2002. 10(4): p. 489-503
106. LaRocca TJ, Seals DR, Pierce GL. Leukocyte telomere length is preserved with aging in endurance exercise-trained adults and related to maximal aerobic capacity. *Mech Ageing Dev.* 2010 Feb;131(2):165-7. doi: 10.1016/j.mad.2009.12.009. Epub 2010 Jan 12. PMID: 20064545; PMCID: PMC2845985
107. Puterman E, Weiss J, Lin J, Schilf S, Slusher A, Johansen KL, Epel ES, Aerobic exercise lengthens telomeres and reduces stress in family caregivers: A randomized controlled trial - Curt Richter Award Paper 2018, *Psychoneuroendocrinology* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.08.002>
108. Savela S, Saijonmaa O, Strandberg TE, Koistinen P, Strandberg AY, Tilvis RS, Pitkälä KH, Miettinen TA, Fyhrquist F. Physical activity in midlife and telomere length measured in old age. 2013. *Experimental Gerontology* 48 (2013) 81–84. doi:10.1016/j.exger.2012.02.003.
109. Soares-Miranda L, Imamura F, Siscovick D, Jenny NS, Fitzpatrick AL and Mozaffarian D. Physical Activity, Physical Fitness and Leukocyte Telomere Length: the Cardiovascular Health Study. *Med Sci Sports Exerc.* 2015 December ; 47(12): 2525–2534. doi:10.1249/MSS.0000000000000720
110. Silva LCR, de Araújo AL, Fernandes JR, Matias MST, Silva PR, Duarte AJS, Leme LEG and Benard G. Moderate and intense exercise lifestyles attenuate the effects of aging on telomere length and the survival and composition of T cell subpopulations. *Age* (2016) 38: 24. Doi: 10.1007/s11357-016-9879-0
111. Denham J, Nelson CP, O'Brien BJ, Nankervis SA, Denniff M, Harvey JT, Marques FZ, Codd V, Zukowska-Szczechowska E, Samani NJ, Tomaszewski M, Charchar FJ. Longer leukocyte telomeres are associated with ultra-endurance exercise independent of cardiovascular risk factors. *PLoS One.* 2013 Jul 31;8(7):e69377. doi: 10.1371/journal.pone.0069377. PMID: 23936000; PMCID: PMC3729964
112. Østhus IB, Sgura A, Berardinelli F, Alsnes IV, Brønstad E, Rehn T, Støbakk PK, Hatle H, Wisløff U, Nauman J. Telomere length and long-term endurance exercise: does exercise training affect biological age? A pilot study. *PLoS One.* 2012;7(12):e52769. doi: 10.1371/journal.pone.0052769. Epub 2012 Dec 26. PMID: 23300766; PMCID: PMC3530492
113. Loprinzi PD. Cardiorespiratory capacity and leukocyte telomere length among adults in the United States. *Am J Epidemiol* 2015; 182: 198–201.
114. Kadi F, Ponsot E, Piehl-Aulin K, Mackey A, Kjaer M, Oskarsson E, et al. The effects of regular strength training on telomere length in human skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40: 82–87).
115. Woo J, Yu R, Tang N, Leung J. Telomere length is associated with decline in grip strength in older persons aged 65 years and over. *Age (Dordr)* 2014; 36: 9711.
116. Mangge H, Renner W, Almer G, Gruber HJ, Zelzer S, Moeller R, Horejsi R, Herrmann M. Subcutaneous adipose tissue distribution and telomere length. *Clin*

- Chem Lab Med. 2019 Aug 27;57(9):1358-1363. doi: 10.1515/cclm-2018-0801. PMID: 30913032.
117. Studenski SA, Peters KW, Alley DE, Cawthon PM, McLean RR, Harris TB, Ferrucci L, Guralnik JM, Fragala MS, Kenny AM, Kiel DP, Kritchevsky SB, Shardell MD, Dam TT, Vassileva MT. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014 May;69(5):547-58. doi: 10.1093/gerona/glu010. PMID: 24737557; PMCID: PMC3991146.
 118. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res* 2002;30(10):e47
 119. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, Wu CO, Calado RT, Young NS. Association of Telomere Length of Peripheral Blood Leukocytes With Hematopoietic Relapse, Malignant Transformation, and Survival in Severe Aplastic Anemia. *JAMA*. 2010;304(12):1358–1364. doi:10.1001/jama.2010.1376
 120. Baumann CW, Kwak D, Liu HM, Thompson LV. Age-induced oxidative stress: how does it influence skeletal muscle quantity and quality? *J Appl Physiol Bethesda (1985)*. 2016;121(5):1047–1052.
 121. Brown, L. E.; Weir, J. P. ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power. *Journal of Exercise Physiology Online*, 4, n. 3, 2001.
 122. Roberts, H. C., Denison, H. J., Martin, H. J., Patel, H. P., Syddall, H., Cooper, C., & Sayer, A. A. (2011). A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: Towards a standardised approach. *Age and Ageing*, 40(4), 423–429. <https://doi.org/10.1093/ageing/afr051>
 123. Scagliusi FB, Polacow VO, Artioli GG, Benatti FB, Lancha AH Jr. Selective underreporting of energy intake in women: magnitude, determinants, and effect of training. *J Am Diet Assoc*. 2003 Oct;103(10):1306-13. doi: 10.1016/s0002-8223(03)01074-5. PMID: 14520248.
 124. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982;14(5):377-81. PMID: 7154893.
 125. Pachana NA, Byrne GJ, Siddle H, Koloski N, Harley E, Arnold E. Development and validation of the Geriatric Anxiety Inventory. *Int Psychogeriatr*. 2007 Feb;19(1):103-14. doi: 10.1017/S1041610206003504. PMID: 16805925.
 126. Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M, Leirer VO. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res*. 1982-1983;17(1):37-49. doi: 10.1016/0022-3956(82)90033-4. PMID: 7183759.
 127. American Thoracic, S. and P. American College of Chest, ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003. 167(2): p. 211-77.
 128. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 1956; 11: 298-300.
 129. Kirchner H, Shaheen F, Kalscheuer H, Schmid SM, Oster H, Lehnert H. The Telomeric Complex and Metabolic Disease. *Genes*. 2017; 8(7):176. <https://doi.org/10.3390/genes8070176>

130. Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med*. 2008 Feb 1;44(3):235-46. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.10.001. Epub 2007 Oct 10. PMID: 18021748.
131. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*. 2015 Dec 4;350(6265):1193-8. doi: 10.1126/science.aab3389. PMID: 26785477.
132. Von Zglinicki T, Martin-Ruiz CM, Saretzki G. Telomeres, cell senescence and human ageing. *Signal. Transduct*. 2005, 5, 103–114
133. Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB. Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. *Am J Clin Nutr*. 2010 May;91(5):1273-80. doi: 10.3945/ajcn.2009.28947. Epub 2010 Mar 10. PMID: 20219960; PMCID: PMC2854902.
134. Moshfegh AJ, Rhodes DG, Baer DJ, Murayi T, Clemens JC, Rumpler WV, Paul DR, Sebastian RS, Kuczynski KJ, Ingwersen LA, Staples RC, Cleveland LE. The US Department of Agriculture Automated Multiple-Pass Method reduces bias in the collection of energy intakes. *Am J Clin Nutr*. 2008 Aug;88(2):324-32. doi: 10.1093/ajcn/88.2.324. PMID: 18689367.
135. Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Junior AH. Validation of a portion-size measurement aid in a brazilian sample, in International Conference on Dietary Assessment Methods - Expanding the Horizon: Dietary Assessment in a Multi-Cultural World. 2003, Institute of Nutrition.
136. Rode L, Nordestgaard BG, Weischer M, Bojesen SE. Increased body mass index, elevated C-reactive protein, and short telomere length. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):E1671-E1675.
137. Gielen M, Hageman GJ, Antoniou EE, et al; TELOMAAS group. Body mass index is negatively associated with telomere length: a collaborative cross-sectional meta-analysis of 87 observational studies. *Am J Clin Nutr*. 2018;108(3):453-475.
138. Carulli L, Anzivino C, Baldelli E, Zenobii MF, Rocchi MB, Bertolotti M. Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults. *Mol Genet Metab*. 2016 Jun;118(2):138-42. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.04.003. Epub 2016 Apr 22. PMID: 27157420;
139. Welendorf C, Nicoletti CF, Pinhel MAS, Noronha NY, de Paula BMF, Nonino CB. Obesity, weight loss, and influence on telomere length: New insights for personalized nutrition. *Nutrition*. 2019 Oct;66:115-121. doi: 10.1016/j.nut.2019.05.002. Epub 2019 May 24. PMID: 31255876.
140. Wiedmer P, Jung T, Castro JP, Pomatto LCD, Sun PY, Davies KJA, Grune T. Sarcopenia - Molecular mechanisms and open questions. *Ageing Res Rev*. 2021 Jan;65:101200. doi: 10.1016/j.arr.2020.101200. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33130247.
141. Papadopoulou SK. Sarcopenia: A Contemporary Health Problem among Older Adult Populations. *Nutrients*. 2020; 12(5):1293. <https://doi.org/10.3390/nu12051293>
142. Argyropoulou D, Geladas ND, Nomikos T, Paschalis V. Exercise and Nutrition Strategies for Combating Sarcopenia and Type 2 Diabetes Mellitus in Older

- Adults. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*. 2022; 7(2):48. <https://doi.org/10.3390/jfmk7020048>
143. Kim TN, Park MS, Yang SJ, Yoo HJ, Kang HJ, Song W, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Baik SH, Choi DS, Choi KM. Prevalence and determinant factors of sarcopenia in patients with type 2 diabetes: the Korean Sarcopenic Obesity Study (KSOS). *Diabetes Care*. 2010 Jul;33(7):1497-9. doi: 10.2337/dc09-2310. Epub 2010 Apr 22. Erratum in: *Diabetes Care*. 2010 Oct;33(10):2294. PMID: 20413515; PMCID: PMC2890348.
 144. Wolfe RR. Effects of insulin on muscle tissue. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2000; 3, 67–71
 145. Langie SA, Lara J, Mathers JC. Early determinants of the ageing trajectory. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2012 Oct;26(5):613-26. doi: 10.1016/j.beem.2012.03.004. Epub 2012 May 22. PMID: 22980044.
 146. Lee PG, Halter JB. The Pathophysiology of Hyperglycemia in Older Adults: Clinical Considerations. *Diabetes Care*. 2017 Apr;40(4):444-452. doi: 10.2337/dc16-1732. PMID: 28325795.
 147. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Choudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK and Pakuwal U. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention* 2014, 15(11), 4405-4409.
 148. Reichert S, Stier A. 2017 Does oxidative stress shorten telomeres in vivo? A review. *Biol. Lett.* 13: 20170463. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2017.0463>
 149. Polyzos SA, Margioris AN. Sarcopenic obesity. *Hormones (Athens)*. 2018 Sep;17(3):321-331. doi: 10.1007/s42000-018-0049-x. Epub 2018 Jul 16. PMID: 30014320.
 150. Turner KJ, Vasu V, Griffin DK. Telomere Biology and Human Phenotype. *Cells*. 2019; 8(1):73. <https://doi.org/10.3390/cells8010073>
 151. Hayflick L. The illusion of cell immortality. *Br J Cancer*. 2000 Oct;83(7):841-6. doi: 10.1054/bjoc.2000.1296. PMID: 10970682; PMCID: PMC2374692.
 152. Shay JW, Wright WE. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol*. 2011 Dec;21(6):349-53. doi: 10.1016/j.semcancer.2011.10.001. Epub 2011 Oct 17. PMID: 22015685; PMCID: PMC3370415.
 153. Newman AB, Lee JS, Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Tylavsky FA, Nevitt M, Harris TB. Weight change and the conservation of lean mass in old age: the Health, Aging and Body Composition Study. *Am J Clin Nutr*. 2005 Oct;82(4):872-8; quiz 915-6. doi: 10.1093/ajcn/82.4.872. PMID: 16210719.
 154. Martínez-Amat A, Aibar-Almazán A, Fábrega-Cuadros R, Cruz-Díaz D, Jiménez-García JD, Pérez-López FR, Achalandabaso A, Barranco-Zafra R, Hita-Contreras F. Exercise alone or combined with dietary supplements for sarcopenic obesity in community-dwelling older people: A systematic review of randomized controlled trials. *Maturitas*. 2018 Apr;110:92-103. doi: 10.1016/j.maturitas.2018.02.005. Epub 2018 Feb 13. PMID: 29563041.
 155. Liao CD, Tsao JY, Wu YT, Cheng CP, Chen HC, Huang YC, Chen HC, Liou TH. Effects of protein supplementation combined with resistance exercise on body composition and physical function in older adults: a systematic review and meta-

- analysis. *Am J Clin Nutr*. 2017 Oct;106(4):1078-1091. doi: 10.3945/ajcn.116.143594. Epub 2017 Aug 16. PMID: 28814401.
156. Lee PY, Costumbrado J, Hsu CY, Kim YH. Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *J Vis Exp*. 2012 Apr 20;(62):3923. doi: 10.3791/3923. PMID: 22546956; PMCID: PMC4846332.
 157. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3, 5-dichloro- 2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980, 26/2, 227-231.
 158. Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105: 114-21, 1984.
 159. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 1985. 113: 485-490.
 160. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974; 249(22):7130-7139.
 161. Conti M, Morand PC, Levillain P, Lemonnier A. Improved fluorometric determination of malonaldehyde. *Clin Chem*. 1991 Jul;37(7):1273-5. PMID: 1855301.
 162. Bakdash JZ, Marusich LR. Repeated Measures Correlation. *Front Psychol*. 2017 Apr 7;8:456. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00456. Erratum in: *Front Psychol*. 2019 May 28;10:1201
 163. Breen L, Phillips SM. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of ageing. *Nutr Metab (Lond)*. 2011 Oct 5;8:68. doi: 10.1186/1743-7075-8-68. PMID: 21975196; PMCID: PMC3201893.
 164. Wu CJ, Kao TW, Lin YY, Liaw FY, Wu LW, Chang YW, Peng TC, Chen WL. Examining the association between anthropometric parameters and telomere length and mortality risk. *Oncotarget*. 2017 May 23;8(21):34057-34069. doi: 10.18632/oncotarget.15976. PMID: 28423661; PMCID: PMC5470951.
 165. Schneider CV, Schneider KM, Teumer A, Rudolph KL, Hartmann D, Rader DJ, Strnad P. Association of Telomere Length With Risk of Disease and Mortality. *JAMA Intern Med*. 2022 Mar 1;182(3):291-300. doi: 10.1001/jamainternmed.2021.7804.
 166. Kob R, Bollheimer LC, Bertsch T, Fellner C, Djukic M, Sieber CC, Fischer BE. Sarcopenic obesity: molecular clues to a better understanding of its pathogenesis? *Biogerontology*. 2015 Feb;16(1):15-29. doi: 10.1007/s10522-014-9539-7. Epub 2014 Nov 7. PMID: 25376109.
 167. Hita-Contreras F, Bueno-Notivol J, Martínez-Amat A, Cruz-Díaz D, Hernandez AV, Pérez-López FR. Effect of exercise alone or combined with dietary supplements on anthropometric and physical performance measures in community-dwelling elderly people with sarcopenic obesity: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Maturitas*. 2018 Oct;116:24-35. doi: 10.1016/j.maturitas.2018.07.007. Epub 2018 Jul 19. PMID: 30244776.

168. Salvestrini V, Sell C, Lorenzini A. Obesity May Accelerate the Aging Process. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 May 3;10:266. doi: 10.3389/fendo.2019.00266. PMID: 31130916; PMCID: PMC6509231.
169. Cleasby ME, Jamieson PM, Atherton PJ. Insulin resistance and sarcopenia: mechanistic links between common co-morbidities. *J Endocrinol*. 2016 May;229(2):R67-81. doi: 10.1530/JOE-15-0533. Epub 2016 Mar 1. PMID: 26931135.
170. Xie WQ, Xiao GL, Fan YB, He M, Lv S, Li YS. Sarcopenic obesity: research advances in pathogenesis and diagnostic criteria. *Aging Clin Exp Res*. 2021 Feb;33(2):247-252. doi: 10.1007/s40520-019-01435-9. Epub 2019 Dec 16. PMID: 31845200.
171. Marzetti E, Lorenzi M, Antocicco M, Bonassi S, Celi M, Mastropaolo S, Settanni S, Valdiglesias V, Landi F, Bernabei R, Onder G. Shorter telomeres in peripheral blood mononuclear cells from older persons with sarcopenia: results from an exploratory study. *Front Aging Neurosci*. 2014 Aug 28;6:233. doi: 10.3389/fnagi.2014.00233. PMID: 25221511; PMCID: PMC4147848.
172. Prokopidis K, Mazidi M, Sankaranarayanan R, Tajik B, McArdle A, Isanejad M. Effects of whey and soy protein supplementation on inflammatory cytokines in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr*. 2023 Mar 14;129(5):759-770. doi: 10.1017/S0007114522001787. Epub 2022 Jun 16. PMID: 35706399; PMCID: PMC9975787
173. Ekmekcioglu C. Nutrition and longevity - From mechanisms to uncertainties. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(18):3063-3082. doi: 10.1080/10408398.2019.1676698. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31631676.
174. Kark JD, Goldberger N, Kimura M, Sinnreich R, Aviv A. Energy intake and leukocyte telomere length in young adults. *Am J Clin Nutr*. 2012 Feb;95(2):479-87. doi: 10.3945/ajcn.111.024521. Epub 2012 Jan 11. PMID: 22237065; PMCID: PMC3260074.
175. Hastings WJ, Ye Q, Wolf SE, Ryan CP, Das SK, Huffman KM, Kobor MS, Kraus WE, MacIsaac JL, Martin CK, Racette SB, Redman LM, Belsky DW, Shalev I. Effect of long-term caloric restriction on telomere length in healthy adults: CALERIE™ 2 trial analysis. *Aging Cell*. 2024 Jun;23(6):e14149. doi: 10.1111/accel.14149. Epub 2024 Mar 19. PMID: 38504468; PMCID: PMC11296136.
176. Kim H, Kim M, Kojima N, Fujino K, Hosoi E, Kobayashi H, Somekawa S, Niki Y, Yamashiro Y, Yoshida H. Exercise and Nutritional Supplementation on Community-Dwelling Elderly Japanese Women With Sarcopenic Obesity: A Randomized Controlled Trial. *J Am Med Dir Assoc*. 2016 Nov 1;17(11):1011-1019. doi: 10.1016/j.jamda.2016.06.016. Epub 2016 Aug 17. PMID: 27544583.
177. Amamou T, Normandin E, Pouliot J, Dionne IJ, Brochu M, Riesco E. Effect of a High-Protein Energy-Restricted Diet Combined with Resistance Training on Metabolic Profile in Older Individuals with Metabolic Impairments. *J Nutr Health Aging*. 2017;21(1):67-74. doi: 10.1007/s12603-016-0760-8. PMID: 27999852
178. Marti A, Fernández de la Puente M, Canudas S, Zalba G, Razquin C, Valle-Hita C, Fitó M, Martínez-González MÁ, García-Calzón S, Salas-Salvadó J. Effect of a 3-year lifestyle intervention on telomere length in participants from PREDIMED-

- Plus: A randomized trial. *Clin Nutr.* 2023 Sep;42(9):1581-1587. doi: 10.1016/j.clnu.2023.06.030. Epub 2023 Jul 10. PMID: 37478811
179. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, Paximadas D, Kimura M, Nessa A, et al. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(5):1420-5
 180. Hess, M.A., Portion photos of popular foods. 1997: American Dietetic Association
 181. Crous-Bou M, Fung TT, Prescott J, Julin B, Du M, Sun Q, et al. Mediterranean diet and telomere length in Nurses' Health Study: population based cohort study. *BMJ* 2014;349:g6674. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.g6674>.
 182. American College of Sports, M., et al., American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2009. 41(7): p. 1510-30.
 183. Balan E, Decottignies A, Deldicque L. Physical Activity and Nutrition: Two Promising Strategies for Telomere Maintenance? *Nutrients.* 2018 Dec 7;10(12):1942. doi: 10.3390/nu10121942. PMID: 30544511; PMCID: PMC6316700
 184. Latifovic L, Peacock SD, Massey TE, King WD. The Influence of Alcohol Consumption, Cigarette Smoking, and Physical Activity on Leukocyte Telomere Length. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016 Feb;25(2):374-80. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-1364. Epub 2015 Dec 9. PMID: 26656293
 185. Nettleton JA, Diez-Roux A, Jenny NS, Fitzpatrick AL, Jacobs DR Jr. Dietary patterns, food groups, and telomere length in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2008 Nov;88(5):1405-12. doi: 10.3945/ajcn.2008.26429. PMID: 18996878; PMCID: PMC3037593
 186. Li C, Zhang Y, Zhang K, Fu H, Lin L, Cai G, Zhang X, Yang X, Zhang Z, Yang Z, Zhang B. Association Between Ultraprocessed Foods Consumption and Leucocyte Telomere Length: A Cross-Sectional Study of UK Biobank. *J Nutr.* 2024 May 11:S0022-3166(24)00273-6. doi: 10.1016/j.tjnut.2024.05.001. Epub ahead of print. PMID: 38735573
 187. Alonso-Pedrero L, Ojeda-Rodríguez A, Martínez-González MA, Zalba G, Bes-Rastrollo M, Martí A. Ultra-processed food consumption and the risk of short telomeres in an elderly population of the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Project. *Am J Clin Nutr.* 2020 Jun 1;111(6):1259-1266. doi: 10.1093/ajcn/nqaa075. PMID: 32330232
 188. Nonino CB, Pinhanelli VC, Noronha NY, Quinhoneiro DCG, Pinhel MS, De Oliveira BAP, Marchini JS, Nicoletti CF. Green tea supplementation promotes leukocyte telomere length elongation in obese women. *Nutr Hosp.* 2018 Jun 10;35(3):570-575. English. doi: 10.20960/nh.1392. PMID: 29974764
 189. Sohn I, Shin C, Baik I. Associations of green tea, coffee, and soft drink consumption with longitudinal changes in leukocyte telomere length. *Sci Rep.* 2023 Jan 10;13(1):492. doi: 10.1038/s41598-022-26186-y. PMID: 36627320; PMCID: PMC9832020
 190. Qiao S, Jiang Y, Li X. The Impact of Health Promotion Interventions on Telomere Length: A Systematic Review. *Am J Health Promot.* 2020 Jul;34(6):633-647. doi: 10.1177/0890117120906958. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32103672

191. Cheah KJ, Cheah LJ. Benefits and side effects of protein supplementation and exercise in sarcopenic obesity: A scoping review. *Nutr J*. 2023 Oct 23;22(1):52. doi: 10.1186/s12937-023-00880-7. PMID: 37872544; PMCID: PMC10591413.
192. Ristow M, Zarse K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol*. 2010 Jun;45(6):410-8. doi: 10.1016/j.exger.2010.03.014. Epub 2010 Mar 27. PMID: 20350594.
193. Hsu KJ, Liao CD, Tsai MW, Chen CN. Effects of Exercise and Nutritional Intervention on Body Composition, Metabolic Health, and Physical Performance in Adults with Sarcopenic Obesity: A Meta-Analysis. *Nutrients*. 2019 Sep 9;11(9):2163. doi: 10.3390/nu11092163. PMID: 31505890; PMCID: PMC6770949
194. Magkos F, Hjorth MF, Asping S, et al. A protein-supplemented very-low calorie diet does not mitigate reductions in lean mass and resting metabolic rate in subjects with overweight or obesity: a randomized controlled trial. *Clin Nutr* 2021; 40:5726–5733
195. Abbatecola AM, Paolisso G, Fattoretti P, Evans WJ, Fiore V, Dicioccio L, Lattanzio F. Discovering pathways of sarcopenia in older adults: a role for insulin resistance on mitochondria dysfunction. *J Nutr Health Aging*. 2011 Dec;15(10):890-5. doi: 10.1007/s12603-011-0366-0. PMID: 22159778.
196. Deutz NEP, Bauer JM, Barazzoni R, Biolo G, Boirie Y, et al. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN expert group. *Clin Nutr*. 2014;33:929–36. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2014.04.007>
197. Morley JE, Argiles JM, Evans WJ, Bhasin S, Cella D, et al. Nutritional recommendations for the management of sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2010;11(6):391–6. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2010.04.014>
198. Moore DR. Maximizing postexercise anabolism: the case for relative protein intakes. *Front Nutr* 2019; 6:147
199. Morton RW, Murphy KT, McKellar SR, et al. A systematic review, metaanalysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. *Br J Sports Med* 2018; 52:376–384
200. Janssen TAH, Van Every DW, Phillips SM. The impact and utility of very low-calorie diets: the role of exercise and protein in preserving skeletal muscle mass. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2023 Nov 1;26(6):521-527. doi: 10.1097/MCO.0000000000000980. Epub 2023 Sep 7. PMID: 37724991; PMCID: PMC10552824
201. Eglseer D, Traxler M, Schoufour JD, Weijs PJM, Voortman T, Boirie Y, Cruz-Jentoft AJ, Reiter L, Bauer S; SO-NUTS Consortium. Nutritional and exercise interventions in individuals with sarcopenic obesity around retirement age: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 2023 Aug 10;81(9):1077-1090. doi: 10.1093/nutrit/nuad007. Erratum in: *Nutr Rev*. 2024 May 10;82(6):848. doi: 10.1093/nutrit/nuad087. PMID: 36882046; PMCID: PMC10413430.
202. Nabuco, HCG; Effect of whey protein supplementation combined with resistance training on body composition, muscular strength, functional capacity, and plasma-metabolism biomarkers in older women with sarcopenic obesity: A

- randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition ESPEN*, Volume 32, 88 – 95. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.04.007>
203. American College of Sports, M., et al., American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*, 2009. 41(7): p. 1510-30.
 204. Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, Machado CA, Poli-de-Figueiredo CE, Amodeo C, Mion Júnior D, Barbosa ECD, Nobre F, Guimarães ICB, Vilela-Martin JF, Yugar-Toledo JC, Magalhães MEC, Neves MFT, Jardim PCBV, Miranda RD, Póvoa RMDS, Fuchs SC, Alessi A, Lucena AJG, Avezum A, Sousa ALL, Pio-Abreu A, Sposito AC, Pierin AMG, Paiva AMG, Spinelli ACS, Nogueira ADR, Dinamarco N, Eibel B, Forjaz CLM, Zanini CRO, Souza CB, Souza DDSM, Nilson EAF, Costa EFA, Freitas EV, Duarte EDR, Muxfeldt ES, Lima Júnior E, Campana EMG, Cesarino EJ, Marques F, Argenta F, Consolim-Colombo FM, Baptista FS, Almeida FA, Borelli FAO, Fuchs FD, Plavnik FL, Salles GF, Feitosa GS, Silva GVD, Guerra GM, Moreno Júnior H, Finimundi HC, Back IC, Oliveira Filho JB, Gemelli JR, Mill JG, Ribeiro JM, Lotaif LAD, Costa LSD, Magalhães LBNC, Drager LF, Martin LC, Scala LCN, Almeida MQ, Gowdak MMG, Klein MRST, Malachias MVB, Kuschnir MCC, Pinheiro ME, Borba MHE, Moreira Filho O, Passarelli Júnior O, Coelho OR, Vitorino PVO, Ribeiro Junior RM, Esporcatte R, Franco R, Pedrosa R, Mulinari RA, Paula RB, Okawa RTP, Rosa RF, Amaral SLD, Ferreira-Filho SR, Kaiser SE, Jardim TSV, Guimarães V, Koch VH, Oigman W, Nadruz W. Brazilian Guidelines of Hypertension - 2020. *Arq Bras Cardiol*. 2021 Mar;116(3):516-658. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20201238. PMID: 33909761; PMCID: PMC9949730.
 205. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H. Multivitamin use and telomere length in women. *Am J Clin Nutr*. 2009 Jun;89(6):1857-63. doi: 10.3945/ajcn.2008.26986. Epub 2009 Mar 11. PMID: 19279081; PMCID: PMC2714373
 206. Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*. 2017 Jul 4;8(27):45008-45019. doi: 10.18632/oncotarget.16726. PMID: 28410238; PMCID: PMC5546536.
 207. Pelliccia A, Sharma S, Gati S, Bäck M, Börjesson M, Caselli S, Collet JP, Corrado D, Drezner JA, Halle M, Hansen D, Heidbuchel H, Myers J, Niebauer J, Papadakis M, Piepoli MF, Prescott E, Roos-Hesselink JW, Graham Stuart A, Taylor RS, Thompson PD, Tiberi M, Vanhees L, Wilhelm M; ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines on sports cardiology and exercise in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2021 Jan 1;42(1):17-96. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa605. Erratum in: *Eur Heart J*. 2021 Feb 1;42(5):548-549. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa835. PMID: 32860412
 208. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, Horton ES, Castorino K, Tate DF. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016 Nov;39(11):2065-2079. doi: 10.2337/dc16-1728. PMID: 27926890; PMCID: PMC6908414

209. Laimer M, Melmer A, Lamina C, Raschenberger J, Adamovski P, Engl J, Ress C, Tschoner A, Gelsinger C, Mair L, Kiechl S, Willeit J, Willeit P, Stettler C, Tilg H, Kronenberg F, Ebenbichler C. Telomere length increase after weight loss induced by bariatric surgery: results from a 10 year prospective study. *Int J Obes (Lond)*. 2016 May;40(5):773-8. doi: 10.1038/ijo.2015.238. Epub 2015 Nov 26. PMID: 26607038
210. Himbert C, Thompson H, Ulrich CM. Effects of Intentional Weight Loss on Markers of Oxidative Stress, DNA Repair and Telomere Length - a Systematic Review. *Obes Facts*. 2017;10(6):648-665. doi: 10.1159/000479972. Epub 2017 Dec 14. PMID: 29237161; PMCID: PMC5836214
211. Longo VD, Anderson RM. Nutrition, longevity and disease: From molecular mechanisms to interventions. *Cell*. 2022 Apr 28;185(9):1455-1470. doi: 10.1016/j.cell.2022.04.002. PMID: 35487190; PMCID: PMC9089818
212. Green CL, Lamming DW, Fontana L. Molecular mechanisms of dietary restriction promoting health and longevity. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022 Jan;23(1):56-73. doi: 10.1038/s41580-021-00411-4. Epub 2021 Sep 13. PMID: 34518687
213. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science* 2010;328:321–6
214. Mao X, Gu C, Chen D, Yu B, He J. Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols. *Oncotarget*. 2017 Sep 14;8(46):81649-81661. doi: 10.18632/oncotarget.20887. PMID: 29113421; PMCID: PMC5655316
215. Redman LM, Smith SR, Burton JH, Martin CK, Il'yasova D, Ravussin E. Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. *Cell Metab*. 2018 Apr 3;27(4):805-815.e4. doi: 10.1016/j.cmet.2018.02.019. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29576535; PMCID: PMC5886711
216. Magkos F, Fraterrigo G, Yoshino J, Luecking C, Kirbach K, Kelly SC, et al. Effects of moderate and subsequent progressive weight loss on metabolic function and adipose tissue biology in humans with obesity. *Cell Metab*. 2016 Apr 12; 23(4):591–601. [PubMed: 26916363]
217. Pifferi F, Aujard F. Caloric restriction, longevity and aging: Recent contributions from human and non-human primate studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019 Dec 20;95:109702. doi: 10.1016/j.pnpbp.2019.109702. Epub 2019 Jul 17. PMID: 31325469
218. Heilbronn LK, de Jong L, Frisard MI, DeLany JP, Larson-Meyer DE, Rood J, Nguyen T, Martin CK, Volaufova J, Most MM, et al. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:1539–48
219. Barnes RP, Fouquerel E, Opresko PL. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis. *Mech Ageing Dev*. 2019 Jan;177:37-45. doi: 10.1016/j.mad.2018.03.013. Epub 2018 Mar 28. PMID: 29604323; PMCID: PMC6162185
220. Sohal RS, Orr WC. The redox stress hypothesis of aging. *Free Radic Biol Med*. 2012 Feb 1;52(3):539-555. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.445. Epub 2011 Oct 24. PMID: 22080087; PMCID: PMC3267846

221. Scicchitano BM, Pelosi L, Sica G, Musarò A. The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle. *Mech Ageing Dev.* 2018 Mar;170:37-44. doi: 10.1016/j.mad.2017.08.009. Epub 2017 Aug 26. PMID: 28851603
222. Chung HY, Lee EK, Choi YJ et al. Molecular inflammation as an underlying mechanism of the aging process and age-related diseases. *Journal of Dental Research* 2011; 90: 830–840
223. Picca A, Pesce V, Lezza AMS. Does eating less make you live longer and better? An update on calorie restriction. *Clin Interv Aging.* 2017 Nov 8;12:1887-1902. doi: 10.2147/CIA.S126458. PMID: 29184395; PMCID: PMC5685139.
224. Langie SA, Knaapen AM, Houben JM, van Kempen FC, de Hoon JP, Gottschalk RW, Godschalk RW, van Schooten FJ. The role of glutathione in the regulation of nucleotide excision repair during oxidative stress. *Toxicol Lett.* 2007 Feb 5;168(3):302-9. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.10.027. Epub 2006 Nov 16. PMID: 17207589
225. Luo M, He H, Kelley MR, Georgiadis MM. Redox regulation of DNA repair: implications for human health and cancer therapeutic development. *Antioxid Redox Signal.* 2010 Jun 1;12(11):1247-69. doi: 10.1089/ars.2009.2698. PMID: 19764832; PMCID: PMC2864659
226. Villareal DT, Apovian CM, Kushner RF, Klein S. American Society for Nutrition; NAASO, The Obesity Society. Obesity in older adults: technical review and position statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *Am J Clin Nutr.* 2005 Nov;82(5):923-34. doi: 10.1093/ajcn/82.5.923. PMID: 16280421.
227. Waters DL, Aguirre L, Gurney B, Sinacore DR, Fowler K, Gregori G, Armamento-Villareal R, Qualls C, Villareal DT. Effect of Aerobic or Resistance Exercise, or Both, on Intermuscular and Visceral Fat and Physical and Metabolic Function in Older Adults With Obesity While Dieting. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2022 Jan 7;77(1):131-139. doi: 10.1093/gerona/glab111. PMID: 33839788; PMCID: PMC8751785
228. Hernández-Álvarez D, Rosado-Pérez J, Gavia-García G, Arista-Ugalde TL, Aguiñiga-Sánchez I, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Aging, Physical Exercise, Telomeres, and Sarcopenia: A Narrative Review. *Biomedicines.* 2023 Feb 17;11(2):598. doi: 10.3390/biomedicines11020598. PMID: 36831134; PMCID: PMC9952920
229. Sellami M, Bragazzi N, Prince MS, Denham J, Elrayess M. Regular, Intense Exercise Training as a Healthy Aging Lifestyle Strategy: Preventing DNA Damage, Telomere Shortening and Adverse DNA Methylation Changes Over a Lifetime. *Front Genet.* 2021 Aug 6;12:652497. doi: 10.3389/fgene.2021.652497. PMID: 34421981; PMCID: PMC8379006
230. Schellnegger M, Lin AC, Hammer N, Kamolz LP. Physical Activity on Telomere Length as a Biomarker for Aging: A Systematic Review. *Sports Med Open.* 2022 Sep 4;8(1):111. doi: 10.1186/s40798-022-00503-1. PMID: 36057868
231. Song S, Lee E, Kim H. Does Exercise Affect Telomere Length? A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicina (Kaunas).* 2022 Feb 5;58(2):242. doi: 10.3390/medicina58020242. PMID: 35208566; PMCID: PMC8879766.) PMC9441412

232. Dimauro I, Scalabrin M, Fantini C, Grazioli E, Beltran Valls MR, Mercatelli N, Parisi A, Sabatini S, Di Luigi L, Caporossi D. Resistance training and redox homeostasis: Correlation with age-associated genomic changes. *Redox Biol.* 2016 Dec;10:34-44. doi: 10.1016/j.redox.2016.09.008. Epub 2016 Sep 21. PMID: 27687219; PMCID: PMC5040637
233. Buttet M, Bagheri R, Ugbole UC, Laporte C, Trousselard M, Benson A, Bouillon-Minois JB, Dutheil F. Effect of a lifestyle intervention on telomere length: A systematic review and meta-analysis. *Mech Ageing Dev.* 2022 Sep;206:111694. doi: 10.1016/j.mad.2022.111694. Epub 2022 Jun 26. PMID: 35760212
234. Valente C, Andrade R, Alvarez L, Rebelo-Marques A, Stamatakis E, Espregueira-Mendes J. Effect of physical activity and exercise on telomere length: Systematic review with meta-analysis. *J Am Geriatr Soc.* 2021 Nov;69(11):3285-3300. doi: 10.1111/jgs.17334. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34161613
235. Mason AE, Hecht FM, Daubenmier JJ, Sbarra DA, Lin J, Moran PJ, Schleicher SG, Acree M, Prather AA, Epel ES. Weight Loss Maintenance and Cellular Aging in the Supporting Health Through Nutrition and Exercise Study. *Psychosom Med.* 2018 Sep;80(7):609-619. doi: 10.1097/PSY.0000000000000616. PMID: 29901486; PMCID: PMC6113109
236. Demissie S, Levy D, Benjamin EJ, Cupples LA, Gardner JP, Herbert A, Kimura M, Larson MG, Meigs JB, Keaney JF, Aviv A. Insulin resistance, oxidative stress, hypertension, and leukocyte telomere length in men from the Framingham Heart Study. *Aging Cell.* 2006 Aug;5(4):325-30. doi: 10.1111/j.1474-9726.2006.00224.x. PMID: 16913878.
237. Yadav S, Maurya PK. Correlation Between Telomere Length and Biomarkers of Oxidative Stress in Human Aging. *Rejuvenation Res.* 2022 Feb;25(1):25-29. doi: 10.1089/rej.2021.0045. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35044242
238. Shin YA, Lee JH, Song W, Jun TW. Exercise training improves the antioxidant enzyme activity with no changes of telomere length. *Mech Ageing Dev.* 2008 May;129(5):254-60. doi: 10.1016/j.mad.2008.01.001. Epub 2008 Jan 17. PMID: 18295822
239. Papaconstantinou J. Insulin/IGF-1 and ROS signaling pathway cross-talk in aging and longevity determination. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 Feb 5;299(1):89-100. doi: 10.1016/j.mce.2008.11.025. Epub 2008 Dec 3. PMID: 19103250; PMCID: PMC2873688
240. Bouzid MA, Filaire E, McCall A, Fabre C. Radical Oxygen Species, Exercise and Aging: An Update. *Sports Med.* 2015 Sep;45(9):1245-1261. doi: 10.1007/s40279-015-0348-1. PMID: 26119427
241. Carter HN, Chen CC, Hood DA. Mitochondria, muscle health, and exercise with advancing age. *Physiology (Bethesda).* 2015 May;30(3):208-23. doi: 10.1152/physiol.00039.2014. PMID: 25933821.
242. Calvani R, Joseph AM, Adhihetty PJ, Miccheli A, Bossola M, Leeuwenburgh C, Bernabei R, Marzetti E. Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. *Biol Chem.* 2013 Mar;394(3):393-414. doi: 10.1515/hsz-2012-0247. PMID: 23154422; PMCID: PMC3976204.

243. McArdle A, Jackson MJ. Exercise, oxidative stress and ageing. *J Anat.* 2000 Nov;197 Pt 4(Pt 4):539-41. doi: 10.1046/j.1469-7580.2000.19740539.x. PMID: 11197526; PMCID: PMC1468168
244. Nakano R, Takebe N, Ono M, Hangai M, Nakagawa R, Yashiro S, Murai T, Nagasawa K, Takahashi Y, Satoh J, Ishigaki Y. Involvement of oxidative stress in atherosclerosis development in subjects with sarcopenic obesity. *Obes Sci Pract.* 2017 Jan 27;3(2):212-218. doi: 10.1002/osp4.97. PMID: 28702214; PMCID: PMC5478807
245. Vincent HK, Raiser SN, Vincent KR. The aging musculoskeletal system and obesity-related considerations with exercise. *Ageing Res Rev.* 2012 Jul;11(3):361-73. doi: 10.1016/j.arr.2012.03.002. Epub 2012 Mar 15. PMID: 22440321; PMCID: PMC3356456
246. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018 Apr 26;13:757-772. doi: 10.2147/CIA.S158513. PMID: 29731617; PMCID: PMC5927356
247. Aguiar SS, Sousa CV, Deus LA, Rosa TS, Sales MM, Neves RVP, Barbosa LP, Santos PA, Campbell CS, Simões HG. Oxidative stress, inflammatory cytokines and body composition of master athletes: The interplay. *Exp Gerontol.* 2020 Feb;130:110806. doi: 10.1016/j.exger.2019.110806. Epub 2019 Dec 9. PMID: 31825853
248. Ahmed W, Lingner J. Impact of oxidative stress on telomere biology. *Differentiation.* 2018 Jan-Feb;99:21-27. doi: 10.1016/j.diff.2017.12.002. Epub 2017 Dec 14. PMID: 29274896.
249. Saretzki G, Von Zglinicki T. Replicative aging, telomeres, and oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Apr;959:24-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02079.x. PMID: 11976182
250. Avelar, T.M.T.; Storch, A.S.; Castro, L.A.; Azevedo, G.V.M.M.; Ferraz, L.; Lopes, P.F. Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: Which mechanisms are involved? *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2015, 51, 231–239.
251. Bakhtiari, A.; Hajian-Tilaki, K.; Omidvar, S.; Nasiri Amiri, F. Association of lipid peroxidation and antioxidant status with metabolic syndrome in Iranian healthy elderly women. *Biomed. Rep.* 2017, 7, 331–336.
252. Tian R, Zhang LN, Zhang TT, Pang HY, Chen LF, Shen ZJ, Liu Z, Fang Q, Zhang SY. Association Between Oxidative Stress and Peripheral Leukocyte Telomere Length in Patients with Premature Coronary Artery Disease. *Med Sci Monit.* 2017 Sep 11;23:4382-4390. doi: 10.12659/msm.902106. PMID: 28892468; PMCID: PMC5604488
253. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev.* 2007 Jan;128(1):92-105. doi: 10.1016/j.mad.2006.11.016. Epub 2006 Nov 20. PMID: 17116321
254. Scott D, Cumming R, Naganathan V, Blyth F, Le Couteur DG, Handelsman DJ, Seibel M, Waite LM, Hirani V. Associations of sarcopenic obesity with the metabolic syndrome and insulin resistance over five years in older men: The Concord

- Health and Ageing in Men Project. *Exp Gerontol*. 2018 Jul 15;108:99-105. doi: 10.1016/j.exger.2018.04.006. Epub 2018 Apr 9. PMID: 29649572
255. Baker LD, Barsness SM, Borson S, Merriam GR, Friedman SD, Craft S, Vitiello MV. Effects of growth hormone–releasing hormone on cognitive function in adults with mild cognitive impairment and healthy older adults: results of a controlled trial. *Arch Neurol*. 2012 Nov;69(11):1420-9. doi: 10.1001/archneurol.2012.1970. PMID: 22869065; PMCID: PMC3764914
 256. Dalle S, Rossmeislova L, Koppo K. The Role of Inflammation in Age-Related Sarcopenia. *Front Physiol*. 2017 Dec 12;8:1045. doi: 10.3389/fphys.2017.01045. PMID: 29311975; PMCID: PMC5733049
 257. Ye Y, Lin H, Wan M, Qiu P, Xia R, He J, et al. The Effects of Aerobic Exercise on Oxidative Stress in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Physiol*. 2021;12:701151
 258. Wang H, Hai S, Liu YX, Cao L, Liu Y, Liu P, Yang Y, Dong BR. Associations between Sarcopenic Obesity and Cognitive Impairment in Elderly Chinese Community-Dwelling Individuals. *J Nutr Health Aging*. 2019;23(1):14-20. doi: 10.1007/s12603-018-1088-3. PMID: 30569063
 259. Qiu X, Brown K, Hirschey MD, Verdin E, Chen D. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab*. 2010;12(6):662-7
 260. Guillet C, Masgrau A, Walrand S, Boirie Y. Impaired protein metabolism: interlinks between obesity, insulin resistance and inflammation. *Obes Rev*. 2012 Dec;13 Suppl 2:51-7. doi: 10.1111/j.1467-789X.2012.01037.x. PMID: 23107259.
 261. Gutiérrez-López L, Olivares-Corichi IM, Martínez-Arellanes LY, Mejía-Muñoz E, Polanco-Fierro JA, García-Sánchez JR. A moderate intensity exercise program improves physical function and oxidative damage in older women with and without sarcopenic obesity. *Exp Gerontol*. 2021 Jul 15;150:111360. doi: 10.1016/j.exger.2021.111360. Epub 2021 Apr 18. PMID: 33878422
 262. Polidori MC, Mecocci P, Cherubini A, Senin U. Physical activity and oxidative stress during aging. *Int J Sports Med*. 2000 Apr;21(3):154-7. doi: 10.1055/s-2000-8881. PMID: 10834344
 263. Mason SA, Morrison D, McConell GK, Wadley GD. Muscle redox signalling pathways in exercise. Role of antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 2016 Sep;98:29-45. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.022. Epub 2016 Feb 18. PMID: 26912034
 264. Ghosh S, Lertwattanak R, Lefort N, Molina-Carrion M, Joya-Galeana J, Bowen BP, Garduno-Garcia Jde J, AbdulGhani M, Richardson A, DeFronzo RA, Mandarino L, Van Remmen H, Musi N. Reduction in reactive oxygen species production by mitochondria from elderly subjects with normal and impaired glucose tolerance. *Diabetes*. 2011; 60: 2051-60
 265. Buchowski MS, Hongu N, Acra S, Wang L, Warolin J, Roberts LJ, 2nd. Effect of modest caloric restriction on oxidative stress in women, a randomized trial. *PLoS One*. 2012;7(10):e47079
 266. Wiggs MP. Can endurance exercise preconditioning prevention disuse muscle atrophy? *Front Physiol*. 2015 Mar 11;6:63. doi: 10.3389/fphys.2015.00063. PMID: 25814955; PMCID: PMC4356230.

267. Ji LL, Dickman JR, Kang C, Koenig R. Exercise-induced hormesis may help healthy aging. *Dose Response*. 2010 Jan 28;8(1):73-9. doi: 10.2203/dose-response.09-048.Ji. PMID: 20221295; PMCID: PMC2836144.
268. Radak et al., 2001; - Radak Z, Radák Z. Free radicals in exercise and aging. *Hum Kine*, Champaign, Illinois, USA (2000). / Radak Z, Taylor AW, Ohno H, Goto S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc Immunol Rev*. 2001;7:90-107. PMID: 11579750.
269. Pedersen BK. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines. *Immunol Cell Biol*. 2000 Oct;78(5):532-5. doi: 10.1111/j.1440-1711.2000.t01-11-x. PMID: 11050536.
270. Samjoo IA, Safdar A, Hamadeh MJ, Raha S, Tarnopolsky MA. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutr Diabetes*. 2013 Sep 16;3(9):e88. doi: 10.1038/nutd.2013.30. PMID: 24042701; PMCID: PMC3789133.
271. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol*. 2016 Sep 15;594(18):5081-92. doi: 10.1113/JP270646. Epub 2016 Feb 19. PMID: 26893258; PMCID: PMC5023699.
272. Joseph AM, Adhihetty PJ, Leeuwenburgh C. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *J Physiol*. 2016; 594: 5105-23
273. Padilha CS, Ribeiro AS, Fleck SJ, Nascimento MA, Pina FL, Okino AM, Venturini D, Barbosa DS, Mayhew JL, Cyrino ES. Effect of resistance training with different frequencies and detraining on muscular strength and oxidative stress biomarkers in older women. *Age*. 2015; 37: 104
274. Radak Z, Bori Z, Koltai E et al. Age-dependent changes in 8-oxoguanine-DNA glycosylase activity are modulated by adaptive responses to physical exercise in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 51: 417–423
275. Franzke B, Halper B, Hofmann M, Oesen S, Jandrasits W, Baierl A, Tosevska A, Strasser EM, Wessner B, Wagner KH; Vienna Active Ageing Study Group. The impact of six months strength training, nutritional supplementation or cognitive training on DNA damage in institutionalised elderly. *Mutagenesis*. 2015 Jan;30(1):147-53. doi: 10.1093/mutage/geu074. PMID: 25527737
276. Kozakiewicz M, Rowiński R, Kornatowski M, Dąbrowski A, Kędziora-Kornatowska K, Strachecka A. Relation of Moderate Physical Activity to Blood Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in the Elderly. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Feb 11;2019:5123628. doi: 10.1155/2019/5123628. PMID: 30886673; PMCID: PMC6388316
277. Mendoza-Núñez VM, Ruiz-Ramos M, Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Muñoz-Sánchez JL. Aging-related oxidative stress in healthy humans. *Tohoku J Exp Med*. 2007 Nov;213(3):261-8. doi: 10.1620/tjem.213.261. PMID: 17984623.
278. Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov*. 2013 Dec;12(12):931-47. doi: 10.1038/nrd4002. PMID: 24287781.
279. Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell*

- Longev. 2012;2012:756132. doi: 10.1155/2012/756132. Epub 2012 Jun 3. PMID: 22701757; PMCID: PMC3372226
280. Lapenna D. Glutathione and glutathione-dependent enzymes: From biochemistry to gerontology and successful aging. *Ageing Res Rev.* 2023 Dec;92:102066. doi: 10.1016/j.arr.2023.102066. Epub 2023 Sep 7. PMID: 37683986
 281. Parise G, Phillips SM, Kaczor JJ, Tarnopolsky MA. Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. *Free Radic Biol Med.* 2005;39:289–295. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2005.03.024
 282. Bowen TS, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2015 Sep;6(3):197-207. doi: 10.1002/jcsm.12043. Epub 2015 Jun 3. PMID: 26401465; PMCID: PMC4575550
 283. Copley JN, Sakellariou GK, Owens DJ, Murray S, Waldron S, Gregson W, Fraser WD, Burniston JG, Iwanejko LA, McArdle A, Morton JP, Jackson MJ, Close GL. Lifelong training preserves some redox-regulated adaptive responses after an acute exercise stimulus in aged human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 2014 May;70:23-32. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.02.004. Epub 2014 Feb 10. PMID: 24525000
 284. Johnson ML, Irving BA, Lanza IR, Vendelbo MH, Konopka AR, Robinson MM, Henderson GC, Klaus KA, Morse DM, Heppelmann C, Bergen HR 3rd, Dasari S, Schimke JM, et al. Differential effect of endurance training on mitochondrial protein damage, degradation, and acetylation in the context of aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2015; 70: 1386-93
 285. Mariani E, Cornacchiola V, Polidori MC, Mangialasche F, Malavolta M, Cecchetti R, Bastiani P, Baglioni M, Mocchegiani E, Mecocci P. Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status: results from the Zincage Project. *Biogerontology.* 2006 Oct-Dec;7(5-6):391-8. doi: 10.1007/s10522-006-9054-6. PMID: 16967205
 286. Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A, Neri LM. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget.* 2018 Mar 30;9(24):17181-17198. doi: 10.18632/oncotarget.24729. PMID: 29682215; PMCID: PMC5908316
 287. Karaman A, Aydın H, Geçkinli B, Çetinkaya A, Karaman S. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015 Apr;782:30-5. doi: 10.1016/j.mrgentox.2015.03.009. Epub 2015 Mar 13. PMID: 25868129
 288. Rowiński R, Kozakiewicz M, Kędziora-Kornatowska K, Hübner-Woźniak E, Kędziora J. Markers of oxidative stress and erythrocyte antioxidant enzyme activity in older men and women with differing physical activity. *Exp Gerontol.* 2013 Nov;48(11):1141-6. doi: 10.1016/j.exger.2013.07.010. Epub 2013 Jul 30. PMID: 23911531
 289. Carru C, Da Boit M, Paliogiannis P, Zinellu A, Sotgia S, Sibson R, Meakin JR, Aspden RM, Mangoni AA, Gray SR. Markers of oxidative stress, skeletal muscle mass and function, and their responses to resistance exercise training in older adults. *Exp Gerontol.* 2018 Mar;103:101-106. doi: 10.1016/j.exger.2017.12.024. Epub 2018 Jan 9. PMID: 29326089.

290. Alikhani S, Sheikholeslami-Vatani D. Oxidative stress and anti-oxidant responses to regular resistance training in young and older adult women. *Geriatr Gerontol Int*. 2019 May;19(5):419-422. doi: 10.1111/ggi.13636. Epub 2019 Feb 27. PMID: 30811775
291. Soares JP, Silva AM, Oliveira MM, Peixoto F, Gaivão I, Mota MP. Effects of combined physical exercise training on DNA damage and repair capacity: role of oxidative stress changes. *Age (Dordr)*. 2015 Jun;37(3):9799. doi: 10.1007/s11357-015-9799-4. Epub 2015 Jun 5. PMID: 26044257; PMCID: PMC4456486.
292. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. 2008 Jan 15;44(2):126-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001. Epub 2007 Feb 9. PMID: 18191748
293. Rosado-Pérez J, Aguiñiga-Sánchez I, Arista-Ugalde TL, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. The Biological Significance of Oxidative Stress, Effects of Fruits as Natural Edible Antioxidants. *Curr Pharm Des*. 2018;24(40):4807-4824. doi: 10.2174/1381612824666190114164758. PMID: 30644341
294. Erusalimsky JD. Oxidative stress, telomeres and cellular senescence: What non-drug interventions might break the link? *Free Radic Biol Med*. 2020 Apr;150:87-95. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.008. Epub 2020 Feb 13. PMID: 32061901
295. Lindrose AR, McLester-Davis LWY, Tristano RI, Kataria L, Gadalla SM, Eisenberg DTA, Verhulst S, Drury S. Method comparison studies of telomere length measurement using qPCR approaches: A critical appraisal of the literature. *PLoS One*. 2021 Jan 20;16(1):e0245582. doi: 10.1371/journal.pone.0245582. PMID: 33471860; PMCID: PMC7817045
296. Gargallo P, Colado JC, Jueas A, Hernando-Espinilla A, Estañ-Capell N, Monzó-Beltran L, García-Pérez P, Cauli O, Sáez GT. The Effect of Moderate- Versus High-Intensity Resistance Training on Systemic Redox State and DNA Damage in Healthy Older Women. *Biol Res Nurs*. 2018 Mar;20(2):205-217. doi: 10.1177/1099800417753877. Epub 2018 Jan 23. PMID: 29361834.
297. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, Knight AR, Taylor EL, Oettrich J, Ruskovska T, Gasparovic AC, Cuadrado A, Weber D, Poulsen HE, Grune T, Schmidt HH, Ghezzi P. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal*. 2015 Nov 10;23(14):1144-70. doi: 10.1089/ars.2015.6317. Epub 2015 Oct 26. PMID: 26415143; PMCID: PMC4657513.
298. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:6501046. doi: 10.1155/2017/6501046. Epub 2017 Jun 18. PMID: 28698768; PMCID: PMC5494111
299. Martínez-Ezquerro JD, Rodríguez-Castañeda A, Ortiz-Ramírez M, Sánchez-García S, Rosas-Vargas H, Sánchez-Arenas R, García-de la Torre P. OXIDATIVE STRESS, TELOMERE LENGTH, AND FRAILITY IN AN OLD AGE POPULATION. *Rev Invest Clin*. 2019;71(6):393-401. doi: 10.24875/RIC.19003116. PMID: 31823970.

300. Valenzuela PL, Carrera-Bastos P, Castillo-Garcia A, Lieberman DE, Santos-Lozano A, Lucia A. Obesity and the risk of cardiometabolic diseases. *Nature reviews Cardiology*. 2023;20(7):475-94.
301. Corvera S, Solivan-Rivera J, Yang Loureiro Z. Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*. 2022;25(4):439-53.
302. Lin J, Epel E. Stress and telomere shortening: Insights from cellular mechanisms. *Ageing Res Rev*. 2022 Jan;73:101507. doi: 10.1016/j.arr.2021.101507. Epub 2021 Nov 1. PMID: 34736994; PMCID: PMC8920518.
303. Farahmandpour F, Haidari F, Heidari Z, Hajarzadeh S, Ahangarpour A. Whey Protein Intervention and Inflammatory Factors and Oxidative Stress: Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutr Rev*. 2024.
304. Lands LC, Grey VL, Smountas AA. Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. *Journal of applied physiology*. 1999;87(4):1381-5.
305. Kirk B, Kuo CL, Xiang M, Duque G. Associations between leukocyte telomere length and osteosarcopenia in 20,400 adults aged 60 years and over: Data from the UK Biobank. *Bone*. 2022 Aug;161:116425. doi: 10.1016/j.bone.2022.116425. Epub 2022 Apr 27. PMID: 35489708
306. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. (2003) Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science*;300(5622):1140-2
307. Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Visser M. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. *Am J Med* 2006; 119: 526.e9–526.e17
308. Claflin DR, Jackson MJ, Brooks SV. Age affects the contraction-induced mitochondrial redox response in skeletal muscle. *Front Physiol*. 2015 Feb 4;6:21. doi: 10.3389/fphys.2015.00021. PMID: 25698975; PMCID: PMC4316701
309. Beyer I, Mets T, Bautmans I. Chronic low-grade inflammation and age-related sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012 Jan;15(1):12-22. doi: 10.1097/MCO.0b013e32834dd297. PMID: 22108098
310. Rippberger PL, Emeny RT, Mackenzie TA, Bartels SJ, Batsis JA. The association of sarcopenia, telomere length, and mortality: data from the NHANES 1999-2002. *Eur J Clin Nutr*. 2018 Feb;72(2):255-263. doi: 10.1038/s41430-017-0011-z. Epub 2017 Dec 14. PMID: 29238037; PMCID: PMC5809180
311. Marques A, Peralta M, Marconcin P, Henriques-Neto D, Gouveia ÉR, Ferrari G, Martins J, Sarmiento H, Ihle A. A Systematic Review of the Association Between Muscular Fitness and Telomere Length Across the Adult Lifespan. *Front Physiol*. 2021 Jul 15;12:706189. doi: 10.3389/fphys.2021.706189. PMID: 34335309; PMCID: PMC8320389.
312. Chistiakov DA, Sobenin IA, Revin VV, Orekhov AN, Bobryshev YV. Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria. *Biomed Res Int*. 2014;2014:238463. doi: 10.1155/2014/238463. Epub 2014 Apr 10. PMID: 24818134; PMCID: PMC4003832
313. López-Lluch G, Navas P. Calorie restriction as an intervention in ageing. *J Physiol*. 2016 Apr 15;594(8):2043-60. doi: 10.1113/JP270543. Epub 2016 Jan 3. PMID: 26607973; PMCID: PMC4834802

314. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014 Jun;69 Suppl 1:S4-9. doi: 10.1093/gerona/glu057. PMID: 24833586
315. Meyer A, Salewsky B, Spira D, Steinhagen-Thiessen E, Norman K, Demuth I. Leukocyte telomere length is related to appendicular lean mass: cross-sectional data from the Berlin Aging Study II (BASE-II). *Am J Clin Nutr*. 2016 Jan;103(1):178-83. doi: 10.3945/ajcn.115.116806. Epub 2015 Dec 16.
316. Huang Z, Liu C, Ruan Y, Guo Y, Sun S, Shi Y, Wu F. Dynamics of leukocyte telomere length in adults aged 50 and older: a longitudinal population-based cohort study. *Geroscience*. 2021 Apr;43(2):645-654. doi: 10.1007/s11357-020-00320-y. Epub 2021 Jan 19. PMID: 33469834; PMCID: PMC8110630
317. Oikawa S, Kawanishi S. Site-specific DNA damage at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. *FEBS Lett*. 1999 Jun 25;453(3):365-8. doi: 10.1016/s0014-5793(99)00748-6. PMID: 10405177
318. Zhou J, Liu M, Fleming AM, Burrows CJ, Wallace SS. Neil3 and NEIL1 DNA glycosylases remove oxidative damages from quadruplex DNA and exhibit preferences for lesions in the telomeric sequence context. *J Biol Chem*. 2013 Sep 20;288(38):27263-27272. doi: 10.1074/jbc.M113.479055. Epub 2013 Aug 7. PMID: 23926102; PMCID: PMC3779722
319. Kositsawat J, Duque G, Kirk B. Nutrients with anabolic/anticatabolic, antioxidant, and anti-inflammatory properties: Targeting the biological mechanisms of aging to support musculoskeletal health. *Exp Gerontol*. 2021 Oct 15;154:111521. doi: 10.1016/j.exger.2021.111521. Epub 2021 Aug 21. PMID: 34428477
320. Dutra MT, Avelar BP, Souza VC, Bottaro M, Oliveira RJ, Nóbrega OT, Moreno Lima R. Relationship between sarcopenic obesity-related phenotypes and inflammatory markers in postmenopausal women. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2017 Mar;37(2):205-210. doi: 10.1111/cpf.12287. Epub 2015 Sep 16. PMID: 26373437
321. Mason C, Risques RA, Xiao L, Duggan CR, Imayama I, Campbell KL, Kong A, Foster-Schubert KE, Wang CY, Alfano CM, Blackburn GL, Rabinovitch PS, McTiernan A. Independent and combined effects of dietary weight loss and exercise on leukocyte telomere length in postmenopausal women. *Obesity (Silver Spring)*. 2013 Dec;21(12):E549-54. doi: 10.1002/oby.20509. Epub 2013 Jul 29. PMID: 23640743; PMCID: PMC3786031
322. Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, Nevitt M, Harris TB. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 May;57(5):M326-32. doi: 10.1093/gerona/57.5.m326. PMID: 11983728
323. Cesari M, Kritchevsky SB, Baumgartner RN, Atkinson HH, Penninx BW, Lenchik L, Palla SL, Ambrosius WT, Tracy RP, Pahor M. Sarcopenia, obesity, and inflammation--results from the Trial of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors study. *Am J Clin Nutr*. 2005 Aug;82(2):428-34. doi: 10.1093/ajcn.82.2.428. PMID: 16087989
324. Alemán H, Esparza J, Ramirez FA, Astiazaran H, Payette H. Longitudinal evidence on the association between interleukin-6 and C-reactive protein with the loss of total appendicular skeletal muscle in free-living older men and women. *Age*

- Ageing. 2011 Jul;40(4):469-75. doi: 10.1093/ageing/afr040. Epub 2011 May 12. PMID: 21565862
325. Yang CW, Li CI, Li TC, Liu CS, Lin CH, Lin WY, Lin CC. Association of Sarcopenic Obesity with Higher Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein Levels in Chinese Older Males--A Community-Based Study (Taichung Community Health Study-Elderly, TCHS-E). *PLoS One*. 2015 Jul 15;10(7):e0132908. doi: 10.1371/journal.pone.0132908. Erratum in: *PLoS One*. 2015 Aug 13;10(8):e0136069. doi: 10.1371/journal.pone.0136069. PMID: 26177029; PMCID: PMC4503458
 326. Rossi FE, Lira FS, Silva BSA, Freire APCF, Ramos EMC, Gobbo LA. Influence of skeletal muscle mass and fat mass on the metabolic and inflammatory profile in sarcopenic and non-sarcopenic overfat elderly. *Aging Clin Exp Res*. 2019 May;31(5):629-635. doi: 10.1007/s40520-018-1029-3. Epub 2018 Sep 3. PMID: 30178443
 327. Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB, Wolfe RR. The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Dec;85(12):4481-90. doi: 10.1210/jcem.85.12.7021. PMID: 11134097; PMCID: PMC3192447.
 328. Jung UJ. Sarcopenic Obesity: Involvement of Oxidative Stress and Beneficial Role of Antioxidant Flavonoids. *Antioxidants (Basel)*. 2023 May 8;12(5):1063. doi: 10.3390/antiox12051063. PMID: 37237929; PMCID: PMC10215274
 329. Gonzalez A, Simon F, Achiardi O, Vilos C, Cabrera D, Cabello-Verrugio C. The Critical Role of Oxidative Stress in Sarcopenic Obesity. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Oct 12;2021:4493817. doi: 10.1155/2021/4493817. PMID: 34676021; PMCID: PMC8526202
 330. Claflin DR, Jackson MJ, Brooks SV. Age affects the contraction-induced mitochondrial redox response in skeletal muscle. *Front Physiol*. 2015 Feb 4;6:21. doi: 10.3389/fphys.2015.00021. PMID: 25698975; PMCID: PMC4316701
 331. Čížková T, Štěpán M, Daďová K, Ondrůjová B, Sontáková L, Krauzová E, Matouš M, Koc M, Gojda J, Kračmerová J, Štich V, Rossmeislová L, Šiklová M. Exercise Training Reduces Inflammation of Adipose Tissue in the Elderly: Cross-Sectional and Randomized Interventional Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Dec 1;105(12):dgaa630. doi: 10.1210/clinem/dgaa630. PMID: 32902644.
 332. Stankovic M, Mladenovic D, Ninkovic M, Vucevic D, Tomasevic T, Radosavljevic T. Effects of caloric restriction on oxidative stress parameters. *Gen Physiol Biophys*. 2013;32(2):277-83
 333. Bouchonville M, Armamento-Villareal R, Shah K, Napoli N, Sinacore DR, Qualls C, Villareal DT. Weight loss, exercise or both and cardiometabolic risk factors in obese older adults: results of a randomized controlled trial. *Int J Obes (Lond)*. 2014 Mar;38(3):423-31. doi: 10.1038/ijo.2013.122. Epub 2013 Jul 4. PMID: 23823329; PMCID: PMC3835728
 334. Rickman AD, Williamson DA, Martin CK, Gilhooly CH, Stein RI, Bales CW, Roberts S, Das SK. The CALERIE Study: design and methods of an innovative 25% caloric restriction intervention. *Contemp Clin Trials*. 2011 Nov;32(6):874-81. doi:

- 10.1016/j.cct.2011.07.002. Epub 2011 Jul 8. PMID: 21767664; PMCID: PMC3185196
335. Ravussin E, Redman LM, Rochon J, Das SK, Fontana L, et al. 2015. A 2-year randomized controlled trial of human caloric restriction: feasibility and effects on predictors of health span and longevity. *J. Gerontol. A* 70:1097–104
 336. Redman LM, Heilbronn LK, Martin CK, Alfonso A, Smith SR, et al. 2007. Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 92:865–72
 337. Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM, Newcomer BR, Frisard MI, et al. 2006. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, β -cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. *Diabetes Care* 29:1337–44
 338. Il'yasova D, Fontana L, Bhapkar M, Pieper CF, Spasojevic I, Redman LM, Das SK, Huffman KM, Kraus WE; CALERIE Study Investigators. Effects of 2 years of caloric restriction on oxidative status assessed by urinary F2-isoprostanes: The CALERIE 2 randomized clinical trial. *Aging Cell*. 2018 Apr;17(2):e12719. doi: 10.1111/accel.12719. Epub 2018 Feb 9. PMID: 29424490; PMCID: PMC5847862
 339. Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, Smith SR, Ravussin E; CALERIE Pennington Team. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Med*. 2007 Mar;4(3):e76. doi: 10.1371/journal.pmed.0040076. PMID: 17341128; PMCID: PMC1808482
 340. Racette SB, Weiss EP, Villareal DT, Arif H, Steger-May K, et al. 2006. One year of caloric restriction in humans: feasibility and effects on body composition and abdominal adipose tissue. *J. Gerontol. A* 61:943–50
 341. Kraus WE, Bhapkar M, Huffman KM, Pieper CF, Krupa Das S, et al. 2019. 2 years of calorie restriction and cardiometabolic risk (CALERIE): exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 7:673–83
 342. Keys AB, Brozek J, Henschel A, Mickelson O, Taylor A. 1950. *The Biology of Human Starvation*. Minneapolis: Univ. Minn. Press. 2 vol.
 343. Jiang BC, Villareal DT. Therapeutic and lifestyle approaches to obesity in older persons. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2019 Jan;22(1):30–36. doi:10.1097/MCO.0000000000000520. PMID: 30346314; PMCID: PMC6265116
 344. Chen L, Shivappa N, Dong X, Ming J, Zhao Q, Xu H, et al. Association between appendicular skeletal muscle index and leukocyte telomere length in adults: A study from National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2002. *Clin Nutr*. 2021;40(5):3470–8
 345. Galloza J, Castillo B, Micheo W. Benefits of Exercise in the Older Population. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2017 Nov;28(4):659–669. doi: 10.1016/j.pmr.2017.06.001. PMID: 29031333
 346. Zhuang M, Jin M, Lu T, Lu L, Ainsworth BE, Liu Y, Chen N. Effects of three modes of physical activity on physical fitness and hematological parameters in older people with sarcopenic obesity: A systematic review and meta-analysis. *Front Physiol*. 2022 Aug 25;13:917525. doi: 10.3389/fphys.2022.917525. PMID: 36091394; PMCID: PMC9458075

347. Gadelha AB, Paiva FM, Gauche R, de Oliveira RJ, Lima RM. Effects of resistance training on sarcopenic obesity index in older women: A randomized controlled trial. *Arch Gerontol Geriatr.* 2016 Jul-Aug;65:168-73. doi: 10.1016/j.archger.2016.03.017. Epub 2016 Mar 31. PMID: 27057600
348. Liao CD, Tsao JY, Lin LF, Huang SW, Ku JW, Chou LC, Liou TH. Effects of elastic resistance exercise on body composition and physical capacity in older women with sarcopenic obesity: A CONSORT-compliant prospective randomized controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2017 Jun;96(23):e7115. doi: 10.1097/MD.00000000000007115. PMID: 28591061; PMCID: PMC5466239
349. Donges CE, Duffield R, Drinkwater EJ. Effects of resistance or aerobic exercise training on interleukin-6, C-reactive protein, and body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 2010 Feb;42(2):304-13. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181b117ca. PMID: 20083961
350. Molino S, Dossena M, Buonocore D, Verri M. Sarcopenic Obesity: An Appraisal of the Current Status of Knowledge and Management in Elderly People. *J Nutr Health Aging.* 2016;20(7):780-8. doi: 10.1007/s12603-015-0631-8. PMID: 27499312
351. Colleluori G, Aguirre L, Phadnis U, Fowler K, Armamento-Villareal R, Sun Z, Brunetti L, Hyoung Park J, Kaiparettu BA, Putluri N, Auetumrongsawat V, Yarasheski K, Qualls C, Villareal DT. Aerobic Plus Resistance Exercise in Obese Older Adults Improves Muscle Protein Synthesis and Preserves Myocellular Quality Despite Weight Loss. *Cell Metab.* 2019 Aug 6;30(2):261-273.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2019.06.008. Epub 2019 Jul 3. PMID: 31279675; PMCID: PMC6685749
352. Chen HT, Chung YC, Chen YJ, Ho SY, Wu HJ. Effects of Different Types of Exercise on Body Composition, Muscle Strength, and IGF-1 in the Elderly with Sarcopenic Obesity. *J Am Geriatr Soc.* 2017 Apr;65(4):827-832. doi: 10.1111/jgs.14722. Epub 2017 Feb 15. PMID: 28205203.
353. Lambert CP, Wright NR, Finck BN, Villareal DT. Exercise but not diet-induced weight loss decreases skeletal muscle inflammatory gene expression in frail obese elderly persons. *J Appl Physiol (1985).* 2008 Aug;105(2):473-8. doi: 10.1152/japplphysiol.00006.2008. Epub 2008 Jun 5. PMID: 18535122; PMCID: PMC2519937
354. Wang LZ, Guo YB, Lou JH. Effects of home exercise on sarcopenia obesity for aging people. *Chin. J. Rehabil. (2019). Theory Pract.* 25 (1), 90–96. doi:10.3969/j.issn.1006-9771.2019.01.012
355. Lee JS, Kim CG, Seo TB, Kim HG, Yoon SJ. Effects of 8-week combined training on body composition, isokinetic strength, and cardiovascular disease risk factors in older women. *Aging Clin Exp Res.* 2015 Apr;27(2):179-86. doi: 10.1007/s40520-014-0257-4. Epub 2014 Jul 6. PMID: 24997614
356. Nunes PR, Barcelos LC, Oliveira AA, Furlanetto Júnior R, Martins FM, Orsatti CL, Resende EA, Orsatti FL. Effect of resistance training on muscular strength and indicators of abdominal adiposity, metabolic risk, and inflammation in postmenopausal women: controlled and randomized clinical trial of efficacy of training volume. *Age (Dordr).* 2016 Apr;38(2):40. doi: 10.1007/s11357-016-9901-6. Epub 2016 Mar 17. PMID: 26984105; PMCID: PMC5005909

357. Chilton W, O'Brien B, Charchar F. Telomeres, Aging and Exercise: Guilty by Association? *Int J Mol Sci.* 2017 Nov 29;18(12):2573. doi: 10.3390/ijms18122573. PMID: 29186077; PMCID: PMC5751176
358. Kim JH, Ko JH, Lee DC, Lim I, Bang H. Habitual physical exercise has beneficial effects on telomere length in postmenopausal women. *Menopause.* 2012 Oct;19(10):1109-15. doi: 10.1097/gme.0b013e3182503e97. PMID: 22668817
359. Meyer A, Salewsky B, Spira D, Steinhagen-Thiessen E, Norman K, Demuth I. Leukocyte telomere length is related to appendicular lean mass: cross-sectional data from the Berlin Aging Study II (BASE-II). *Am J Clin Nutr.* 2016 Jan;103(1):178-83. doi: 10.3945/ajcn.115.116806. Epub 2015 Dec 16
360. Ludlow AT, Zimmerman JB, Witkowski S, Hearn JW, Hatfield BD, Roth SM. Relationship between physical activity level, telomere length, and telomerase activity. *Med Sci Sports Exerc.* 2008 Oct;40(10):1764-71. doi: 10.1249/MSS.0b013e31817c92aa. PMID: 18799986; PMCID: PMC2581416
361. Mundstock E, Zatti H, Louzada FM, Oliveira SG, Guma FT, Paris MM, Rueda AB, Machado DG, Stein RT, Jones MH, Sarria EE, Barbé-Tuana FM, Mattiello R. Effects of physical activity in telomere length: Systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2015 Jul;22:72-80. doi: 10.1016/j.arr.2015.02.004. Epub 2015 May 5. PMID: 25956165
362. O'Donovan A, Pantell MS, Puterman E, Dhabhar FS, Blackburn EH, Yaffe K, Cawthon RM, Opresko PL, Hsueh WC, Satterfield S, Newman AB, Ayonayon HN, Rubin SM, Harris TB, Epel ES. Health Aging and Body Composition Study. Cumulative inflammatory load is associated with short leukocyte telomere length in the Health, Aging and Body Composition Study. *PLoS One.* 2011;6(5):e19687. doi: 10.1371/journal.pone.0019687. Epub 2011 May 13. PMID: 21602933; PMCID: PMC3094351
363. Beals JW, Burd NA, Moore DR, van Vliet S. Obesity Alters the Muscle Protein Synthetic Response to Nutrition and Exercise. *Front Nutr.* 2019 Jun 13;6:87. doi: 10.3389/fnut.2019.00087. PMID: 31263701; PMCID: PMC6584965
364. Dardevet D, Rémond D, Peyron MA, Papet I, Savary-Auzeloux I, Mosoni L. Muscle wasting and resistance of muscle anabolism: the "anabolic threshold concept" for adapted nutritional strategies during sarcopenia. *ScientificWorldJournal.* 2012;2012:269531. doi: 10.1100/2012/269531. Epub 2012 Dec 23. PMID: 23326214; PMCID: PMC3541599.
365. Moore DR, Churchward-Venne TA, Witard O, Breen L, Burd NA, Tipton KD, Phillips SM. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2015 Jan;70(1):57-62. doi: 10.1093/gerona/glu103. Epub 2014 Jul 23. PMID: 25056502.
366. Beals JW, Skinner SK, McKenna CF, Poozhikunnel EG, Farooqi SA, van Vliet S, Martinez IG, Ulanov AV, Li Z, Paluska SA, Burd NA. Altered anabolic signalling and reduced stimulation of myofibrillar protein synthesis after feeding and resistance exercise in people with obesity. *J Physiol.* 2018 Nov;596(21):5119-5133. doi: 10.1113/JP276210. Epub 2018 Sep 30. PMID: 30113718; PMCID: PMC6209748
367. Cruz-Jentoft AJ. Beta-Hydroxy-Beta-Methyl Butyrate (HMB): From Experimental Data to Clinical Evidence in Sarcopenia. *Curr Protein Pept Sci.*

- 2018;19(7):668-672. doi: 10.2174/1389203718666170529105026. PMID: 28554316.
368. Muscariello E, Nasti G, Siervo M, Di Maro M, Lapi D, D'Addio G, Colantuoni A. Dietary protein intake in sarcopenic obese older women. *Clin Interv Aging*. 2016 Feb 5;11:133-40. doi: 10.2147/CIA.S96017. PMID: 26917955; PMCID: PMC4751896
 369. Xu ZR, Tan ZJ, Zhang Q, Gui QF, Yang YM. Clinical effectiveness of protein and amino acid supplementation on building muscle mass in elderly people: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014 Sep 30;9(9):e109141. doi: 10.1371/journal.pone.0109141. PMID: 25268791; PMCID: PMC4182521
 370. Gielen E, Beckwée D, Delaere A, De Breucker S, Vandewoude M, Bautmans I; Sarcopenia Guidelines Development Group of the Belgian Society of Gerontology and Geriatrics (BSGG). Nutritional interventions to improve muscle mass, muscle strength, and physical performance in older people: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Nutr Rev*. 2021 Jan 9;79(2):121-147. doi: 10.1093/nutrit/nuaa011. PMID: 32483625
 371. Morton RW, Murphy KT, McKellar SR, Schoenfeld BJ, Henselmans M, Helms E, Aragon AA, Devries MC, Banfield L, Krieger JW, Phillips SM. A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. *Br J Sports Med*. 2018 Mar;52(6):376-384. doi: 10.1136/bjsports-2017-097608. Epub 2017 Jul 11. Erratum in: *Br J Sports Med*. 2020 Oct;54(19):e7. doi: 10.1136/bjsports-2017-097608corr1. PMID: 28698222; PMCID: PMC5867436