



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

Estratégias Nutricionais para Hipertrofia Muscular

Nutritional Strategies for Muscular Hypertrophy

Jéssica Filipa Esteves Rodrigues

Orientada por: Vitor Hugo Teixeira

Coorientada por: Sílvia Sousa e Inês Queirós

Tipo de documento: Revisão Bibliográfica

Ciclo de estudos: 1.º Ciclo em Ciências da Nutrição

Instituição académica: Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da

Universidade do Porto

Porto, 2017

Resumo

O principal objetivo desta revisão bibliográfica foi avaliar as evidências científicas de interesse relativamente a estratégias nutricionais que promovam um aumento da massa muscular esquelética (hipertrofia). Para uma otimização do estado anabólico e estimulação de hipertrofia da massa muscular esquelética, existem algumas recomendações. Uma ingestão proteica que permita otimizar a síntese de proteína muscular ronda as 1,6g/Kg peso/dia, mas o polifracionamento das tomas (espaçadas 3-4horas) com doses de 20g para adultos mais jovens (ou uma quantidade maior - 40g – no final de um pós-treino de resistência que envolva ativação de músculos de todo o corpo) e 35-40g para idosos, revelou-se o fator mais importante. Mais do que o tipo de proteína, a composição em aminoácidos essenciais e aminoácidos de cadeia ramificada (principalmente leucina), parece ter maior influência na otimização da síntese de proteína muscular (3-5g). Os níveis de síntese de proteína muscular são também levemente otimizados nas primeiras 3-4horas após um treino de resistência por uma proteína de digestão rápida, que povoque um rápido pico de leucinemia e aminoacidemia, apesar de ser um fator pouco relevante. Além deste aumento da ingestão proteica, é necessário um aumento da ingestão energética total, (300-500 kcal). Relativamente à coingestão de hidratos de carbono, se a quantidade de proteína for adequada, é libertada insulina suficiente que permita potenciar o efeito anabólico desta hormona. Contudo, a ingestão deste macronutriente é importante para repor as reservas de glicogénio muscular. Quanto à coingestão de gordura, o benefício que parece existir em termos de otimização da resposta anabólica, reside na coingestão de ómega-3 (2-4g), principalmente em pessoas idosas, mas também em jovens. Relativamente à suplementação com creatina, esta induz um estímulo anabólico, pelo seu efeito

osmótico e pela estimulação da síntese de proteína muscular, e a suplementação deve incluir uma primeira fase de 5-7 dias, com toma de 20-25g/dia de monohidrato de creatina, seguida de uma fase com ingestão de 3-5g/dia, no final do treino de resistência, em conjunto com a fonte proteica. Quanto ao Ácido β -hidróxi- β -metilbutírico (HMB), este revelou ter algum impacto na recuperação pós-treino e no aumento de massa muscular esquelética, associado a exercício físico de resistência, sendo que HMB em forma livre deve ser ingerido 30-60 minutos antes do treino de resistência (1-2g). Por fim, não há evidência científica que suporte o impacto benéfico da beta alanina na hipertrofia muscular esquelética.

Abstract

The main goal of this literature review was to evaluate the scientific evidence of interest regarding nutritional strategies that promote an increase in skeletal muscle mass (hypertrophy). For an optimization of the anabolic state and stimulation of skeletal muscle mass hypertrophy, there are some recommendations. Protein intake to optimize muscle protein synthesis is around 1.6/ kg body weight/ day, but the polyfraction of intakes (spaced 3-4 hours) at doses of 20 g for younger adults (or a larger amount - 40 g - after a post-workout that involves activation of muscles throughout the body) and 35-40g for the elderly, was the most important factor. More than the type of protein, the composition in essential amino acids and branched chain amino acids (mainly leucine), seems to have greater influence on the optimization of muscle protein synthesis (3-5g). Muscle protein synthesis levels are also slightly optimized in the first 3-4 hours after resistance training by a fast-digesting protein that targets a rapid peak of leucinaemia and aminoacidemia,

although it is a minor factor. In addition to this increase in protein intake, an increase in total energy intake is required (300-500 kcal). Regarding carbohydrate co-administration, if sufficient protein is available, sufficient insulin is released to enhance the anabolic effect of this hormone. However, ingestion of this macronutrient is important to replenish muscle glycogen stores. As for fat coingestion, the benefit that seems to exist in terms of anabolic response optimization lies in the coingestion of omega-3 (2-4g), mainly in the elderly, but also in young people. With regard to creatine supplementation, it induces an anabolic stimulus, due to its osmotic effect and the stimulation of muscle protein synthesis, and the supplementation should include a first phase of 5-7 days, with 20-25g / day of monohydrate creatine, followed by a phase with intake of 3-5g / day, at the end of resistance training, together with the protein source. As for β -hydroxy- β -methylbutyric acid (HMB), it has been shown to have some impact on the post-workout recovery and increase in skeletal muscle mass, associated with physical resistance exercise, and HMB in free form should be ingested 30- 60 minutes before resistance training (1-2g). Finally, there is no scientific evidence supporting the beneficial impact of beta alanine on skeletal muscle hypertrophy.

Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Introdução e Objetivos.....	1
Métodos.....	1
Análise crítica.....	2
Conclusão.....	15
Agradecimentos.....	16
Referências Bibliográficas.....	17

Introdução e Objetivos

O músculo-esquelético é essencial para uma ótima condição metabólica e uma boa performance desportiva. ^[1] Além do seu impacto positivo na performance e força, tem-se vindo a demonstrar que preservar ou aumentar a massa magra diminui o risco de aparecimento de vários tipos de patologias, como obesidade, doença cardiovascular, resistência à insulina, diabetes e osteoporose. ^[1,2] O principal objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar estratégias nutricionais que beneficiem a hipertrofia de massa muscular esquelética (MME) em adultos saudáveis, baseadas em evidência científica, seja para melhora da condição física, da performance desportiva ou por motivos estéticos. Os objetivos secundários incluem avaliar o impacto de diversos fatores de interesse na otimização da síntese de proteína muscular (SPM) e hipertrofia de MME: ingestão proteica (quantidade, timing e tipo de proteína), ingestão energética total, co-ingestão de hidratos de carbono, co-ingestão de gordura e papel do ómega-3, e influência da suplementação com creatina, Ácido β -hidróxi- β -metilbutírico e B-alanina.

Métodos

Para identificar citações para esta revisão, utilizei a base de dados PubMed para pesquisar estudos experimentais e revisões bibliográficas sobre o tema. Foram usados termos como "anabolismo muscular" ou "síntese de proteína muscular" ou "hipertrofia muscular" ou "ingestão de proteína e hipertrofia muscular". Foram excluídos estudos não humanos ou em humanos não saudáveis ou com contraindicações médicas, estudos em que o grupo controlo não foi considerado apropriado, estudos cuja ingestão proteica não fosse via oral, e por fim, estudos

cujo modo de exercício associado não fosse treino de resistência/força. Após a triagem inicial de títulos e resumos, foram examinados os documentos selecionados, e respectivas listas de referência. Os participantes eram adultos saudáveis, homens ou mulheres, não treinados ou que cumpriam um plano de treino de resistência, mais jovens ou idosos, que foram estudados sob descanso ou após treino de resistência, no estado alimentado ou em jejum.

Análise crítica

O que é hipertrofia muscular?

A hipertrofia traduz-se num crescimento dos elementos contráteis, que ficam maiores, e uma expansão da matriz extracelular para suportar esse crescimento. [3]

Um estímulo suficiente que potencie este acontecimento, principalmente ingestão proteica associada ao exercício físico de resistência/força [1,4,5], leva ao desencadear de uma cadeia de fenómenos miogénicos, que levam a um aumento de tamanho e quantidade de proteínas miofibrilares contráteis actina e miosina, e do número total e sarcómeros em paralelo, levando a um crescimento das fibras individuais e, conseqüentemente, a um aumento de tamanho do músculo. [3]

Como se Hipertrofia?

O tecido muscular esquelético exibe uma plasticidade e capacidade de adaptação notáveis. [3] As proteínas do músculo esquelético estão em contínuo processo de remodelação, através dos processos simultâneos de síntese de proteína muscular (SPM) e degradação de proteína muscular (DPM). Esta remodelação é um pré-requisito para o aumento de MME, e este aumento acontece quando a SPM excede a DPM. [1,3,6] A ingestão proteica é um estímulo fundamental para a

preservação/aumento de MME, regulado pela disponibilidade extra e intracelular de aminoácidos. ^[1,7] Além disso, o exercício de força é essencial para potenciar o estado anabólico, aumentando a capacidade do músculo esquelético para responder ao provisionamento de aminoácidos ^[5,8,9,10], e apresenta uma resposta hipertrófica maior, quando comparado com ingestão proteica por si só. ^[1] Várias hormonas no organismo beneficiam o estado anabólico, e a sua ação é potenciada pelo estímulo mecânico, como o IGF1 (particularmente a isoforma MGF), a testosterona, a hormona de crescimento ^[3] e a insulina ^[6]. Também as células satélite parecem beneficiar a hipertrofia muscular ^[3,4], e são normalmente quiescentes, mas tornam-se ativas quando um estímulo mecânico suficiente é aplicado, proliferando. ^[3] Estas providenciam percursores necessários, aumentam a capacidade de síntese de novas proteínas musculares, além de ajudarem na expressão de fatores regulatórios da reparação, regeneração e crescimento musculares ^[3,11]. A hidratação celular (também promovida pelo exercício de resistência), está relacionada com processos que envolvem a ativação de vias de sinalização, mediando efeitos que potenciam a resposta anabólica do músculo. ^[3] Das vias miogénicas que levam a um crescimento da MME, a via Akt/mTOR é a que tem mais impacto na construção de MME, pois, quando ativada, atua como supressora de sinais catabólicos, e promotora do estímulo anabólico muscular. ^[3,12] A mesma é positivamente influenciada pelo exercício físico de resistência ^[1,3] (stress metabólico e respostas celulares provocadas desencadeiam processos que levam à sua ativação) ^[3] e também pela ingestão proteica e disponibilidade de aminoácidos em circulação. ^[3,1] Esta disponibilidade é regulada por vários fatores nutricionais que influenciam a digestão da proteína, a absorção de aminoácidos, a sua captação pelo músculo, e a resposta pós prandial de SPM. ^[1]

Ingestão Proteica

Quantidade

Estudos sugerem que, para quem quer aumentar massa magra, a quantidade de proteína recomendada pelo Instituto de Medicina não é suficiente ^[13,14], já que esta se traduz no mínimo estimado para repor perdas e prevenir deficiências nutricionais ^[13,15] mas não foi feito para atletas, profissionais ou recreativos, ou para quem pretende hipertrofia muscular ^[14]. Nestes casos, o que se pretende é uma ingestão proteica que maximize a SPM, e promova o estado anabólico, associada a exercício de resistência/força ^[13,16]. Um estudo recente feito com bodybuilders experientes, concluiu que a incorporação da fenilalanina na SPM atingiu um plateau para uma ingestão proteica de 1,7 g/kg /dia (a partir da avaliação da sua oxidação), sugerindo que este valor corresponde à necessidade média estimada deste macronutriente, e sugerindo também uma dose diária recomendada de 2,2g/Kg peso/dia para bodybuilders experientes, para um IC superior a 95% ^[13]. Um estudo de revisão bibliográfica recente em adultos saudáveis concluiu, de acordo com a evidência atual, que uma ingestão proteica de 1,6g/Kg de peso/dia, associada a exercício físico de resistência (6 semanas ou mais), promove um aumento da massa muscular esquelética e força muscular, sem vantagens adicionais acima desse valor, sendo que com o avançar da idade e a experiência de treino de resistência, há uma redução e um aumento, respetivamente, da eficácia do efeito da ingestão proteica na promoção da hipertrofia muscular esquelética ^[16]. Relativamente à segurança de um aumento da ingestão proteica a nível do estado nutricional, a ingestão de uma elevada quantidade de proteína diária (valores que rodam as 2g/Kg peso/dia), insere-se dentro dos limites de uma ingestão máxima aceitável

deste macronutriente, mas deve ser acompanhado por um gasto energético suficientemente elevado (tendo em conta fatores como altura, peso, idade), para que as outras quantidades de macronutrientes não fiquem demasiado reduzidas [14]. O aumento da ingestão proteica tem sido associado a possibilidade de diminuição da função renal, mas só seria um problema para quem já tem patologia renal de base [11]. Aliás, estudos têm usado o indicador de oxidação de aminoácidos (IAAO) para determinar necessidades estimadas deste macronutriente para a população em geral, atingindo recomendações que sobrestimam as do balanço azotado [4,11,13,14] (1.0–1.2 g/kg/dia para adultos jovens saudáveis [17] e pelo menos 1.2 g-1.4 g/kg/dia para idosos [18,19,20]). Quanto à quantidade por dose, vários estudos de dose-resposta metabólica foram projetados para caracterizar a dose ideal de aminoácidos/proteína contida numa única dose para a estimulação máxima de SPM [21,22,23,24]. Dados sugerem que existe uma dose de proteína saturante, quanto à estimulação de SPM induzida pela alimentação [1,21], e que a dose ideal para maximizar a SPM é de 10 g de AAE (equivalente a uma dose de 20 g de proteína, a partir da qual se observa um plateau na SPM) [21] em adultos mais jovens, quer em repouso, quer no pós exercício de resistência [1,5,21,25], verificando-se uma estimulação pronunciada de oxidação irreversível de aminoácidos e síntese de ureia acima desse valor [1,21,25]. Contudo, estudos observaram um aumento de 10% nos valores médios de estimulação da SPM, após exercício de resistência, quando aumentavam a dose de proteína whey de 20g para 40g [21,25], indicando um pequeno retorno em termos de estimulação da SPM, com uma dose superior a 20g [21,25,26]. Um estudo recente com adultos jovens saudáveis obteve melhores resultados em termos de estimulação da SPM com ingestão 40g de proteína num pós-treino de resistência que envolvia grupos musculares de todo o corpo,

comparado com 20g, com significado estatístico, indicando que o que está em causa é a percentagem de ativação muscular, que sendo maior, levará a um benefício do consumo de maior quantidade de proteína no pós-treino [27]. Trabalhos anteriores tinham maior tendência em relacionar o treino de resistência com os membros inferiores ou superiores [10]. Quanto aos idosos, estudos sugerem que estes requerem doses individuais mais elevadas de proteína, em comparação aos mais jovens, se tiverem como objetivo otimizar a resposta anabólica, quer em repouso, quer no pós exercício de resistência [1,11, 28]. Efetivamente, a resposta da SPM ao aprovisionamento de aminoácidos, diminui com a idade [1,29,30], tal como sugerido acima [16]. Yang et al. observou uma melhor resposta com uma dose de 40g de proteína whey, comparativamente a 20g [24]. Estudos sugerem que uma quantidade de 35-40g de proteína é necessária para maximizar a SPM em idosos [22,24,31], apesar da dose ideal não estar ainda bem definida [1].

Timing

Apesar de o exercício de resistência estimular a SPM durante pelo menos 24 h [5,6] e até 48 h [5,32], a magnitude desse estímulo diminui com o passar do tempo (3>24>48 h), pois o músculo vai perdendo sensibilidade à ingestão proteica progressivamente [1]. Têm-se sugerido a possibilidade de uma "janela de oportunidade anabólica", que numa posição extrema, se enquadraria no período de 45-60 minutos após o exercício [1,26]. Estudos metabólicos sugerem que a ingestão proteica imediatamente após o exercício, não é fundamental para otimizar a resposta anabólica muscular [1,26,33]. Dados desses estudos revelam uma resposta semelhante de SPM e balanço azotado (NBAL) para ingestão proteica 1, 2 ou 3 h após exercício de resistência em jovens [1,34], e que a estimulação induzida pelo

exercício na SPM foi semelhante quando a ingestão proteica acontecia antes ou depois do exercício [33,35,36,37], resultando em aumentos semelhantes na MME após 10-12 semanas de treino de resistência [1,33]. Parece que suplementação proteica focada apenas na melhor hora de toma apresenta resultados inferiores ou semelhantes em termos de ganho de MME, comparando com o polifracionamento das tomas ao longo do dia [1,4,38,39]. Areta et al. demonstraram uma maior estimulação de SPM pós-exercício de resistência, durante 12 horas, se a ingestão de proteína whey fosse distribuída por 4 doses de 20g, de 3 em 3 horas, do que 2 porções de 40g, de 6 em 6 horas ou 8 porções de 10g, de 1,5 horas em 1,4 horas [40]. Mamerow et al. demonstraram uma melhor resposta de SPM pós-prandial, durante 24h, se a ingestão de 90g de proteína for distribuída por 3 refeições de 30g, espaçadas 3,5-4 horas, em comparação a uma ingestão menos distribuída [41]. Uma explicação teórica da melhor estimulação da SPM numa ingestão proteica mais distribuída ao longo do dia pode ser atribuída ao facto de a quantidade de aminoácidos essenciais e de leucina ideais para maximizar a SPM estejam repetidamente a ser fornecidas, em intervalos regulares [1,42]. Estudos concluíram que, mais importante do que a altura da toma, é o polifracionamento das tomas [26,33] e que a distribuição ideal de ingestão proteica para maximizar o estado anabólico e a resposta da SPM, nos pós treino de resistência, durante 12-24 h, é a ingestão de doses de, aproximadamente, 20g de proteína, com um intervalo de 3-4 horas entre tomas [1,26,43]. Estudos têm sugerido que a ingestão de uma fonte de proteína de absorção mais lenta, que promova uma libertação lenta dos aminoácidos na corrente sanguínea, ingerida imediatamente antes de dormir, promove um balanço azotado (BA) mais positivo durante a noite (associada a uma fase de BA negativo). Manter uma maior disponibilidade de

aminoácidos no sangue ao longo da noite, parece estimular a SPM e/ou atenuar a DPM [5,44,45,46]. No entanto, o impacto do tipo de proteína em si, não pode ser distinguido do aumento da ingestão proteica diária [1,5].

Tipo:

A digestibilidade e composição em aminoácidos varia consoante a fonte proteica. Muitos estudos têm comparado fontes proteicas mais rapidamente digeridas e de digestão mais lenta, como whey e caseína. Os resultados são inconsistentes, mas há algo interessante a notar. Estudos que sugerem uma maior resposta de SPM à proteína whey, em comparação com a caseína, avaliaram os resultados 4 horas ou menos após a ingestão de proteína [9,47,48], enquanto estudos que relatam que não houve diferenças entre os mesmos tipos de proteína, avaliaram os resultados ao fim de 5 h ou mais [49,50]. Um estudo em adultos jovens, que comparou os efeitos da ingestão de proteína whey isolada, em comparação a uma mistura proteica (25% soja + 50% caseína + 25% whey), com 19,3 g e 17,7g de proteína, respetivamente, ambas com à volta de 8,8g de AAE e 1,9g de leucina, concluiu que a proteína whey isolada resultou numa concentração mais elevada de BCAA totais (principalmente leucina) no plasma, no período pós-prandial de 2-4horas [51]. Estudos sugerem que uma proteína rapidamente digerida, principalmente a proteína whey (sobre a qual nenhuma outra demonstrou resultados superiores), estimula uma maior resposta de SPM no período pós-prandial precoce (de 3 a 4 horas) após o exercício físico de resistência, por provocar rápida leucinemia e hiperaminoacidemia, que, pelo menos neste intervalo, parece maximizar a resposta anabólica [1,4,5,6,52]. Apesar disso, a diferença acaba por ser muito pouco relevante em termos de estimulação global de SPM, em comparação a outras fontes proteicas de digestão mais lenta

(incluindo alimentos como leite ^[53] e bife ^[54]). Estas são também capazes de estimular uma resposta robusta de SPM, se as quantidades de AAE e aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), principalmente leucina, forem suficientes ^[4,5,6], já que estes parecem ser os fatores preponderantes. Estudos compararam proteína whey (que tem maior quantidade de leucina) com soja ^[55], ervilha ^[56] e arroz ^[57]. No estudo que incluía proteína de ervilha ^[56], não se verificou em nenhum grupo um aumento satisfatório de SPM, pois em ambos a quantidade de leucina estava abaixo do ideal. No que comparava proteína de arroz e whey (8 semanas, 12 pessoas), a quantidade de proteína de arroz suplementada era bem maior, e os resultados foram semelhantes, pois ambos tinham uma quantidade suficiente de AAE e leucina ^[57]. Um grande estudo longitudinal (9 meses) que incluía 20 pessoas e um programa de exercício de resistência, concluiu que para uma mesma quantidade de proteína whey e soja, a whey foi mais efetiva no aumento da SPM, já que na outra a quantidade de leucina ficava abaixo do ideal ^[55]. Um outro estudo que comparou proteína de soja, proteína whey e caseína, com iguais quantidades de AAE, obteve melhores resultados de estimulação da SPM em adultos jovens saudáveis, pela seguinte ordem: whey > soja > caseína, sendo que a caseína é das três a que apresenta menores quantidades de leucina ^[47]. Em termos de perfil de aminoácidos, o teor de leucina de uma fonte proteica é particularmente importante para maximizar a estimulação pós-prandial de SPM ^[1,11], pois esta não só fornece substrato para a síntese de proteína muscular, como se traduz num sinal anabólico chave para a construção de MME, ativando enzimas da via mTOR ^[4,5,11]. As proteínas que contêm uma percentagem elevada de BCAA totais, principalmente leucina, são mais eficazes em termos de estimulação da SPM ^[1,5,6,11], particularmente no pós treino de resistência ^[32]. O enriquecimento dos teores de

leucina de uma fonte proteica, efetivamente estimula o aumento da resposta pós-prandial ^[58] e pós-treino ^[59] de SPM, se essa fonte proteica contiver uma quantidade sub-ótima de leucina ^[5,11], como a caseína ^[60], mas se for adicionada a uma fonte proteica com quantidade suficiente de leucina para otimizar a estimulação de SPM, como a whey ^[59,61], não apresenta benefícios adicionais ^[1,32]. Um estudo em adultos jovens demonstrou uma maior resposta pós-exercício de resistência de SPM com ingestão de 25 g de proteína whey em comparação com a ingestão de uma dose baixa (6,25 g) da mesma proteína com adição de leucina (3g de leucina no total) (com co-ingestão de outros macronutrientes), mas uma resposta semelhante se a segunda tivesse 5g de leucina ^[62]. Em suma, com a ingestão de uma quantidade ótima de proteína (20-25g, 10g de AAE) no sentido da maximização da resposta de SPM, 3g de leucina são suficientes para maximizar a SPM, mas uma quantidade maior de leucina pode promover um aumento da SPM para a ingestão de uma quantidade sub-ótima de proteína e AAE ^[62].

Aumento da ingestão energética total

Estudos sugerem que, além de um aumento de ingestão proteica, é necessário um aumento de ingestão dos outros macronutrientes, ou seja, um aporte energético que exceda as necessidades energéticas diárias, para que o aumento de massa muscular efetivamente aconteça ^[1,63]. Apesar disso, o excesso calórico, ou seja, aumento da ingestão energética total, além de acompanhado por exercício físico de resistência, pode beneficiar um ligeiro aumento da massa gorda, não devendo ultrapassar as 200-300kcal (em comparação com 500kcal) para atletas que não pretendam um aumento de massa gorda ^[63].

Coingestão de Hidratos de Carbono (HC)

A co-ingestão de HC e proteína aumenta as concentrações plasmáticas de insulina, em comparação com HC [64] ou proteína [65] apenas. Sob condições de disponibilidade suficiente de aminoácidos, a insulina aumenta a captação de aminoácidos no músculo esquelético, aumentando a perfusão microvascular [66] e inicia uma supressão da DPM [5,67]. Estudos indicam que a ingestão de 6 g de aminoácidos com HC, aumenta a resposta anabólica pós-prandial, em adultos jovens, em comparação com a ingestão independente de aminoácidos [1,68]. Em contraste, estudos observaram que não houve diferenças entre as condições referidas [65,69,70]. Um estudo em adultos jovens, submetidos a um programa de treino de resistência (10 semanas), observou resposta semelhante no aumento de MME e força, com ingestão proteica apenas, ou com coingestão de proteína e HC [71]. Na presença de uma quantidade ótima de aminoácidos disponíveis, as concentrações basais de insulina decorrentes são suficientes para estimular a resposta anabólica e a SPM [5,67], saturando a sinalização da via mTORC1 resultante da ação da insulina [1,6,10,26]. No entanto, ingerir maior quantidade de HC pode ser importante para repor as reservas de glicogénio muscular. [26]

Coingestão de gordura e papel do Ómega-3

Existem algumas evidências, embora inconsistentes, que sugerem que a coingestão de gordura aumenta a resposta anabólica muscular [1]. Enquanto alguma evidência sugere que o aumento das concentrações de ácidos gordos livres no sangue, não teve impacto no balanço azotado [72], um estudo de grande relevância fisiológica [73] demonstrou que a ingestão de leite não-desnatado estimulou, no pós-exercício, uma utilização superior de aminoácidos ingeridos em

comparação com a ingestão de leite desnatado, com volumes iguais e teores de proteína semelhantes. Ainda assim, é provável que este benefício se possa ter devido ao aumento da ingestão energética total, e não propriamente à coingestão de gordura do leite. Mais especificamente, evidência sugere que, havendo algum benefício entre coingestão de gordura e proteína no sentido de maximizar a resposta anabólica, este existirá devido a coingestão de ómega-3 [1]. O ómega-3 tem propriedades anabolizantes, e tem capacidades relacionadas com a modificação do perfil lipídico da membrana dos fosfolípidos musculares [74,75], podendo ativar proteínas de sinalização anabolizantes ligadas à membrana, levando a um estímulo de ativação da via mTORC1, entre outros mecanismos [76,77]. Apesar de tudo, os estudos apresentam resultados mais consistentes em pessoas mais velhas, sugerindo que um período prolongado de suplementação com ómega-3 (2-4g) é capaz de aumentar a massa muscular e induzir melhorias na força muscular e capacidade funcional do músculo em idosos [78,79,80]. Contudo, há evidência de que o ómega-3 estimula uma melhor resposta metabólica de SPM à hiperinsulinemia e hiperaminoacidemia, em idosos [78,79], mas também em jovens [1,75,77]. O impacto do ómega-3 nas mudanças crónicas na massa muscular permanece desconhecido. Mais do que outras funções, a suplementação com ómega-3 parece sensibilizar o músculo para uma ótima resposta anabólica [1,77].

Creatina

Vários estudos têm observado efeitos positivos da creatina no aumento de MME bem como na força, quando induzido pelo estímulo de exercício de resistência. [1,11,81,82]. Pensa-se que o efeito osmótico da suplementação com creatina (induzindo stress celular) atua como um estímulo anabólico, e que esta afeta

diretamente a síntese de proteínas musculares através da modulação de componentes da via mTOR, tendo também um impacto positivo na proliferação e diferenciação de células satélite [83]. Relativamente à forma indicada para suplementação, um estudo mostrou que o consumo de creatina imediatamente após o treino, apresentou melhores resultados em termos de composição corporal e força, do que se tomada no pré-treino, apesar de ser um trabalho pouco consistente [84]. Tipicamente, a suplementação oral com creatina envolve 5-7 dias de ingestão de 20-25 gramas/dia ou 0,3g/Kg peso/dia, geralmente considerado o necessário para saturação adequada de creatina muscular esquelética (existe alguma evidência que sugere que 20 doses de 1g a cada 30 minutos, bem como a coingestão de hidratos de carbono/proteína, é uma melhor abordagem para uma retenção máxima de creatina muscular) [84,85], seguido de uma fase de manutenção de 3-5 gramas/dia ou 0,03g/Kg peso/dia [85,86] (5-7g diárias resultou em quantidades excessivas de creatinina urinária [84]). Esta estratégia e os valores referidos parecem ser ideais, com eficácia e segurança comprovadas, a par de exercício físico de resistência [82,85,86]. Relativamente à forma, o monohidrato de creatina (MC) é mais estável que os sais de creatina [85], mas principalmente, é a forma mais estudada, segura e com eficácia comprovada em centenas de estudos em termos de aumento da MME, força e otimização da performance, em conjunto com treino de resistência, não havendo evidência de que qualquer outra seja melhor nesse sentido [85,86,87]. Tem havido preocupações em relação à creatina e o seu impacto na função renal, mas os estudos indicam que a creatina é segura, e o seu uso é adequado em conjunto com exercício físico de resistência, desde que nas quantidades certas e que a intensidade do exercício o justifique [82,85,86,88], apesar de o seu efeito a longo prazo não estar ainda bem estudado [85].

Ácido β -hidróxi- β -metilbutírico (HMB)

Os seres humanos têm uma capacidade limitada de síntese endógena de HMB, um metabolito da leucina ^[11], que tem sido amplamente estudado ^[11,89,90,91]. A leucina e o HMB têm modos de ação semelhantes em termos de estimulação de SPM e inibição de DPM, embora as vias de sinalização pareçam ser distintas ^[11,92]. Estudos sugerem que a suplementação com HMB (3g/dia), estimula o aumento de MME (hipertrofia) e também de força ^[91,93], se o estímulo do treino de resistência provocar perturbações significativas e freqüentes no músculo esquelético ^[11,91,93]. Os efeitos do HMB na MME variam de acordo com fatores como a forma, o timing e a quantidade ^[93]. Em particular, devem ser ingeridas 1-2 gramas 30-60 minutos antes do exercício, se for HMB na forma livre (FL), e 60-120 minutos antes do exercício, se for HMB-Ca ^[93]. O HMB-FL apresenta um pico de concentração mais rápido e mais elevado, e um melhor clearance do HMB do plasma sanguíneo, apresentando maior eficácia ^[94]. Finalmente, para uma resposta ideal da suplementação com HMB, devem ser ingeridas 3 gramas/dia, durante duas semanas antes de um evento de treino de resistência de alta intensidade ^[93]. Os efeitos do HMB- β parecem estar relacionados com a intensidade do treino (quanto mais intenso, maior o efeito), e a experiência de quem treina (para indivíduos não treinados, um estímulo menor é suficiente) ^[93]. Quanto à segurança, segundo a evidência disponível até à data, o de HMB é um suplemento seguro, desde que usado com a devida supervisão ^[11,93].

Beta-alanina (BA)

A beta-alanina (BA) atua como precursor limitante da taxa de síntese de carnosina, tendo a capacidade de estimular o aumento dos níveis de carnosina no músculo

esquelético [95,96,97]. Doses de 4 a 6 g/dia de BA, resultaram em aumentos da carnosina muscular [95,96,97] com resultados mais evidentes quando a suplementação durava mais de 4 semanas [95]. Há também dados que sugerem que a suplementação de BA pode diminuir a percepção de fadiga [98,99] (inclusive em pessoas idosas [100,101]), e especulou-se que, consecutivamente, a suplementação com BA levasse a uma melhor performance no treino de resistência [98,102,103]. Um estudo comparou um grupo suplementado com creatina e outro com creatina + BA, e, apesar do segundo ter resultado numa maior acumulação de carnosina muscular, não se obtiveram diferenças com significado estatístico em termos de performance [103]. A evidência atual não suporta um real benefício da suplementação com BA no aumento de força ou na hipertrofia da MME [95].

Conclusão

Relativamente às estratégias nutricionais promotoras da hipertrofia da MME, foram avaliados diversos fatores, e concluiu-se que a ingestão proteica, em termos de quantidade, polifracionamento das tomas (mais importante do que a ingestão diária total em si), e tipo de proteína, a co-digestão de macronutrientes, e ainda os suplementos HMB e creatina, beneficiam o estado anabólico e a hipertrofia muscular esquelética. Em relação à suplementação com beta-alanina, a evidência científica disponível não suporta uma influência positiva no ganho de MME. Não sendo um fator nutricional, o exercício físico de resistência/força é preponderante para a otimização da MPS no sentido da hipertrofia muscular esquelética. Para concluir, com base na literatura científica atualmente disponível, as recomendações devem ser adaptadas à população ou ao contexto de interesse, considerando a idade e as condições de repouso/pós-treino de resistência.

Agradecimentos

Gostaria de deixar um agradecimento especial ao Professor Doutor Vitor Hugo Teixeira, pelo auxílio prestado na realização deste trabalho, pela disponibilidade em orientar-me e partilhar do seu conhecimento, e pela amabilidade com que sempre lidou comigo.

Referências Bibliográficas

1. Witard OC, Wardle SL, Macnaughton LS, Hodgson AB, Tipton KD. Protein Considerations for Optimising Skeletal Muscle Mass in Healthy Young and Older Adults. *Nutrients*. 2016; 8(4):181.
2. Wolfe RR. The underappreciated role of muscle in health and disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2006; 84(3):475-482.
3. Schoenfeld BJ. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *Journal of strength and conditioning research*. 2010; 24(10):2857-72.
4. Phillips SM. The impact of protein quality on the promotion of resistance exercise-induced changes in muscle mass. *Nutrition & metabolism*. 2016; 13:64.
5. Morton, R.W.; McGlory, C.; Phillips, S.M. Nutritional interventions to augment resistance training-induced skeletal muscle hypertrophy. *Front Physiol*. 2015; 6:245.
6. Phillips SM. A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2014; 44 Suppl 1:S71-7.
7. Kimball, S.R.; Jefferson, L.S. Control of protein synthesis by amino acid availability. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2002; 5(1):63-7.
8. Timmerman, K.L.; Dhanani, S.; Glynn, E.L.; Fry, C.S.; Drummond, M.J.; Jennings, K.; Rasmussen, B.B.; Volpi, E. A moderate acute increase in physical activity enhances nutritive flow and the muscle protein anabolic response to mixed nutrient intake in older adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012; 95(6):1403-12.

9. Pennings, B.; Koopman, R.; Beelen, M.; Senden, J.M.; Saris, W.H.; van Loon, L.J. Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for De Novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011 ;93(2):322-31.
10. Pasiakos, S.M.; McLellan, T.M.; Lieberman, H.R. The effects of protein supplements on muscle mass, strength, and aerobic and anaerobic power in healthy adults: a systematic review. *Sports Med.* 2015; 45(1):111-31.
11. Phillips, S.M. Current Concepts and Unresolved Questions in Dietary Protein Requirements and Supplements in Adults. *Front Nutr.* 2017; 4:13.
12. Camera, D.M.; Smiles, W.J.; Hawley, J.A. Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Free Radic Biol Med.* 2016; 98:131-43.
13. Bandegan, A.; Courtney-Martin, G.; Rafii, M.; Pencharz, P.B.; Lemon, P.W. Indicator Amino Acid-Derived Estimate of Dietary Protein Requirement for Male Bodybuilders on a Nontraining Day Is Several-Fold Greater than the Current Recommended Dietary Allowance. *J Nutr.* 2017; 147(5):850-857
14. Paddon-Jones, D. Protein Recommendations for Bodybuilders: In This Case, More May Indeed Be Better. *J Nutr.* 2017; 147(5):723-724.
15. Trumbo, P.; Schlicker, S.; Yates, AA.; Poos, M.; Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine, The National Academies. Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *J Am Diet Assoc.* 2002; 102(11):1621-30.

16. Morton, R.W.; Murphy, K.T.; McKellar, S.R.; Schoenfeld, B.J.; Henselmans, M.; Helms, E.; Aragon A.A.; Devries, M.C.; Banfield, L.; Krieger, J.W.; Phillips, S.M. 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.* 2017.
17. Elango, R.; Humayun, M.A.; Ball, R.O.; Pencharz, P.B. Evidence that protein requirements have been significantly underestimated. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010; 13(1):52-7.
18. Rafii, M.; Chapman, K.; Elango, R.; Campbell, W.W.; Ball, R.O.; Pencharz, P.B.; Courtney-Martin, G. Dietary protein requirement of men >65 years old determined by the indicator amino acid oxidation technique is higher than the current estimated average requirement. *J Nutr.* 2016; 146(1):681–7.
19. Rafii, M.; Chapman, K.; Owens, J.; Elango, R.; Campbell, W.W.; Ball, R.O.; Courtney-Martin, G. Dietary protein requirement of female adults >65 years determined by the indicator amino acid oxidation technique is higher than current recommendations. *J Nutr.* 2015; 145(1):18–24.
20. Tang, M.; McCabe, G.P.; Elango, R.; Pencharz, P.B.; Ball, R.O.; Campbell W.W. Assessment of protein requirement in octogenarian women with use of the indicator amino acid oxidation technique. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99(4):891–8.
21. Witard, O.C.; Jackman, S.R.; Breen, L.; Smith, K.; Selby, A.; Tipton, K.D. Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* 2014; 99(1):86-95.

22. Pennings, B.; Groen, B.; de Lange, A.; Gijzen, A.P.; Zorenc, A.H.; Senden, J.M.; van Loon, L.J. Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012 ;302(8):E992-E999.
23. Robinson, M.J.; Burd, N.A.; Breen, L.; Rerecich, T.; Yang, Y.; Hector, A.J.; Baker, S.K.; Phillips, S.M. Dose-dependent responses of myofibrillar protein synthesis with beef ingestion are enhanced with resistance exercise in middle-aged men. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2013; 38(2):120-5.
24. Yang, Y.; Breen, L.; Burd, N.A.; Hector, A.J.; Churchward-Venne, T.A.; Josse, A.R.; Tarnopolsky, M.A.; Phillips, S.M. Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men. *Br J Nutr.* 2012;108(10):1780–8.
25. Moore, D.R.; Robinson, M.J.; Fry, J.L.; Tang, J.E.; Glover, E.I.;Wilkinson, S.B.; Prior, T.; Tarnopolsky, M.A.; Phillips, S.M. Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89(1):161-8.
26. Aragon, A.A.; Schoenfeld, B.J. Nutrient timing revisited: is there a post-exercise anabolic window?. *J Int Soc Sports Nutr.* 2013; 10(1):5.
27. Macnaughton, L.S.; Wardle, S.L.; Witard, O.C.; McGlory, C.; Hamilton, D.L.; Jeromson, S.; Lawrence, C.E.; Wallis, G.A.; Tipton, K.D. The response of muscle protein synthesis following whole - body resistance exercise is greater following 40 g than 20 g of ingested whey protein. *Physiol Rep.* 2016; 4(15): e12893.

28. Moore, D.R.; Churchward-Venne, T.A.; Witard, O.; Breen, L.; Burd, N.A.; Tipton, K.D.; Phillips, S.M. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J. Gerontol.* 2015; 70(1):57-62.
29. Cuthbertson, D.; Smith, K.; Babraj, J.; Leese, G.; Waddell, T.; Atherton, P.; Wackerhage, H.; Taylor, P.M.; Rennie, M.J. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *FASEB J.* 2005; 19(3):422-424.
30. Katsanos, C.S.; Kobayashi, H.; Sheffield-Moore, M.; Aarsland, A.; Wolfe, R.R. Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 82(5):1065-1073.
31. Yang, Y.; Churchward-Venne, T.A.; Burd, N.A.; Breen, L.; Tarnopolsky, M.A.; Phillips, S.M. Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. *Nutr. Metab.* 2012; 9(1):57.
32. Rindom, E.; Nielsen, M.H.; Kececi, K.; Jensen, M.E.; Vissing, K.; Farup, J. Effect of protein quality on recovery after intense resistance training. *Eur J Appl Physiol.* 2016; 116(11-12):2225-2236.
33. Schoenfeld, B.J.; Aragon, A.; Wilborn, C.; Urbina, S.L.; Hayward, S.E.; Krieger, J. Pre- versus post-exercise protein intake has similar effects on muscular adaptations. *PeerJ.* 2017; 5:e2825.
34. Witard, O.C.; Cocke, T.L.; Ferrando, A.A.; Wolfe, R.R.; Tipton, K.D. Increased net muscle protein balance in response to simultaneous and separate

ingestion of carbohydrate and essential amino acids following resistance exercise.

Appl. Physiol. Nutr. Metab. 2014; 39(3):329-339.

35. Tipton, K.D.; Elliott, T.A.; Cree, M.G.; Aarsland, A.A.; Sanford, A.P.; Wolfe, R.R. Stimulation of net muscle protein synthesis by whey protein ingestion before and after exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 292(1):E71-E76.

36. Witard, O.C.; Tieland, M.; Beelen, M.; Tipton, K.D.; van Loon, L.J.; Koopman, R. Resistance exercise increases postprandial muscle protein synthesis in humans. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009; 41(1):144-54.

37. Candow, D.G.; Chilibeck, P.D.; Facci, M.; Abeysekara, S.; Zello, G.A. Protein Supplementation before and after resistance training in older men. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2006; 97(5):548-556.

38. Burk, A.; Timpmann, S.; Medijainen, L.; Vahi, M.; Oopik, V. Time-divided ingestion pattern of casein-based protein supplement stimulates an increase in fat-free body mass during resistance training in young untrained men. *Nutr. Res.* 2009; 29(6):405-413.

39. Hoffman, J.R.; Ratamess, N.A.; Tranchina, C.P.; Rashti, S.L.; Kang, J.; Faigenbaum, A.D. Effect of protein-supplement timing on strength, power, and body-composition changes in resistance-trained men. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 2009; 19(2):172-185.

40. Areta, J.L.; Burke, L.M.; Ross, M.L.; Camera, D.M.; West, D.W.; Broad, E.M.; Jeacocke, N.A.; Moore, D.R.; Stellingwerff, T.; Phillips, S.M.; et al. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. *J. Physiol.* 2013; 591(9):2319-2331.

41. Mamerow, M.M.; Mettler, J.A.; English, K.L.; Casperson, S.L.; Arentson-Lantz, E.; Sheffield-Moore, M.; Layman, D.K.; Paddon-Jones, D. Dietary protein distribution positively influences 24-h muscle protein synthesis in healthy adults. *J. Nutr.* 2014; 144(6):876-880.
42. Atherton, P.J.; Etheridge, T.; Watt, P.W.; Wilkinson, D.; Selby, A.; Rankin, D.; Smith, K.; Rennie, M.J. Muscle full effect after oral protein: Time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010; 92(5):1080-1088.
43. Areta, J.L.; Burke, L.M.; Ross, M.L.; Camera, D.M.; West, D.W.; Broad, E.M.; Jeacocke, N.A.; Moore, D.R.; Stellingwerff, T.; Phillips, S.M.; Hawley, J.A.; Coffey, V.G. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters MPS 2013. *J Physiol.* 2013; 591(9):2319-31.
44. Res, P.T.; Groen, B.; Pennings, B.; Beelen, M.; Wallis, G.A.; Gijzen, A.P.; Senden, J.M.; van Loon, L.J. Protein ingestion before sleep improves postexercise overnight recovery. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2012; 44(8):1560-1569.
45. Betts, J.A.; Beelen, M.; Stokes, K.A.; Saris, W.H.; van Loon, L.J. Endocrine responses during overnight recovery from exercise: Impact of nutrition and relationships with muscle protein synthesis. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 2011; 21(5):398-409.
46. Groen, B.B.; Res, P.T.; Pennings, B.; Hertle, E.; Senden, J.M.; Saris, W.H.; van Loon, L.J. Intra-gastric protein administration stimulates overnight muscle protein synthesis in elderly men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012; 302(1):E52-60.

47. Tang, J.E.; Moore, D.R.; Kujbida, G.W.; Tarnopolsky, M.A.; Phillips, S.M. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: Effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J. Appl. Physiol.* 2009; 107(3):987-992.
48. Burd, N.A.; Yang, Y.; Moore, D.R.; Tang, J.E.; Tarnopolsky, M.A.; Phillips, S.M. Greater stimulation of myofibrillar protein synthesis with ingestion of whey protein isolate v. Micellar casein at rest and after resistance exercise in elderly men. *Br. J. Nutr.* 2012; 108(6):958-962.
49. Reitelseder, S.; Agergaard, J.; Doessing, S.; Helmark, I.C.; Lund, P.; Kristensen, N.B.; Frystyk, J.; Flyvbjerg, A.; Schjerling, P.; van Hall, G.; et al. Whey and casein labeled with L-[1-¹³C]leucine and muscle protein synthesis: Effect of resistance exercise and protein ingestion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011; 300(1):E231-E242.
50. Tipton, K.D.; Elliott, T.A.; Cree, M.G.; Wolf, S.E.; Sanford, A.P.; Wolfe, R.R. Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2004; 36(12):2073-81.
51. Reidy, P.T.; Walker, D.K.; Dickinson, J.M.; Gundermann, D.M.; Drummond, M.J.; Timmerman, K.L.; Cope, M.B.; Mukherjea, R.; Jennings, K.; Volpi, E.; et al. Soy-dairy protein blend and whey protein ingestion after resistance exercise increases amino acid transport and transporter expression in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2014; 116(11):1353-1364.
52. Devries, M.C.; Phillips, S.M. Supplemental protein in support of muscle mass and health: Advantage whey. *J. Food Sci.* 2015; 80 Suppl 1:A8-A15.

53. Hartman, J.W.; Tang, J.E.; Wilkinson, S.B.; Tarnopolsky, M.A.; Lawrence, R.L.; Fullerton, A.V.; Phillips, S.M. Consumption of fat-free fluid milk after resistance exercise promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in young, novice, male weightlifters. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 86(2):373-381.
54. Burd, N.A.; Gorissen, S.H.; van Vliet, S.; Snijders, T.; van Loon, L.J. Differences in postprandial protein handling after beef compared with milk ingestion during postexercise recovery: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2015; 102(4):828-836.
55. Volek, J.S.; Volk, B.M.; Gomez, A.L.; Kunces, L.J.; Kupchak, B.R.; Freidenreich, D.J. et al. Whey protein supplementation during resistance training augments lean body mass. *J Am Coll Nutr.* 2013; 32(2):122–135.
56. Babault, N.; Paizis, C.; Deley, G.; Guerin-Deremaux, L.; Saniez, M.H.; Lefranc-Millot, C. et al. Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, Placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015; 12(1):3.
57. Joy, J.M.; Lowery, R.P.; Wilson, J.M.; Purpura, M.; De Souza, E.O.; Wilson, S.M. et al. The effects of 8 weeks of whey or rice protein supplementation on body composition and exercise performance. *Nutr J.* 2013;12:86.
58. Katsanos, C.S.; Kobayashi, H.; Sheffield-Moore, M.; Aarsland, A.; Wolfe, R.R. A High proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006; 291(2):E381-E387.

59. Dickinson, J.M.; Gundermann, D.M.; Walker, D.K.; Reidy, P.T.; Borack, M.S.; Drummond, M.J.; Arora, M.; Volpi, E.; Rasmussen, B.B. Leucine-enriched amino acid ingestion after resistance exercise prolongs myofibrillar protein synthesis and amino acid transporter expression in older men. *J. Nutr.* 2014; 144(11):1694-702.
60. Wall, B.T.; Hamer, H.M.; de Lange, A.; Alexandra, K.; Groen, B.B.; Senden, J.M.; Gijsen, A.P.; Verdijk, L.B.; van Loon, L.J. Leucine co-ingestion improves post-prandial muscle protein accretion in elderly men. *Clin. Nutr.* 2013; 32(3):412-419.
61. Glynn, E.L.; Fry, C.S.; Drummond, M.J.; Timmerman, K.L.; Dhanani, S.; Volpi, E.; Rasmussen, B.B. Excess leucine intake enhances muscle anabolic signaling but not net protein anabolism in young men and women. *J. Nutr.* 2010; 140(11):1970-1976.
62. Churchward-Venne, T.A.; Breen, L.; Di Donato, D.M.; Hector, A.J.; Mitchell, C.J.; Moore, D.R.; Stellingwerff, T.; Breuille, D.; Offord, E.A.; Baker, S.K.; et al. Leucine supplementation of a low-protein mixed macronutrient beverage enhances myofibrillar protein synthesis in young men: A double-blind, randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2014; 99(2):276-286.
63. Garthe, I.; Raastad, T.; Refsnes, P.E.; Sundgot-Borgen, J. Effect of nutritional intervention on body composition and performance in elite athletes. *Eur J Sport Sci.* 2013; 13(3):295-303.
64. Breen, L.; Philp, A.; Witard, O.C.; Jackman, S.R.; Selby, A.; Smith, K.; Baar, K.; Tipton, K.D. The influence of carbohydrate-protein co-ingestion following

endurance exercise on myofibrillar and mitochondrial protein synthesis. *J. Physiol.* 2011; 589(16):4011-4025.

65. Staples, A.W.; Burd, N.A.; West, D.W.; Currie, K.D.; Atherton, P.J.; Moore, D.R.; Rennie, M.J.; Macdonald, M.J.; Baker, S.K.; Phillips, S.M. Carbohydrate does not augment exercise-induced protein accretion versus protein alone. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2011; 43(7):1154-1161.

66. Timmerman, K.L.; Lee, J.L.; Dreyer, H.C.; Dhanani, S.; Glynn, E.L.; Fry, C.S.; Drummond, M.J.; Sheffield-Moore, M.; Rasmussen, B.B.; Volpi, E. Insulin stimulates human skeletal muscle protein synthesis via an indirect mechanism involving endothelial-dependent vasodilation and mammalian target of rapamycin complex 1 signaling. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(8):3848-3857.

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

68. Bird, S.P.; Tarpenning, K.M.; Marino, F.E. Liquid carbohydrate/essential amino acid ingestion during a short-term bout of resistance exercise suppresses myofibrillar protein degradation. *Metab. Clin. Exp.* 2006; 55(5):570-577.

69. Gorissen, S.H.; Burd, N.A.; Hamer, H.M.; Gijsen, A.P.; Groen, B.B.; van Loon, L.J. Carbohydrate coingestion delays dietary protein digestion and absorption but does not modulate postprandial muscle protein accretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; 99(6):2250-2258.

70. Hamer, H.M.; Wall, B.T.; Kiskini, A.; de Lange, A.; Groen, B.B.; Bakker, J.A.; Gijzen, A.P.; Verdijk, L.B.; van Loon, L.J. Carbohydrate co-ingestion with protein does not further augment post-prandial muscle protein accretion in older men. *Nutr. Metab.* 2013; 10(1):15.
71. Cribb, P.J.; Hayes, A. Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2006; 38(11):1918-1925
72. Katsanos, C.S.; Aarsland, A.; Cree, M.G.; Wolfe, R.R. Muscle protein synthesis and balance responsiveness to essential amino acids ingestion in the presence of elevated plasma free fatty acid concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94(8):2984-2990.
73. Elliot, T.A.; Cree, M.G.; Sanford, A.P.; Wolfe, R.R.; Tipton, K.D. Milk ingestion stimulates net muscle protein synthesis following resistance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2006; 38(4):667-674.
74. Smith, G.I.; Atherton, P.; Reeds, D.N.; Mohammed, B.S.; Rankin, D.; Rennie, M.J.; Mittendorfer, B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 93(2):402-412.
75. Smith, G.I.; Atherton, P.; Reeds, D.N.; Mohammed, B.S.; Rankin, D.; Rennie, M.J.; Mittendorfer, B. Omega-3 polyunsaturated fatty acids augment the muscle protein anabolic response to hyperinsulinaemia-hyperaminoacidaemia in healthy young and middle-aged men and women. *Clin. Sci.* 2011; 121(6):267-278.
76. McGlory, C.; Galloway, S.D.; Hamilton, D.L.; McClintock, C.; Breen, L.; Dick, J.R.; Bell, J.G.; Tipton, K.D. Temporal changes in human skeletal muscle

and blood lipid composition with fish oil supplementation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 2014; 90(6):199-206.

77. Jeromson, S.; Gallagher, I.J.; Galloway, S.D.; Hamilton, D.L. Omega-3 Fatty Acids and Skeletal Muscle Health. *Mar Drugs*. 2015; 13(11):6977-7004.

78. Rodacki, C.L.; Rodacki, A.L.; Pereira, G.; Naliwaiko, K.; Coelho, I.; Pequito, D.; Fernandes, L.C. Fish-oil supplementation enhances the effects of strength training in elderly women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012; 95(2):428-36.

79. Smith, G.I.; Julliand, S.; Reeds, D.N.; Sinacore, D.R.; Klein, S.; Mittendorfer, B. Fish oil-derived n-3 PUFA therapy increases muscle mass and function in healthy older adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 2015; 102(1):115-122.

80. Lalia, A.Z.; Dasari, S.; Robinson, M.M.; Abid, H.; Morse, D.M.; Klaus, K.A.; Lanza, I.R. Influence of omega-3 fatty acids on skeletal muscle protein metabolism and mitochondrial bioenergetics in older adults. *Aging (Albany NY)*. 2017; 9(4):1096-1129.

81. Antonio, J.; Ciccone, V. The effects of pre versus post workout supplementation of creatine monohydrate on body composition and strength. *J Int Soc Sports Nutr.* 2013; 10:36.

82. Buford T, Kreider R, Stout J, Greenwood M, Campbell B, Spano M, Ziegenfuss T, Lopez H, Landis J, Antonio J. International Society of Sports Nutrition position stand: creatine supplementation and exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2007; 4:6.

83. Farshidfar, F.; Pinder, M.A.; Myrie, S.B. Creatine supplementation and skeletal muscle metabolism for building muscle mass- review of the potential mechanisms of action. *Curr Protein Pept Sci.* 2017
84. Joshua J Gann, Sarah K McKinley-Barnard, Thomas L Andre, Ryan D Schoch, Darryn S Willoughby. Effects of a traditionally-dosed creatine supplementation protocol and resistance training on the skeletal muscle uptake and whole-body metabolism and retention of creatine in males. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015; 12(Suppl 1): P2.
85. Cooper, R.; Naclerio, F.; Allgrove, J.; Jimenez, A. Creatine supplementation with specific view to exercise/sports performance: an update. *J Int Soc Sports Nutr.* 2012; 9(1):33
86. Kreider, R.B.; Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J Int Soc Sports Nutr.* 2017;14:18.
87. Andres, S.; Ziegenhagen, R.; Trefflich, I.; Pevny, S.; Schultrich, K.; Braun, H.; Schänzer, W.; Hirsch-Ernst, Kl.; Schäfer, B.; Lampen, A. Creatine and creatine forms intended for sports nutrition. *Mol Nutr Food Res.* 2017; 61(6).
88. Pline KA, Smith CL. The effect of creatine intake on renal function. *Ann Pharmacother.* 2005; 39(6):1093-1096.
89. Wu H, Xia Y, Jiang J, Du H, Guo X, Liu X, et al. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gerontol Geriatr.* 2015; 61(2):168-175.

90. Holeček, M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017.
91. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Andersen, J.C.; Wilson, S.M.; Stout, J.R.; Duncan, N.; Fuller, J.C.; Baier, S.M.; Naimo, M.A.; Rathmacher, J. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. 2014; *114*(6):1217-1227.
92. Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS, Phillips BE, Crossland H, Williams J, et al. Effects of leucine and its metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *J Physiol*. 2013; *591*(11):2911-2923.
93. Wilson, J.M.; Fitschen, P.J.; Campbell, B.; Wilson, G.J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D.S.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; Ziegenfuss, T.N.; Lopez, H.L.; Kreider, R.B.; Smith-Ryan, A.E.; Antonio, J. International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate. *J Int Soc Sports Nutr*. 2013; *10*(1):6.
94. Fuller, J et. al., Free acid gel form of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt, *Br J Nutr*. 2011; *105*(3):367-372.
95. Trexler, E.T.; Smith-Ryan, A.E.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; Wilborn, C.D.; Sale, C.; Kreider, R.B.; Jäger, R.; Earnest, C.P.; Bannock, L.; Campbell, B.;

Kalman, D.; Ziegenfuss, T.N.; Antonio, J. International society of sports nutrition position stand: Beta-Alanine. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015; 12:30.

96. Stellingwerff T, Anwander H, Egger A, Buehler T, Kreis R, Decombaz J, et al. Effect of two beta-alanine dosing protocols on muscle carnosine synthesis and washout. *Amino Acids.* 2012; 42(6):2461–2472.

97. Saunders, B.; DE Salles Painelli, V.; DE Oliveira, L.F.; DA Eira Silva, V.; DA Silva, R.P.; Riani, L.; Franchi, M.; Gonçalves, L.S.; Harris, R.C.; Roschel, H.; Artioli, G.G.; Sale, C.; Gualano, B. Twenty-four Weeks of β -Alanine Supplementation, on Carnosine Content, Related Genes, and Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2017; 49(5):896-906.

98. Berti Zanella, P.; Donner Alves, F.; Guerini DE Souza, C. Effects of beta-alanine supplementation on performance and muscle fatigue in athletes and non-athletes of different sports: a systematic review. *J Sports Med Phys Fitness.* 2017; 57(9):1132-1141.

99. Derave W, Ozdemir MS, Harris RC, Pottier A, Reyngoudt H, Koppo K, Wise, J.A.; Achten, E.; Beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters. *J Appl Physiol (1985)* 2007;103(5):1736–43.

100. McCormack, W.P.; Stout, J.R.; Emerson, N.S.; Scanlon, T.C.; Warren, A.M.; Wells, A.J.; Gonzalez, A.M.; Mangine, G.T.; Robinson, E.H. 4th; Fragala, M.S.; Hoffman, J.R.; Oral nutritional supplement fortified with beta-alanine improves physical working capacity in older adults: a randomized, placebo-controlled study. *Exp Gerontol.* 2013; 48(9):933-939.

101. Stout JR, Graves BS, Smith AE, Hartman MJ, Cramer JT, Beck TW, et al. The effect of beta-alanine supplementation on neuromuscular fatigue in elderly (55–92 Years): a double-blind randomized study. *J Int Soc Sports Nutr.* 2008; 5:21.
102. Kendrick IP, Harris RC, Kim HJ, Kim CK, Dang VH, Lam TQ, et al. The effects of 10 weeks of resistance training combined with beta-alanine supplementation on whole body strength, force production, muscular endurance and body composition. *Amino Acids.* 2008; 34(4):547-54.
103. Hoffman J, Ratamess N, Kang J, Mangine G, Faigenbaum A, Stout J. Effect of creatine and beta-alanine supplementation on performance and endocrine responses in strength/power athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006; 16(4):430–446.