

Efeitos da Suplementação de Leucina Associada ao Treinamento Resistido Sobre a Força Muscular em Sujeitos Jovens

Effects of Leucine Supplementation Associated with Resistance Training on Muscle Strength in Young Subjects

Alan Pablo Grala^a; Marcos Antonio Rolim Teixeira^a; Tatiana Cipriano Nishitani^a;
André Fusco Melosi^a; Jeferson Lucas Jacinto^b; Andreo Fernando Aguiar^{bc*}

^aUniversidade Paranaense, Departamento de Educação Física. PR, Brasil.

^bUnopar, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Exercício Físico na Promoção da Saúde. PR, Brasil.

^cUnopar, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Reabilitação. PR, Brasil.

*E-mail: afaguiarunesp@gmail.com

Recebido em: 22/01/2017 – Aceito em: 22/03/2017

Resumo

A proposta do presente estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de leucina associada ao treinamento resistido (TR) de alta intensidade sobre a força muscular em sujeitos jovens não treinados. Para tanto, 24 indivíduos jovens não treinados, de ambos os sexos, foram divididos em dois grupos ($N = 12/\text{grupo}$): Leucina (4g de leucina + 8g dextrose) e Placebo (12g dextrose). Ambos os grupos foram submetidos a um programa de TR de alta intensidade (3 séries de 12 repetições máximas; 2x/semana) com duração de 6 semanas, e consumiram seus respectivos suplementos imediatamente após cada sessão de treino. As sessões de treino consistiram na realização dos exercícios de *leg press* e cadeira extensora, a fim de maximizar o recrutamento do músculo quadríceps. Ambos os grupos foram submetidos ao teste de uma repetição máxima (1RM) nos exercícios de *leg press* e cadeira extensora, nos momentos pré e pós-treinamento. Ao término do treinamento, houve um significativo ($P < 0,05$) aumento do 1RM em ambos os exercícios, mas nenhuma diferença foi observada entre os grupos. Além disso, a progressão da carga de treino foi similar ($P > 0,05$) entre os grupos, após 4 e 6 semanas de treinamento. Estes resultados indicam que a suplementação de uma baixa dose semanal de leucina (4g/dia; 2x/semana) associada ao TR em curto prazo não promove efeitos adicionais sobre a força muscular em indivíduos jovens não treinados.

Palavras-chave: Músculo Esquelético. Suplementação Alimentar. Leucina.

Abstract

The purpose of the study herein was to examine the leucine supplementation effects associated with high-intensity resistance training (RT) on muscle strength in young untrained subjects. Twenty-four young untrained subjects from both sexes were divided into two groups ($N = 12/\text{group}$): Leucine (4g leucine + 8g dextrose) and Placebo (12g dextrose). Both groups underwent a 6-wk high-intensity RT program (3 sets of 12 maximal repetitions; 2x/week), and consumed their respective supplements immediately after each training session. The training sessions consisted of performing leg press and knee extension exercises, in order to maximize the recruitment of the quadriceps muscle. Both groups performed the one-repetition maximum (1RM) test in the leg press and extensor chair exercises at pre- and post-training. After RT program, there was a significant ($P < 0.05$) increased 1RM in both exercises, but no difference was observed between the groups. In addition, the training load progression was similar ($P > 0.05$) between the groups after 4 and 6 weeks of training. These results indicate that low dose supplementation of leucine (4g/day; 2x/week) associated with a short-term RT program does not promote additional effects on muscle strength in untrained young subjects.

Keywords: Skeletal Muscle. Supplementary Feeding. Leucine.

1 Introdução

O aumento da massa muscular induzido pelo treinamento resistido (TR) é principalmente atribuído a uma ação coordenada de vias intracelulares, que controlam a relação entre síntese (anabolismo) e degradação (catabolismo) de proteínas contráteis no tecido muscular¹⁻³. A via de sinalização da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (*mammalian target of rapamycin* [mTOR]) tem sido descrita como uma das principais responsáveis pelo aumento da relação entre a taxa de síntese e degradação protéica miofibrilar em resposta ao exercício resistido⁴, e consequente aumento da massa muscular.

A mTOR pode ser ativada por meio de estímulos mecânicos (ex: TR) e nutricionais (ex: consumo de

proteínas) que convergem na fibra muscular⁴. Por exemplo, os aminoácidos essenciais (*essential amino acid* [EAAs]) (em particular a leucina) têm sido descritos como potenciais estimuladores da síntese protéica, por meio da ativação da via mTOR⁴. Prévios estudos relatam que a administração de leucina (1,35 g/kg de peso corporal) pode aumentar a taxa de síntese protéica (TSP) e o nível de estimulação da via mTOR no músculo esquelético de ratos desprovidos de alimento⁵. Adicionalmente, tem sido reportado um aumento da TSP em homens jovens, que consumiram uma bebida contendo EAAs enriquecidos com leucina, comparados ao grupo controle (sem bebida)⁶. Este efeito adicional da suplementação de leucina sobre a TSP também foi observado após 30 min. de atividades padronizadas da vida diária, em homens jovens (20 ± 1 anos) e idosos (75 ± 1 anos) que consumiram uma

bebida contendo carboidrato, proteínas e leucina, comparado ao consumo isolado de carboidrato⁷.

Coletivamente, os resultados desses estudos supracitados e vários outros⁸⁻¹⁰ sugerem que a suplementação de leucina pode ser favorável para aumentar a TSP. No entanto, prévios estudos que examinaram os efeitos da suplementação crônica (4-10 semanas) de leucina combinada a outros nutrientes (EAAs, creatina, proteína de soro de leite e/ou carboidrato), não relataram efeitos benéficos sobre a força muscular¹¹⁻¹⁴. Além disso, nenhum estudo até o momento investigou os possíveis efeitos da suplementação isolada de leucina associada ao TR sobre a força muscular em sujeitos jovens. Portanto, ainda há dúvidas se a suplementação isolada de leucina, combinada ao TR, pode ser favorável para aumentar os níveis de força muscular em sujeitos jovens.

A proposta do presente estudo foi investigar os efeitos da suplementação isolada de leucina associada ao TR sobre a força muscular de indivíduos jovens não treinados. Testou-se a hipótese de que a suplementação de leucina combinada ao TR deveria promover maiores ganhos de força muscular, comparada ao treinamento isolado.

2 Material e Métodos

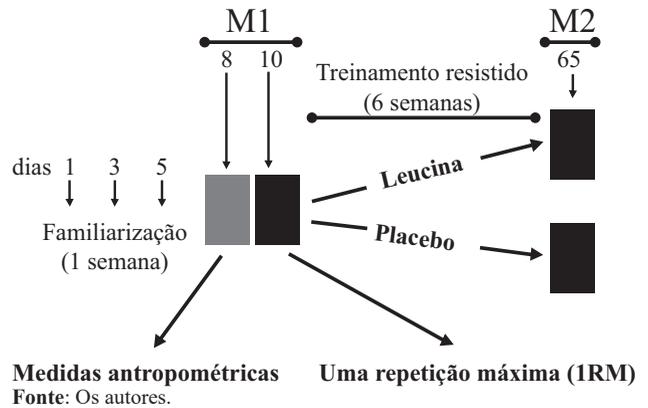
2.1 Participantes

Trinta indivíduos jovens (idade: $21,7 \pm 3,3$ anos) previamente não treinados, de ambos os sexos, participaram voluntariamente deste estudo. Os critérios para inclusão na amostra foram: não ser fumante; não ser etilista; não estar envolvido em programas de exercício físico nos últimos 12 meses prévios ao estudo; não apresentar histórico de disfunções metabólicas e musculares; não fazer uso de medicamentos que possam influenciar a força muscular; não fazer uso de suplementos nutricionais ou esteroides anabolizantes nos últimos 6 meses prévios ao estudo; e não apresentar restrição médica para prática de exercício físico. Todos os participantes foram previamente informados sobre os objetivos, os riscos, os benefícios e os procedimentos realizados na investigação, e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Conselho de Revisão da Universidade (protocolo n°. 47528515.1.0000.0109). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque de 1964.

2.2 Desenho experimental

O presente estudo utilizou um delineamento experimental aleatório, duplo-cego, e controlado com placebo (Figura 1). Inicialmente, todos os participantes foram submetidos a três sessões de familiarização, para aprendizado da técnica de execução dos exercícios de cadeira extensora e *leg press* (bilateral).

Figura 1. Desenho experimental



Em seguida, os participantes foram submetidos a três testes de uma repetição máxima (1RM) (momento 1 [M1]), para determinação da força dinâmica máxima. Após o momento M1, os sujeitos foram equiparados em relação à força de 1RM e randomizados em dois grupos ($N = 12$ /grupo): grupo suplementado com Leucina (Leucina) e grupo suplementado com dextrose (Placebo) (Quadro 1).

Quadro 1: Características basais dos grupos Placebo ($N = 12$) e Leucina ($N = 12$)

	Placebo	Leucina	<i>p</i>
Idade (anos)	$22,3 \pm 4,2$	$21,2 \pm 2,1$	0,36
Peso (kg)	$70,1 \pm 13,2$	$66,8 \pm 14,9$	0,52
Estatura (cm)	$159,1 \pm 44,9$	$155 \pm 43,7$	0,21
IMC (kg/m^2)	$23,6 \pm 3,5$	$24,0 \pm 4,9$	0,80

Valores expressos em média \pm DP.

Fonte: Dados da pesquisa.

Ambos os grupos foram submetidos a um programa de TR de alta intensidade (3 séries de 12 repetições máximas, com intervalos de 1 e 2 minutos entre as séries e exercícios, respectivamente), com duração de 6 semanas. Ao término do programa de treinamento, os sujeitos realizaram novamente o teste de 1RM (momento 2 [M2]), a fim de examinar os possíveis efeitos da suplementação de leucina sobre a força muscular (Figura 1).

2.3 Protocolo de familiarização

Para evitar potenciais efeitos de aprendizado e garantir a confiabilidade dos dados, todos os participantes foram submetidos a três sessões de familiarização (em dias alternados), para aprendizado da técnica de execução dos exercícios de cadeira extensora e *leg press* (ambos bilaterais). O protocolo de familiarização consistiu de duas séries de 12 repetições máximas a 70% de 1RM estimado, com intervalo de um minuto entre as séries. A última sessão de familiarização foi utilizada para aprendizado do teste de 1RM. Durante todos os exercícios e testes os sujeitos se apresentaram continuamente monitorados e estimulados verbalmente pelos avaliadores.

2.4 Protocolo de treinamento

Ambos os grupos (Leucina e Placebo) foram submetidos a um programa de TR de alta intensidade (3 séries de 12 repetições máximas, com intervalos de um e dois minutos entre as séries e exercícios, respectivamente), com duração de 6 semanas (2x/semana). A ordem de execução dos exercícios foi: (1) *leg press* bilateral (*leg press*; Greko®) e (2) extensão do joelho bilateral (cadeira extensora; Greko®), e a cadência de movimento foi de aprox. 1:2 segundos (extensão/flexão). A carga de treino foi ajustada quinzenalmente, mediante o número de repetições máximas realizadas na última série de cada exercício (cargas de 2 kg foram acrescentadas a cada 1 repetição excedidas às 12 repetições prescritas). A carga (kg) de treino foi registrada, para análise da progressão da força ao longo do programa de treinamento. Antes das sessões de treino, os participantes realizaram um aquecimento de 10 minutos em cicloergômetro. As sessões foram realizadas sempre no mesmo período do dia, entre 18:00 h e 22:00 horas.

2.5 Suplementação

Os grupos Leucina e Placebo e foram suplementados de modo aleatório e duplo-cego, com leucina (4g de leucina + 8 g de dextrose) e placebo (12g de dextrose), respectivamente. Os suplementos foram armazenados em embalagens idênticas, com similar aroma e sabor, e consumidos imediatamente após cada sessão de treino (diluídos em 200 ml de água). Tal dose foi escolhida considerando prévios estudos, que utilizaram doses similares (aprox. 3,4–5 g de Leucina) em conjunto com outras proteínas (ex: *mix* de proteínas)⁹ ou na forma isolada¹⁵, e demonstraram aumento da TSP miofibrilar. Além disso, doses superiores a 4 g (ex: 7,5 g/dia) têm sido bem toleradas, em estudos em um longo prazo¹⁶.

2.6 Força dinâmica máxima (1RM)

Ambos os grupos foram submetidos ao teste de 1RM nos exercícios de *leg press* e extensão do joelho, nos momentos pré (M1) e pós-treinamento (M2). Antes de iniciar o teste, os participantes realizaram um aquecimento muscular específico, consistindo de 3 séries de 8 (50% de 1RM estimado), 5 (70% 1RM) e 2 (85% 1RM) repetições, respectivamente¹⁷. Subsequentemente, os sujeitos foram orientados a realizar até duas repetições máximas, com uma carga predeterminada pelos avaliadores. De acordo com o número de repetições realizadas na primeira tentativa do teste, cargas adicionais foram acrescentadas até que o participante executasse apenas uma repetição máxima (1RM), atingindo toda amplitude do movimento. Foram permitidas quatro tentativas para determinar a carga de 1RM, com intervalo de 3 a 5 minutos entre cada tentativa. Um avaliador experiente aplicou o teste, de modo a encontrar a carga de 1RM em no máximo três tentativas durante o dia de teste. Durante o teste os sujeitos foram continuamente monitorados e encorajados verbalmente pelos avaliadores, não havendo qualquer “feedback” visual. Os participantes foram instruídos a não realizar qualquer

tipo de atividade física ou exercícios resistidos, por um período de 2 dias precedentes ao teste.

2.7 Análise estatística

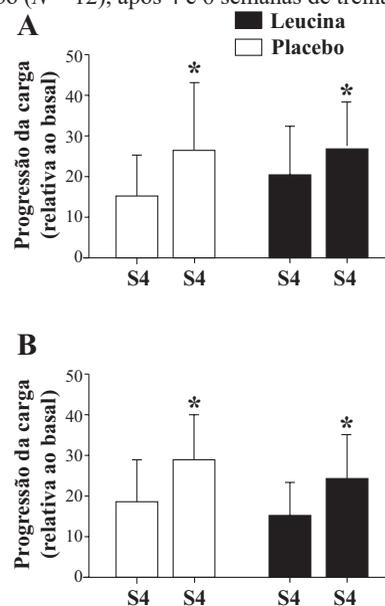
Os dados foram descritos em média \pm DP. A normalidade e a homogeneidade dos dados foram analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Testes de ANOVA para medidas repetidas, complementados com Tukey, foram utilizados para avaliar os dados de progressão da carga após 4 e 6 semanas de treino. Para análise do delta de variação ($\Delta\%$, pré-pós-treino) foi aplicado o teste t não pareado. O nível de significância foi de $P < 0,05$. Todas as análises foram realizadas no software SPSS, versão 20.0.

3 Resultados e Discussão

A proposta do presente estudo foi investigar os efeitos da suplementação isolada de leucina associada ao TR sobre a força muscular de indivíduos jovens previamente não treinados. Testou-se a hipótese de que a suplementação de leucina combinada ao TR deveria promover maiores ganhos de força muscular, comparada ao treinamento isolado. O principal achado deste estudo foi que a suplementação de leucina (4g/dia, 2x/semana) durante um programa de TR em curto prazo (6 semanas) não promoveu efeitos adicionais sobre a força muscular em sujeitos jovens não treinados.

A Figura 2 apresenta os dados da progressão de carga (relativa ao basal) após 4 e 6 semanas do programa de treinamento. A progressão da carga foi utilizada como indicador indireto de aumento da força muscular. Apesar de um significativo ($P < 0,05$) efeito principal para o tempo em ambos os exercícios (cadeira extensora e *leg press*), nenhuma interação significativa (grupo x tempo; $P > 0,05$) foi observada.

Figure 2: Progressão da carga de treinamento nos exercícios de cadeira extensora (A) e *leg press* (B) dos grupos Leucina ($N = 12$) e Placebo ($N = 12$), após 4 e 6 semanas de treinamento

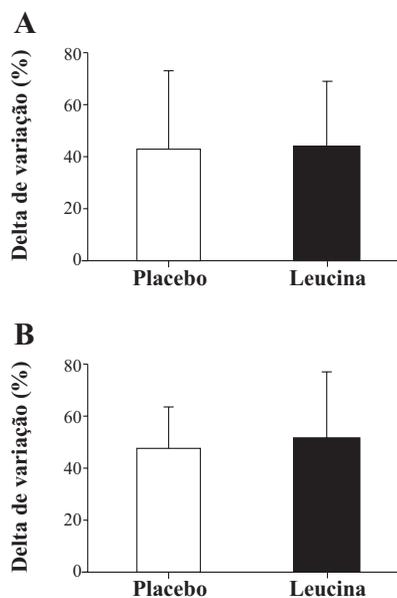


* $P < 0,05$ em relação a 4 semanas.

Fonte: Os autores.

Os resultados da presente investigação são consistentes com o estudo de Mielke *et al.*¹⁸, na qual indivíduos jovens (idade: $22,7 \pm 2,8$ anos) foram divididos em três grupos experimentais (G1: controle, G2: *whey protein* + leucina (6,2 g), e G3: carboidrato) e, posteriormente, submetidos a um programa de TR com duração de 8 semanas (3x/semana). Ao término do treinamento, os autores observaram um aumento da força muscular em todos os grupos, porém nenhum efeito adicional da leucina foi observado. Tais resultados não são surpreendentes considerando prévios estudos, que examinaram os efeitos da suplementação crônica (4-10 semanas) de leucina combinada a outros nutrientes (EAAs, creatina, proteína de soro de leite e/ou carboidrato) sobre a força muscular¹¹⁻¹⁴. Os achados destes estudos não demonstraram efeitos adicionais da suplementação de leucina sobre os ganhos de força muscular. Corroborando estes estudos, os resultados referentes à força dinâmica máxima (1RM) demonstraram um efeito principal para o tempo, em ambos os exercícios (cadeira extensora e *leg press*), mas nenhuma interação significativa (grupo x tempo; $P > 0,05$) foi observada (Figura 3).

Figura 3: Delta de variação da força dinâmica máxima (1RM) nos exercícios de cadeira extensora (A) e *leg press* (B) dos grupos Leucina ($N = 12$) e Placebo ($N = 12$), após 6 semanas de treinamento. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos.



Fonte: Os autores.

Todavia, vale ressaltar que a falta de efeito da suplementação de leucina observada neste estudo pode estar relacionada à quantidade total de leucina ingerida durante a semana de treino. O grupo leucina foi suplementado com uma frequência de 2x/semana (pós-treino), totalizando uma ingestão semanal de 8 g. No entanto, prévios estudos que utilizaram uma maior frequência de suplementação (>3x/semana) combinada com TR, relataram efeitos adicionais da leucina sobre a força muscular^{19,20}. Por exemplo, Ispoglou *et al.*²⁰ demonstraram um aumento adicional da força muscular em indivíduos jovens suplementados diariamente com leucina (4g/dia, totalizando um consumo semanal de 28g) durante um

programa de TR com duração de 12 semanas. Similarmente, Coburn *et al.*¹⁹ observaram um aumento adicional da força muscular em indivíduos jovens ($22,4 \pm 2,4$ anos) saudáveis suplementados com leucina (6,2g/dia, totalizando um consumo semanal de 18,6g) + *whey protein*, comparados ao grupo que ingeriu apenas carboidrato, após um programa de TR com duração de 8 semanas. Portanto, é provável que a suplementação de leucina seja efetiva somente quando elevadas doses são consumidas durante a semana de treino. Os resultados identificados suportam esta hipótese, uma vez que a ingestão de uma baixa dose de leucina (total: 8g/semana) associada ao TR, não foi efetiva para promover benefícios sobre a força muscular em sujeitos jovens não treinados.

Curiosamente, a suplementação de leucina parece ser mais efetiva em sujeitos jovens do que idosos. Prévios estudos, que utilizaram elevadas doses de leucina (> 18 g/semana) em indivíduos idosos não demonstraram efeitos adicionais sobre os níveis de força^{16,21,22}. Por exemplo, Stragier *et al.*²² investigaram os efeitos da suplementação de proteína enriquecida com leucina (2,6g/dia) sobre a força e hipertrofia muscular de indivíduos idosos submetidos a 24 semanas de TR (2x/semana). Apesar de um aumento da força em reposta ao treinamento TR, a magnitude de aumento foi similar entre os grupos Leucina e Placebo. Similarmente, Verhoeven *et al.*¹⁶ e Leenders *et al.*²¹ não observaram aumento dos níveis de força muscular em indivíduos idosos suplementados com leucina (7.5g/dia) por um período de 12 e 24 semanas, respectivamente. Por outro lado, Trabal *et al.*²³ demonstraram que a suplementação de leucina (10g/dia) combinada a 12 semanas de TR foi efetiva para aumentar a força isométrica dos membros inferiores e componentes funcionais de indivíduos idosos. Portanto, ainda há dúvidas quanto ao efeito ergogênico da suplementação de leucina em indivíduos idosos. Uma possível explicação para a divergência entre os estudos poderia ser a diferença entre os protocolos experimentais de suplementação (ex: dose, frequência, e combinação com outros nutrientes) e treinamento (ex: intensidade, volume, frequência e tempo).

É importante notar que a dose consumida, diariamente, parece ser mais importante do que o tempo/período de suplementação para evidenciar um possível efeito ergogênico da leucina em indivíduos idosos. Esta hipótese é suportada por estudos em longo prazo (24 semanas), que utilizaram baixas doses de leucina (2,6g g/dia) combinada ao TR, e não encontraram efeitos adicionais sobre a força²², enquanto que estudos em médio prazo (12 semanas), que utilizaram dose mais elevadas (10g/dia) associadas ao TR, relataram efeitos positivos²³. A importância da dose consumida também foi evidenciada em estudos com indivíduos jovens^{19,20}. Nestes estudos, os autores demonstraram que um elevado consumo semanal de leucina (aprox. 18-28 g) associada ao TR a médio (8 semanas)¹⁹ e longo (12 semanas)²⁰ prazo, pode ser favorável para aumentar os níveis de força muscular em indivíduos jovens. Portanto, é provável que a falta de efeito da suplementação de leucina observada neste estudo seja mais associada à baixa dose consumida semanalmente

(8g), do que ao curto período de suplementação (6 semanas).

4 Conclusão

Os resultados do presente estudo indicam que a suplementação de uma baixa dose semanal de leucina (4g/dia; 2x/semana) associada ao TR em curto prazo, não promove efeitos adicionais sobre a força muscular em indivíduos jovens previamente não treinados. Futuros estudos utilizando doses mais elevadas em longos períodos de suplementação são necessários para confirmar a efetividade da leucina como potencial ergogênico nutricional.

Agradecimentos

A Universidade Paranaense (UNIPAR) pelo suporte financeiro desta pesquisa.

Referências

- Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology* 2008;23:160-70.
- Lantier L, Mounier R, Leclerc J, Pende M, Foretz M, Viollet B. Coordinated maintenance of muscle cell size control by AMP-activated protein kinase. *FASEB J* 2010;24(9):3555-61. doi: 10.1096/fj.10-155994.
- Powers SK, Howley ET. *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho*. São Paulo: Manole; 2014.
- Drummond MJ, Dreyer HC, Fry CS, Glynn EL, Rasmussen BB. Nutritional and contractile regulation of human skeletal muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *J Appl Physiol* 2009;106(4):1374-84. doi: 10.1152/jappphysiol.91397.2008.
- Anthony JC, Yoshizawa F, Anthony TG, Vary TC, Jefferson LS, Kimball SR. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *J Nutr* 2000;130(10):2413-9.
- Dreyer HC, Drummond MJ, Pennings B, Fujita S, Glynn EL, Chinkes DL, *et al.* Leucine-enriched essential amino acid and carbohydrate ingestion following resistance exercise enhances mTOR signaling and protein synthesis in human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294(2):392-400. doi:10.1152/ajpendo.00582.2007
- Koopman R, Verdijk L, Manders RJ, Gijsen AP, Gorselink M, Pijpers E, *et al.* Co-ingestion of protein and leucine stimulates muscle protein synthesis rates to the same extent in young and elderly lean men. *Am J Clin Nutr* 2006;84(3):623-32.
- Churchward-Venne TA, Burd NA, Mitchell CJ, West DW, Philp A, Marcotte GR, *et al.* Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men. *J Physiol* 2012;590(11):2751-65. doi: https://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2012.228833
- Churchward-Venne TA, Breen L, Di Donato DM, Hector AJ, Mitchell CJ, Moore DR, *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* 2013:1-11.
- Luiking YC, Deutz NE, Memelink RG, Verlaan S, Wolfe RR. Postprandial muscle protein synthesis is higher after a high whey protein, leucine-enriched supplement than after a dairy-like product in healthy older people: a randomized controlled trial. *Nutr J* 2014;13-9. doi: 10.1186/1475-2891-13-9
- Antonio J, Sanders MS, Ehler LA, Uelmen J, Raether JB, Stout JR. Effects of exercise training and amino-acid supplementation on body composition and physical performance in untrained women. *Nutrition* 2000;16(11/12):1043-6. doi: 10.1186/1475-2891-13-9.
- Williams AG, van den Oord M, Sharma A, Jones DA. Is glucose/amino acid supplementation after exercise an aid to strength training? *Br J Sports Med* 2001;35(2):109-13. doi: http://dx.doi.org/10.1136/bjism.35.2.109
- Ratamess NA, Kraemer WJ, Volek JS, Rubin MR, Gómez AL, French DN, *et al.* The effects of amino acid supplementation on muscular performance during resistance training overreaching. *J Strength Cond Res* 2003;17(2):250-8.
- Chromiak JA, Smedley B, Carpenter W, Brown R, Koh YS, Lamberth JG, *et al.* Effect of a 10-week strength training program and recovery drink on body composition, muscular strength and endurance, and anaerobic power and capacity. *Nutrition* 2004;20(5):420-7.
- Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS, Phillips BE, Crossland H, Williams J, *et al.* Effects of leucine and its metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *J Physiol* 2013;591(11):2911-23. doi: 10.1113/jphysiol.2013.253203.
- Verhoeven S, Vanschoonbeek K, Verdijk LB, Koopman R, Wodzig WK, Dendale P, *et al.* Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am J Clin Nutr* 2009;89(5):1468-75. doi: 10.3945/ajcn.2008.26668.
- Gotshalk LA, Volek JS, Staron RS, Denegar CR, Hagerman FC, Kraemer WJ. Creatine supplementation improves muscular performance in older men. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34(3):537-43.
- Mielke M, Housh TJ, Malek MH, Beck TW, Schmidt RJ, Johnson GO, *et al.* The effects of whey protein and leucine supplementation on strength, muscular endurance, and body composition during resistance training. *J Exerc Physiol Online* 2009;12(5):39-50.
- Coburn JW, Housh DJ, Housh TJ, Malek MH, Beck TW, Cramer JT, *et al.* Effects of leucine and whey protein supplementation during eight weeks of unilateral resistance training. *J Strength Cond Res* 2006;20(2):284-91. doi: 10.1519/R-17925.1
- Ispoglou T, King RF, Polman RC, Zanker C. Daily L-leucine supplementation in novice trainees during a 12-week weight training program. *Int J Sports Physiol Perform* 2011;6(1):38-50.
- Leenders M, Verdijk LB, van der Hoeven L, van Kranenburg J, Hartgens F, Wodzig WK, *et al.* Prolonged leucine supplementation does not augment muscle mass or affect glycemic control in elderly type 2 diabetic men. *J Nutr* 2011;141(6):1070-6. doi: 10.3945/jn.111.138495
- Stragier S, Baudry S, Poortmans J, Duchateau J, Carpentier A. Leucine-enriched protein supplementation does not influence neuromuscular adaptations in response to a 6-month strength training programme in older adults. *Exp Gerontol* 2016;82:58-66. doi: http://doi.org/10.1016/j.exger.2016.06.002
- Trabal J, Forga M, Leyes P, Torres F, Rubio J, Prieto E, *et al.* Effects of free leucine supplementation and resistance training on muscle strength and functional status in older adults: a randomized controlled trial. *Clin Int Aging* 2015;10:713-23. doi: 10.2147/CIA.S75271.