

Consumo de Aminoácidos de Cadeia Ramificada não Afeta o Desempenho de *Endurance*

ARTIGO ORIGINAL



Branched-chain Amino Acids Ingestion Does Not Affect Endurance Performance

Marco Carlos Uchida^{1,2}
Aline Vila Nova Bacurau³
Marcelo Saldanha Aoki⁴
Reury Frank Pereira Bacurau⁴

1. Laboratório de Plasticidade Muscular - Instituto de Ciências Biomédicas - USP, São Paulo;
2. Curso de Educação Física - Centro Universitário UniFIEO, São Paulo;
3. Escola de Educação Física e Esporte - USP, São Paulo;
4. Curso de Ciências da Atividade Física - Escola de Artes, Ciências e Humanidades - USP, São Paulo; BRASIL.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Marcelo Saldanha Aoki
Escola de Artes, Ciências e Humanidades - USP
Av. Arlindo Bettio, 1000.
Ermelino Matarazzo
São Paulo - SP
CEP: 03828-000
Email: saldanha.caf@usp.br

Submetido em 01/01/2007
Versão final recebida em 30/06/2007
Aceito em 28/09/2007

RESUMO

A suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) é uma das manipulações dietéticas mais populares entre atletas engajados em atividades de *endurance*. Entretanto, o papel ergogênico destes aminoácidos ainda não está totalmente estabelecido. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do consumo de BCAA sobre o exercício de *endurance* realizado até a exaustão. A fim de provocar redução do estoque de glicogênio muscular e, por conseguinte, maximizar a utilização dos BCAA, os sujeitos (n=17) foram submetidos a uma sessão prévia de exercício (corrida realizada a 75% do VO_{2max} por 40 min seguida por 2 tiros a 90% do VO_{2max} por 10 min cada um). Subseqüentemente, após o consumo aleatório de BCAA (77 mg.kg⁻¹) ou placebo, seguindo modelo duplo cego cruzado, os participantes executaram um teste para determinação da capacidade de *endurance* (corrida a 90% do Limiar anaeróbio) até a exaustão. Ambos os experimentos, BCAA e placebo, foram separados por uma semana. Com relação ao tempo até a exaustão e a distância percorrida, nenhuma diferença foi detectada entre as condições experimentais. (Placebo: 50,1±8,9 vs BCAA: 52,4±4,5 min, respectivamente) (Placebo: 8,8±1,3 vs BCAA: 9,1±0,6 km, respectivamente). Além disso, também não foi evidenciada diferença na concentração plasmática de glicose, de lactato e de amônia entre ambas condições experimentais. Em conclusão, a suplementação de BCAA não afetou o desempenho de *endurance* em um teste de corrida até a exaustão.

Palavras-chave: suplementação, aminoácidos de cadeia ramificada, desempenho, *endurance*

ABSTRACT

Branched-chain amino acids (BCAA) supplementation is one of the most popular dietary manipulations used by endurance athletes. However, the ergogenic role of these amino acids in endurance exercise is not well established yet. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of BCAA supplementation upon endurance exercise performed until exhaustion. In order to induce glycogen supply reduction, and thus maximize BCAA utilization, the subjects (n=17) were submitted to a prior exercise trial (one bout of running at 75% of VO_{2max} for 40 min followed by two bouts at 90% of VO_{2max} for 10 min each). Subsequently, the participants performed an endurance test (running at 90% of the anaerobic threshold) until exhaustion after the ingestion of 77 mg.kg⁻¹ of BCAA or placebo, in a double blind crossover design. Both trials, BCAA and placebo, were a week apart. No differences were observed between placebo and BCAA experimental conditions regarding time to exhaustion (50.1±8.9 vs 52.4±4.5 min, respectively) and total distance performed (8.8±1.3 vs 9.1±0.6 km, respectively) in endurance capacity test. Furthermore, no difference was observed in glucose, lactate or ammonia plasma concentration between both experimental conditions. In conclusion, BCAA supplementation did not affect endurance exercise performance.

Keywords: supplementation, branched-chain amino acids, performance, *endurance*

INTRODUÇÃO

A relação entre o consumo de proteínas e o desempenho físico vem de longa data. Este tipo de associação pode ser encontrado até na mitologia grega. A lenda sobre Milo de Crotona, um grande lutador grego que viveu em meados de 500 a.C., confirma a preocupação com a dieta rica em proteínas já na antiguidade. Segundo a mitologia, tal lutador tinha sua força atribuída ao consumo elevado de carne, 8,5kg em um único dia.

Em meados de 1840, Von Liebig foi um dos primeiros fisiologistas a abraçar a hipótese de que os aminoácidos serviriam como substrato energético para o músculo em contração⁽¹⁾. Desde então, várias hipóteses surgiram para justificar o consumo de aminoácidos durante o exercício físico.

Mais recentemente, na década de 80, Newsholme et al.⁽²⁾ sugeriram que a alteração na relação entre os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) e o triptofano poderia favorecer a entrada deste último no sistema nervoso central. Por conseguinte, o maior aporte de triptofano estimularia a síntese de serotonina. Este neurotransmissor seria o mediador do quadro de fadiga induzida pelo exercício extenuante⁽³⁻⁵⁾. Apesar de muito estudada, esta hipótese ainda não está totalmente comprovada, devido a limitações metodológicas^(6,7).

Uma outra linha de raciocínio que justificaria o consumo de BCAA é baseada na possível modulação exercida por estes aminoácidos sobre a atividade do sistema imunológico. Segundo esta hipótese, o consumo de BCAA promoveria a manutenção da concentração de

glutamina pós-exercício que, por sua vez, estaria envolvida na atenuação da imuno-supressão observada após o término do exercício⁽⁸⁾. Vale ressaltar que a correlação entre a redução da glutamina plasmática e a imuno-supressão não está totalmente comprovada⁽⁹⁻¹¹⁾. Entretanto, evidências obtidas pelo nosso grupo de pesquisa apontam para um possível efeito dos BCAA sobre a atividade do sistema imunológico após o exercício de *endurance*⁽¹²⁾. Apesar do grande interesse nesse efeito dos BCAA sobre o sistema imunológico, os estudos ainda são insuficientes para permitir o entendimento da interação entre estes aminoácidos e o sistema imunológico⁽⁸⁾.

Existe ainda uma terceira hipótese. Esta alega que durante o exercício de *endurance*, os BCAA poderiam fornecer intermediários do Ciclo de Krebs por meio de reações anapleróticas^(1,13,14). Com relação a esta última hipótese, é sabido que durante este tipo de exercício, a oxidação de aminoácidos pode contribuir com até 15% do fornecimento de energia⁽¹⁾.

À medida que o estoque de glicogênio é reduzido, como o observado durante a execução de uma atividade de longa duração, as enzimas responsáveis pela transaminação dos BCAA têm sua atividade aumentada no músculo esquelético⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Portanto, a menor disponibilidade de glicogênio, potencializaria a contribuição energética dos aminoácidos durante o exercício⁽¹⁵⁻¹⁸⁾.

Considerando esta possibilidade, o objetivo do presente trabalho foi averiguar o efeito da suplementação de BCAA sobre o desempenho de corrida até a exaustão, em indivíduos submetidos a um protocolo para redução do glicogênio muscular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sujeitos

Dezessete soldados saudáveis do exercício brasileiro participaram do estudo. A idade, estatura, massa corporal e captação máxima de oxigênio (VO_{2max}) eram em média 22 ± 2 anos, $171,2 \pm 1,8$ cm, $69,4 \pm 2,4$ kg, $61,2 \pm 1,7$ ml.min⁻¹.kg⁻¹, respectivamente. Antes da decisão de participar do presente estudo, os procedimentos experimentais e os riscos potenciais foram minuciosamente explicados aos voluntários. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento esclarecido. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (#072/00).

Testes preliminares

Os indivíduos se apresentaram uma semana antes do experimento. No primeiro dia, foi realizado um teste ergométrico máximo em uma esteira rolante (Quintom/Medtrack – ST65), a fim de se determinar o VO_{2max} e o Limiar anaeróbio. Para o referido teste, foi utilizado o ergoespirômetro Quinton-QMC®. O teste incremental consistiu de 5 minutos de aquecimento a 5 km.h⁻¹, seguido de um estágio inicial a 7 km.h⁻¹ e 1,5% de inclinação. Após 1 minuto, a velocidade era aumentada em 1 km.h⁻¹ até a exaustão voluntária⁽¹⁹⁾. A fim de determinar o Limiar anaeróbio, foram adotados os parâmetros propostos por Wasserman et al.⁽²⁰⁾. No dia anterior aos testes, os sujeitos não realizaram qualquer tipo de exercício. A dieta foi monitorada, mantendo-se constante, uma vez que os sujeitos encontravam-se reclusos no quartel. A estimativa de consumo calórico foi de aproximadamente 3000 kcal (60% carboidratos, 16% proteínas e 24% lipídios).

Protocolo experimental

Para o mesmo sujeito, foram realizadas duas sessões experimentais separadas, uma da outra, por um período de 7 dias, recebendo aleatoriamente placebo ou suplementação de BCAA⁽²¹⁾. O estudo foi conduzido seguindo o modelo duplo-cego cruzado. Na manhã do

experimento, após jejum noturno, os sujeitos foram submetidos a uma sessão prévia de exercício, com o objetivo de promover a redução do glicogênio muscular⁽²²⁾. Conforme mencionado anteriormente, já é sabido que a redução do glicogênio potencializa a utilização dos BCAA⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Esta sessão prévia de exercício foi realizada de acordo com protocolo anteriormente testado, e bem sucedido⁽²²⁾. Resumidamente, os indivíduos correram a 75% do VO_{2max} por 40 minutos e depois realizaram 2 tiros de corridas a 90% do VO_{2max} , tendo 10 minutos de duração cada uma. Esta sessão prévia de exercício foi realizada a partir das 6:00 da manhã, sendo que um mesmo indivíduo realizou os testes sempre no mesmo horário. Subseqüentemente, os indivíduos consumiram 64 g de carboidratos (Maltodextrina). Então, após 8 horas sem consumir nenhum nutriente que não BCAA ou placebo, os sujeitos realizaram uma avaliação da capacidade de *endurance*. Acredita-se que a ingestão de carboidratos previamente ao teste de capacidade de *endurance* não tenha sido capaz de repor os estoques de glicogênio muscular, de modo a interferir no teste de capacidade de *endurance*. Vale lembrar que os indivíduos consumiram apenas 64 g de carboidratos num período total de aproximadamente 16 horas (8 horas de jejum noturno e 8 horas após 60 minutos de corrida em esteira). Após o período de 8 horas da sessão prévia de exercício, os indivíduos consumiram BCAA (41,2% L-leucina, 27,4% L-iso-leucina e 31,4% L-valina - $38,5$ mg.kg⁻¹ - 45 min antes e $38,5$ mg.kg⁻¹ - 20 min antes)⁽²¹⁾ ou placebo antes do teste de capacidade de *endurance*. O teste de capacidade de *endurance* foi realizado em uma esteira rolante a 90% do Limiar anaeróbio até a exaustão. Durante este teste, a cada 3 minutos era requisitado que os sujeitos classificassem a sensação subjetiva de esforço (PSE), utilizando a escala de Borg⁽²³⁾.

Análise do sangue

Amostras do sangue venoso foram retiradas 45 minutos antes do teste, imediatamente antes do teste e imediatamente após o teste. A concentração de glicose foi determinada por um ensaio enzimático (GOD-ANA, Labtest Diagnóstica). A concentração de lactato foi avaliada conforme descrito por Engle & Jones⁽²⁴⁾. Para a determinação da concentração de amônia (NH₃) foi coletado 1,5ml de sangue. Rapidamente, este material foi centrifugado e congelado em nitrogênio líquido⁽²⁵⁾. A concentração de NH₃ no sangue foi avaliada através do método descrito por Kun & Kearney⁽²⁶⁾.

Estatística

Todas as variáveis referentes aos parâmetros de desempenho no teste de *endurance* (tempo até a exaustão, distância percorrida e escores médios de percepção de esforço) foram analisadas com teste t para amostras pareadas. Metabólitos sanguíneos foram analisados através da ANOVA de dois caminhos. Quando um efeito ou interação significativa foi identificado, os dados foram, subseqüentemente, analisados pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância para todas as análises foi previamente estabelecido em $p < 0,05$. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão.

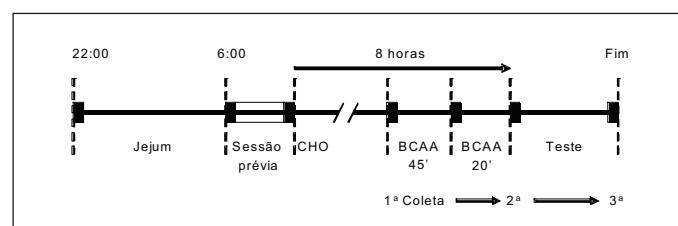


Figura 1. Desenho experimental

RESULTADOS

Tempo até a exaustão, distância percorrida e Percepção subjetiva do esforço (PSE)

Não foi observada diferença no tempo até a exaustão, na distância percorrida e na PSE entre as condições experimentais (Placebo x BCAA). Tanto na condição, na qual foi administrado placebo, como, na qual foram consumidos os BCAA, as variáveis avaliadas apresentaram um comportamento semelhante (~50 min; ~9 Km; ~11 – Tabela 1) ($p>0,05$).

Tabela 1. Parâmetros de desempenho (Tempo até a exaustão – min, Distância percorrida - km e Escores médios de percepção subjetiva de esforço - PSE) referentes ao teste de capacidade de endurance até a exaustão observados em ambas condições experimentais (Placebo e BCAA).

	min	Km	PSE
Placebo (n=17)	50,1±8,9	8,8±1,3	11,7±0,3
BCAA (n=17)	52,4±4,5	9,1±0,6	11,4±0,1

Valores expressos como média ± desvio padrão. Não foi detectada diferença estatística entre as condições experimentais (Placebo x BCAA) ($p>0,05$).

Concentração plasmática de glicose, lactato e amônia

Não foi observada diferença na concentração plasmática de glicose (Tabela 2), de lactato (Tabela 2) e de amônia (Tabela 2) entre as condições experimentais (Placebo x BCAA) ($p>0,05$).

Tabela 2. Parâmetros plasmáticos avaliados em ambas condições experimentais (Placebo e BCAA), 45 minutos antes, imediatamente antes e ao final do teste de capacidade de endurance até a exaustão.

	Glicose (mmol.L ⁻¹)		Lactato (mmol.L ⁻¹)		Amônia (μmol.L ⁻¹)	
	Placebo (n=17)	BCAA (n=17)	Placebo (n=17)	BCAA (n=17)	Placebo (n=17)	BCAA (n=17)
45'antes	4,6±0,2	4,4±0,3	1,9±0,2	2,0±0,2	45,4±3,9	51,5±6,2
Início	4,7±0,3	4,3±0,2	1,9±0,2	2,1±0,2	44,2±4,0	46,9±2,3
Final	4,6±0,2	4,3±0,2	2,3±0,2	2,4±0,22	43,5±3,2	45,2±4,5

Valores expressos como média ± desvio padrão. Não foi detectada diferença estatística entre as condições experimentais (Placebo x BCAA) ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que o consumo de BCAA não promoveu alteração nos parâmetros de desempenho relacionados ao teste de capacidade de endurance até a exaustão. Outros estudos investigaram o possível papel ergogênico dos BCAA, e também não observaram aumento de desempenho de endurance. Porém, a maioria desses estudos investigou a relação entre os BCAA e a hipótese da fadiga central^(6,7).

A ausência de efeitos positivos, sob a perspectiva da fadiga central, é geralmente justificada pelo fato do aumento na produção de NH₃, resultante do consumo de BCAA^(15-17,27). Uma vez que, o alvo desse estudo foi investigar o efeito do BCAA sobre o desempenho do exercício de endurance, por meio de mecanismos periféricos, e não sob a ótica da fadiga central, foi utilizada uma concentração de BCAA⁽²¹⁾ incapaz de promover aumento na produção de NH₃. Os resultados do presente estudo demonstram que a ingestão de BCAA não promoveu

aumento da concentração plasmática de amônia (NH₃). Blomstrand et al.⁽²⁸⁾ administraram cerca de 7g de BCAA e também não observaram aumento na concentração plasmática de amônia no exercício.

Os achados reportados neste manuscrito, referentes à percepção subjetiva de esforço (PSE) e à concentração plasmática de glicose (ausência de diferença entre as condições experimentais Placebo e BCAA), também sugerem que a fadiga central não foi determinante para a exaustão no modelo experimental adotado.

Além disso, é pouco provável que a concentração de NH₃, observada após o consumo de BCAA, no presente estudo e em outros que usaram a mesma dose, fosse suficiente para produzir fadiga central^(29,30). Em função da investigação de parâmetros associados à fadiga central não ser o foco do presente trabalho, a razão BCAA: triptofano não foi avaliada.

É importante destacar que a maioria dos estudos disponíveis sobre BCAA e desempenho de endurance também não apresenta arranjos experimentais, exatamente relacionados com as condições observadas durante execução do exercício de endurance (Maratonas, Triatlons, Ultra-maratonas)^(25,28,30). Os testes de desempenho utilizados para aferir o desempenho de endurance nestes estudos^(25,28,30) falham em reproduzir as condições específicas deste tipo de exercício (intensidade e duração).

Por exemplo, Blomstrand et al.⁽²⁸⁾ investigaram o efeito do BCAA sobre a PSE de indivíduos submetidos a um protocolo de exercício (cicloergômetro). Estes autores observaram que o trabalho total realizado durante 20 minutos de exercício máximo (após duas sessões prévias de exercício de endurance em jejum) não mudou em função da ingestão de BCAA⁽²⁸⁾. Em outro estudo, Giballa et al.⁽³⁰⁾ observaram que a suplementação de BCAA não afetou o metabolismo aeróbio durante 15 minutos de exercício (cicloergômetro) em indivíduos com estoques de glicogênio reduzidos. Watson et al.⁽³²⁾ também observaram que o consumo de BCAA não foi capaz de alterar parâmetros relacionados à fadiga central em indivíduos com estoques de carboidratos depletados, submetidos ao exercício moderado (cicloergômetro a 50% VO_{2máx}), em um ambiente quente (30 °C). Watson et al.⁽²⁵⁾ demonstraram que a suplementação de BCAA não apresentou efeito ergogênico sobre a capacidade de endurance aferida pelo tempo até a exaustão.

Os resultados dos estudos supracitados^(25,28,30) estão em concordância com os dados aqui reportados. Entretanto, o presente estudo se diferencia dos acima citados pois, este foi elaborado para simular as condições reais da prática de atividades de endurance. Além disso, esses mesmos estudos foram realizados em cicloergômetro, atividade que apresenta padrão biomecânico, bioquímico e de ativação neuromuscular diferente quando comparado à corrida. Finalmente, os estudos prévios não usaram estratégias para tentar separar a fadiga central da periférica, apesar de tal propósito não constituir tarefa simples.

Certamente, uma séria limitação do presente estudo é a ausência de biópsia muscular para confirmar que protocolo utilizado foi eficiente em promover redução dos estoques de glicogênio muscular. Entretanto, um protocolo similar foi implementado com sucesso, a fim de promover a redução dos estoques de glicogênio muscular⁽²²⁾.

CONCLUSÃO

Em resumo, a suplementação de BCAA não afeta o desempenho de endurance, aferido por um teste de corrida até a exaustão. Vale ressaltar que apesar da ampla utilização de BCAA por atletas de endurance, esse tipo de manipulação falhou em promover efeito ergogênico no presente estudo.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wagenmakers AJM. Amino acids metabolism in exercise. In: Maughan RJ (editor), *Nutrition in Sport*. Blackwell Sciences, Oxford, 2000.
2. Blomstrand E, Celsing F, Newsholme EA. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. *Acta Physiol Scand* 1988; 133: 115-21.
3. Barchas JD, Freedman DX. Brain amines: response to physiological stress. *Biochem Pharmacol* 1963; 12: 1232-5.
4. Blomstrand E, Perrett D, Parry-Billings M, Newsholme EA. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. *Acta Physiol Scand* 1989; 136: 473-81.
5. Chaouloff F, Laude D, Elghozi JL. Physical exercise: evidence for differential consequences of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals. *J Neural Transm* 1989; 78: 121-30.
6. Newsholme EA, Blomstrand E. Branched-chain amino acids and central fatigue. *J Nutr* 2006; 136: 274S-65S.
7. Blomstrand E. A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue. *J Nutr*. 2006; 136: 544S-547S.
8. Calder, PC. Branched-chain amino acids and immunity. *J Nutr* 2006; 136: 288S-93S.
9. Hiscock N, Pedersen BK. Exercise-induced immunodepression - plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol* 2002; 93: 813-22.
10. Castell LM. Can glutamine modify the apparent immunodepression observed after prolonged exhaustive exercise? *Nutr* 2002; 18: 371-5.
11. Kargotich S, Goodman C, Dawson B, Morton AR, Keast D, Joske DJ. Plasma glutamine responses to high-intensity exercise before and after endurance training. *Res Sports Med* 2005; 13: 287-300.
12. Bassit, RA; Sawada, LA, Bacurau, RFP, Navarro, F, Rosa LF. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 1214-9.
13. Wagenmakers AJM, Coakley JH, Edwards RTH. Metabolism of branched-chain amino acids and ammonia during exercise: clues from McArdle's disease. *Int J Sports Med* 1990; 11: S101-13.
14. Wagenmakers AJM. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. *Exerc Sport Sci Rev* 1998; 26: 287-314.
15. McLean DA, Grahon TE, Saltin B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *Am J Physiol* 1994; 267: E1010-22.
16. Van Hall G, Raaymakers JSH, Saris WHM & Wagenmakers AJM. Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise: failure to affect performance. *J Physiol* 1995; 486: 789-94.
17. Van Hall G, McLean DA, Saltin B & Wagenmakers AJM. Mechanisms of activation of muscle branched-chain a-keto acid dehydrogenase during exercise in man. *J Physiol* 1996; 494: 899-905.
18. Gibala MJ, Young ME, Taegtmeyer H. Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2000; 168: 657-65.
19. McLellan TM. Ventilatory and plasma lactate response with different exercise protocols: a comparison of methods. *Int J Sports Med* 1985; 6: 30-5.
20. Wasserman K, Whipp BJ, Koil SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973; 35: 236-45.
21. Blomstrand E, Anderson S, Hassmén P, Ekblom B & Newsholme EA. Effect of branched-chain amino acid and carbohydrate supplementation on the exercise-induced change in plasma and muscle concentration of amino acids in human subjects. *Acta Physiol Scand* 1995; 153: 87-96.
22. Lemon PW, Mulin JP. Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise. *J Appl Physiol* 1980; 48: 624-9.
23. Borg, G. *An introduction to Borg's RPE scale*. Moviment Publications, Ithaca 1985.
24. Engle PC, Jones JB. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. *Anal Biochem* 1978; 88: 475-84.
25. Watson P, Shirretts SM, Maughan RJ. The effect of acute branched-chain amino acid supplementation on prolonged exercise capacity in a warm environment. *Eur J Appl Physiol* 2004; 93: 306-14.
26. Kun E, Kearney EB. Ammonia. In: Bergmeyer HU (editor), *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, London, 1983.
27. Davies JM, Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29: 45-57.
28. Blomstrand E, Hassmén P, Ekblom B, Newsholme EA. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise. *Acta Physiol Scand* 1997; 159: 41-9.
29. Gibala MJ. Regulation of skeletal muscle amino acid metabolism during exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001; 11: 87-108.
30. Gibala MJ, Losej M, Tarnopolsky MA, McLean C, Grahon TE. Low glycogen and branched-chain amino acids ingestion do not impair anaplerosis during exercise in humans. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1662-7.