

Consumo de aminoácido de cadeia ramificada na esclerose lateral amiotrófica: suplemento proteico ou substância neurotóxica?

Branched-chain amino acid consumption in amyotrophic lateral sclerosis: protein supplement or neurotoxic substance?

Eliana Alfenas Nogueira Milagres¹, Marli Pernes de Loureiro², Adryana Cordeiro da Silva³, Andrea Cardoso de Matos⁴, Claudio Heitor Tavares Gress⁵, José Mauro Braz de Lima⁶, Andrea Ramalho⁷

RESUMO

Estudos demonstraram efeito positivo principalmente no ganho ponderal em pacientes com esclerose lateral amiotrófica (ELA), suplementados com aminoácidos de cadeia ramificada (AACR). Achados recentes têm mostrado que o consumo excessivo e crônico de AACR pode contribuir para a progressão da doença, provavelmente devido a estes serem precursores do glutamato. O objetivo deste estudo foi avaliar a evidência acerca da utilização dos AACR por pacientes com ELA, a fim de elucidar questões pertinentes a sua ingestão. Foi feita busca em base de dados de artigos científicos relacionados ao consumo de AACR na ELA, no período de 1988 a 2013. Foram encontrados seis artigos relacionados ao consumo de AACR por pacientes com ELA. Desses, um referiu melhora da força, enquanto os outros relataram ganho ponderal ou não mostraram resultados significativos em relação aos desfechos. Além disso, foi possível observar uma estreita relação entre o consumo excessivo e crônico dos AACR com o agravamento da doença. À luz dos conhecimentos ora disponíveis, a suplementação com AACR não é recomendada devido aos possíveis efeitos nocivos. O consumo adequado de alimentos proteicos, fontes desses aminoácidos, deve ser utilizado pelos pacientes, respeitando as recomendações estabelecidas. No entanto, estudos adicionais devem ser desenvolvidos em virtude do escasso número de publicações disponíveis.

Palavras-chave: Aminoácidos de cadeia ramificada, AACR, glutamato, esclerose lateral amiotrófica, ELA, neurotoxicidade, excitotoxicidade.

ABSTRACT

Studies have shown positive effect mainly in weight gain in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) supplemented with branched chain amino acids (BCAA). However, recent studies have shown that excessive and chronic intake has contributed to the worsening of the disease progression, probably because the amino acids are glutamate precursors. The objective of this study was to assess the evidence about the use of BCAA by patients with ALS, with the aim to clarify pertinent issues for its intake. A search was conducted in data bases for scientific papers related to the intake of BCAA in ALS, between 1988 and 2013. For these review six articles related to the use of BCAA in ALS were found. Of these, one described strength improvement, while the remaining reported weight gain or no significant effects in relation to the outcome. Additionally, it was possible to observe a close relationship between the excessive and chronic BCAA intake with the worsening of the disease. Considering the present day available knowledge BCAA supplementation should not be indicated due to the possible harmful effect. The intake of appropriated protein foods should be consumed by these patients, respecting the suggested recommendation. However, more studies are necessary due to the scarce papers in this area.

Keywords: Branched-chain amino acids, BCAA, glutamate, amyotrophic lateral sclerosis, ALS, neurotoxicity, excitotoxicity.

¹ Nutricionista do Instituto de Neurologia Deolindo Couto (INDC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Mestranda em Clínica Médica pela Faculdade de Medicina da UFRJ, pesquisadora do Núcleo de Pesquisa em Micronutrientes (NPqM) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da (INJC) da UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Médica neurologista. Coordenadora do Ambulatório de Doenças do Neurônio Motor do INDC/UFRJ. Mestre em Neurologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Nutricionista. Mestre em Clínica Médica pela Faculdade de Medicina da UFRJ. Pesquisadora do NPqM do INJC/UFRJ. Especialista em Nutrição Clínica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁴ Nutricionista. Doutoranda em Clínica Médica pela Faculdade de Medicina da UFRJ. Pesquisadora do NPqM do INJC/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵ Médico neurologista do INDC/UFRJ e especialista em Medicina Intensiva, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁶ Médico, doutor em Neurologia, professor-associado de Neurologia da Faculdade de Medicina do UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁷ Nutricionista. Doutora em Ciências pela Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/Fiocruz). Professora titular do Departamento de Nutrição Social e Aplicada do INJC/UFRJ. Coordenadora do NPqM do INJC/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Endereço para correspondência: Dra. Eliana Alfenas Nogueira Milagres. Av. Venceslau Brás, 95 – Campus Praia Vermelha – 22295-900 – Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: el_nutri@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

Os aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), a leucina, a isoleucina e a valina são largamente utilizados devido aos seus efeitos terapêuticos relacionados à melhora na cicatrização, balanço proteico muscular, redução da perda do tecido magro, possíveis benefícios nas enfermidades hepáticas e renais, além de serem utilizados como poupadores da massa magra quando há perda ponderal.¹⁻³

Os AACR são bastante difundidos entre os atletas em função de melhoria do desempenho físico,⁴ redução da fadiga central e estímulo da síntese proteica, aumentando, dessa forma, a massa muscular.⁵

Estudos epidemiológicos têm mostrado risco aumentado de esclerose lateral amiotrófica (ELA) em jogadores de futebol americano e italiano quando comparados com o resto da população.⁶ Nesse contexto, várias hipóteses têm sido aventadas na tentativa de explicar esse fato. Dentre elas, o consumo excessivo e crônico dos AACR.

O consumo dos referidos aminoácidos também foi verificado em indivíduos com ELA, visando à recuperação e à manutenção da massa muscular.⁷ Trabalhos mais recentes, porém, têm mostrado que o consumo excessivo e crônico desses aminoácidos contribui para a piora da progressão da doença, provavelmente devido a estes serem precursores do glutamato.⁸⁻¹⁰

A ELA é uma doença neurodegenerativa progressiva que acomete os neurônios motores superiores (NMS) e neurônios motores inferiores (NMI).^{11,12} Sabe-se que 90% a 95% dos casos da doença manifestam-se sob a forma esporádica. Acredita-se que seja de etiologia multifatorial, resultante da combinação de fatores genéticos e ambientais.¹³

Vários fatores estão associados com a patogênese da doença, dentre eles ganha destaque a neuroexcitotoxicidade do glutamato.¹⁴ Tal fator refere-se a um dano neuronal em resposta à estimulação acentuada dos receptores glutamatérgicos.¹⁵ Estudos sugerem o envolvimento de mecanismos excitotóxicos na patogênese da doença.

A ELA está fortemente relacionada ao defeito no transporte do glutamato, o que possibilita, assim, seu acúmulo.¹⁶ Barber e Shaw¹⁷, em estudo de revisão, mostraram elevadas concentrações de glutamato no líquido cerebrospinal de pacientes com doença neurodegenerativa, entre as quais a ELA.

Glutamato, também conhecido por ácido glutâmico, é considerado um dos principais neurotransmissores excitatórios do sistema nervoso central (SNC), encontrado em cerca de 80% da população total de neurônios glutamatérgicos do cérebro, responsável por um terço de todas as sinapses.¹⁸ Participa de vários processos vitais, como sinalização da nocicepção,¹⁹ codificação de informações, manutenção da consciência, entre outros, além dos processos cognitivos, memória e aprendizagem.²⁰

Este trabalho teve por objetivo avaliar as informações existentes sobre a utilização dos AACR, no sentido de subsidiar a discussão acerca da utilização desse suplemento proteico associado a benefícios para o doente ou como substância neurotóxica capaz de estimular a progressão da doença.

MÉTODO

Trata-se de estudo de revisão da literatura com seleção criteriosa de artigos a partir de estratégia de busca definida e passível de reprodução realizada nas bases de dados Lilacs, PubMed, Biblioteca Cochrane, em que foram consideradas as publicações ocorridas no período de 1988 a 2013.

A busca bibliográfica foi realizada utilizando os seguintes descritores: aminoácidos de cadeia ramificada, glutamato, esclerose lateral amiotrófica, neurotoxicidade, excitotoxicidade, *branched-chain amino acids*, *glutamate*, *amyotrophic lateral sclerosis*, *neurotoxicity*, *excitotoxicity*. Foram incluídos artigos em português e inglês e excluídos os artigos publicados em outros idiomas e que fugiam ao tema proposto.

RESULTADOS

Foram encontrados seis artigos relacionados ao consumo de AACR por pacientes com ELA e incluídos na presente análise (Tabela 1). Entre esses, 50% relataram resultados positivos principalmente em relação ao ganho ponderal²¹⁻²³ e 50% dos trabalhos encontrados não mostraram resultados estatisticamente significativos quanto aos desfechos estabelecidos.²⁴⁻²⁶ Vale ressaltar que esses estudos utilizaram suplementação crônica e excessiva, isto é, acima das recomendações preconizadas. Além disso, um dos estudos teve que ser cancelado devido à elevada incidência de mortes no grupo suplementado e outro trabalho mostrou perda acentuada da função pulmonar.

Tabela 1. Estudos relacionando o consumo de AACR na ELA

Autor	Ano	Metodologia	Objetivo	Resultados
Plaitakis <i>et al.</i> ²³	1988	Ensaio randomizado duplo-cego com 22 doentes divididos em dois grupos. Grupo caso recebendo suplementação com dosagem diária de AACR (12 g de leu, 6 g de isoleu e 6,4 g de val)*. Grupo controle, placebo	Avaliar a utilidade dos AACR para os doentes com ELA	Pacientes suplementados apresentaram benefício na manutenção da força muscular e na deambulação
Testa <i>et al.</i> ²⁶	1989	Ensaio randomizado aberto com 32 pacientes divididos em dois grupos, dos quais 16 receberam suplemento oral de AACR (12 g de leu, 6 g de isoleu e 6,4 g de val), e 16 não	Avaliar a eficácia da utilização dos AACR no tratamento da ELA	Não foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos
Italian Group ²⁴	1993	Estudo multicêntrico randomizado duplo-cego com 61 pacientes recebendo dosagem diária de AACR (12 g de leu, 6 g de val e 6 g de isoleu), e 61 pacientes do grupo controle recebendo placebo	Avaliar a eficácia e a segurança do consumo de AACR	A suplementação foi ineficaz em retardar a progressão da doença. Excesso de morte no grupo suplementado. O estudo foi interrompido
Tandan <i>et al.</i> ²⁵	1996	Estudo duplo-cego em dois centros com 31 pacientes recebendo suplementação com dosagem diária de AACR (12 g de leu, 6 g de val e 6 g de isoleu), e 32 pacientes recebendo 4 g de treonina e 160 mg de piridoxina e 32 pacientes recebendo placebo	Avaliar a eficácia e a segurança da suplementação com AACR e com treonina	Não foi encontrado resultado positivo com a suplementação, mas perda acentuada da função pulmonar no grupo suplementado tanto com AACR como com treonina
Silva <i>et al.</i> ²¹	2010	Estudo randomizado duplo-cego com 16 pacientes divididos em dois grupos. O grupo caso recebeu WP** e o grupo controle recebeu maltodextrina	Avaliar a eficácia da suplementação nutricional da proteína do soro do leite nos parâmetros nutricionais de doentes com ELA	Não foi encontrada nenhuma relação com a progressão da doença, mas efeito positivo no ganho ponderal
Bongioanni <i>et al.</i> ²²	2013	Ensaio clínico randomizado duplo-cego com 12 pacientes divididos em dois grupos. Grupo com seis pacientes recebeu suplementação com 80 mg/d de leu/isoleu/val: 6/1/1 e o grupo controle com seis pacientes recebendo placebo	Avaliar a eficácia da suplementação com AACR nos parâmetros nutricionais e funcionais	Pacientes suplementados mostraram resultado positivo em relação ao ganho ponderal

* leu: leucina; isoleu: isoleucina; val: valina; ** WP: *whey protein*.

DISCUSSÃO

A maior parte dos estudos selecionados foi conduzida utilizando doses suplementares de AACR, acima da recomendação,²⁶ na tentativa de retardar a progressão da doença, não tendo sido encontrado o resultado esperado em nenhum deles.²⁴⁻²⁶

Estudo piloto conduzido por Plaitakis *et al.*²³ mostrou efeito favorável, com escores melhores quanto

ao desempenho médio do grupo espinhal suplementado, com melhor manutenção da força muscular de extremidades, assim como na capacidade de deambular, em comparação a um grupo placebo. Causou preocupação a falta de diferenças significativas nos escores do grupo bulbar. Segundo os autores, esses resultados devem ser vistos com cautela, considerando ser a amostra pequena e a ampla variação da

história natural dessa desordem. Vale ressaltar que o estudo de Plaitakis foi o pioneiro em fazer associação entre esses aminoácidos na ELA.

Estudos utilizando a mesma quantidade de AACR não encontraram resultados semelhantes. O estudo do Grupo Italiano apresentou efeitos adversos e teve que ser interrompido em função do elevado número de óbitos no grupo suplementado.²⁴ Estudo conduzido por Tandan *et al.*²⁵ apontou perda acentuada da função pulmonar nos pacientes suplementados com AACR, em comparação aos do grupo controle. O estudo conduzido por Testa *et al.*²⁶ não encontrou diferença significativa entre o grupo suplementado e o grupo controle.

O consumo excessivo dos AACR, acima das recomendações, estimula a síntese de glutamato, que, em grande quantidade, causa excitotoxicidade, contribuindo para a degeneração dos neurônios motores,²⁷ além de estimular a produção da metacrilil-CoA, metabólito intermediário do catabolismo da valina, sintetizado na matriz mitocondrial que, em excesso, pode reagir com a glutatona, o que reduz a proteção mitocondrial contra espécies reativas de oxigênio.²⁸ Além disso, apresenta um possível potencial tóxico, com ações citogênicas e mutagênicas, necessitando ser rapidamente convertido em beta-hidroxiisobutiril-CoA (HIByl-CoA), substância inócua.

Os AACR são os principais doadores de nitrogênio para a formação do glutamato. Estudo com astrócitos utilizando AACR juntamente com outros aminoácidos mostrou a preferência destes pelos AACR para a síntese de glutamato.²⁹

O glutamato é sintetizado nas terminações nervosas por meio da transaminação do alfa-cetoglutarato e da glutamina. Sua concentração é estritamente controlada por mecanismos próprios. No entanto, em certas situações, esses mecanismos são ineficazes, elevando sua concentração e consequentemente à morte celular por excitotoxicidade, além do influxo excessivo de cálcio²⁺ (Ca²⁺).³⁰

A abertura dos canais de Ca²⁺ através da estimulação excessiva dos receptores do glutamato, principalmente NMDA (N-metil D-aspartato), aumenta a concentração Ca²⁺ intracelular elevando, assim, a produção de espécies reativas de oxigênio que contribui ainda mais para os danos oxidativos neuronais, além de estimular uma série de enzimas como proteases, fosfolipases, óxido nítrico sintetase neuronal

(nNOS), responsáveis pela morte celular.³¹ O excesso de Ca²⁺ eleva a concentração de óxido nítrico gerando ainda mais radicais livres, como o peroxinitrito, que possui a capacidade de reduzir a captação do glutamato pelas células gliais, além de inativar a glutamina sintetase, essencial para a conversão do glutamato em glutamina.³²

Estudo sobre o tema sugere que o aumento do glutamato sérico observado em pacientes com ELA possa ser devido ao defeito parcial da desidrogenase do glutamato, enzima responsável pela transformação do glutamato a alfa-cetoglutarato. Desse modo, a progressão da doença pode ser alterada pelo consumo crônico de AACR.³³ Entretanto, Gredal e Møller³⁴ não encontraram efeito significativo na ingestão adequada de AACR na concentração de glutamato sérico.

Estudo conduzido por Silva *et al.*²¹ em pacientes com ELA demonstrou melhora no ganho ponderal, além de aumento das concentrações de albumina sérica e de linfócitos no grupo suplementado. O grupo controle apresentou redução significativa do peso. As necessidades proteicas consumidas pelos pacientes foram adequadas individualmente. Para tal, utilizou-se 30% da recomendação diária de proteína oriunda do soro do leite, mais conhecida por *whey protein* (proteína do soro do leite), considerada a melhor fonte desses aminoácidos. Contribuindo para o consumo adequado dos AACR, evita atingir limites nocivos aos pacientes. Bongioanni *et al.*²² mostraram o aumento ponderal em pacientes suplementados com AACR, reforçando a importância do consumo adequado desses aminoácidos no ganho de peso. Esses achados corroboram a importância do aporte aumentado de leucina e dos demais AACR, dentro das recomendações, em períodos catabólicos, principalmente nos casos em que há redução da ingestão calórica ou jejum, com consequente perda ponderal, estimulando o anabolismo proteico.

Estudos com animais determinaram que dosagens superiores a 10 g/kg/dia podem ser letais. No entanto, não encontraram efeito tóxico na dosagem de 2,5 g/kg/dia por três meses ou 1,25 g/kg/dia durante um ano. Embora o nível de tolerância máxima para humanos não tenha sido estabelecido, estudo de revisão proposto por Backer em 2005³⁵ sugeriu que dosagens de AACR três vezes maiores que os valores da EAR (*estimated average requirement* [necessidade média estimada]) 34 mg/kg/d para leucina, 15 mg/

kg/d para isoleucina e 19 mg/kg/d para valina, de acordo com o comitê das DRI (*dietary reference intake* [ingestão dietética de referência])³⁶, possam ser bem toleradas.

CONCLUSÃO

Entretanto, à luz dos conhecimentos ora disponíveis, a suplementação com AACR não deve ser indicada na ELA por ocasionar possível efeito nocivo e agravamento da doença. No entanto, o consumo adequado de alimentos proteicos, fontes desses aminoácidos, pode ser utilizado por esses pacientes, desde que sejam respeitadas as recomendações estabelecidas pela DRI, considerando a relação positiva com o ganho ponderal. Contudo, informações adicionais são necessárias em virtude do escasso número de trabalhos publicados nessa área.

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse em relação ao presente artigo.

REFERÊNCIAS

- Layman DK, Walker DA. Potential importance of leucine in the treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J Nutr.* 2006;136:319s-23s.
- Tom A, Nair KS. Assessment of branched-chain amino acid status and potential for biomarkers. *J Nutr.* 2006;136:324S-30S.
- Rogero MM, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Rev Bras Ciênc Farm (RBCF).* 2008;44(4):563S-75S.
- Uchida MC, Bacurau AVN, Aoki MS, Bacurau RFP. Consumo de aminoácidos de cadeia não ramificada não afeta o desempenho de endurance. *Rev Bras Med Esporte.* 2008;14(1):42-5.
- Armada-da-Silva P, Alves F. Efeitos da ingestão dos aminoácidos de cadeia ramificada na fadiga central. *Rev Port Ciênc Desp.* 2005;5(1):102-13.
- Belli S, Vanacore N. Proportionate mortality of Italian soccer players: Is amyotrophic lateral sclerosis an occupation disease? *Eur J Epidemiol.* 2005;20:237-42.
- Cameron A, Rosenfeld J. Nutrition issues and supplements in amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative disorders. *Curr Opin Clin Nutr Met Care.* 2002;5:631-43.
- Carunchio I, Curcio L, Pieri M, et al. Increased levels of p70S6 phosphorylation in the G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis and in valine-exposed cortical neurons in culture. *Exper Neurol.* 2010;226:218-30.
- Construciere V, Paradisi S, Matteucci A, Malchiodi-Albedi F. Branched-chain amino acids induce neurotoxicity in rat cortical cultures. *Neurotoxicity.* 2010;17(4):392-8.
- Venerosi A, Martire A, Rungi A, et al. Complex behavioral and synaptic effects of dietary branched-chain amino acids in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Nutr Food Res.* 2011;55:541-52.
- Marín AMM, Betancor MIE. Sistema glutamatérgico, primera parte: sinaptología, homeostasis y muerte celular. *R Colomb Psiqu.* 2002;31(3):187-12.
- Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2009;4:3.
- Bandeira FM, Quadros NNCL, Almeida KJQ, Caldeira RM. Avaliação da qualidade de vida de pacientes portadores de esclerose lateral amiotrófica (ELA) em Brasília. *Rev Neurociênc.* 2010;18(2):133-8.
- Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr.* 2000;130:1007S-15S.
- Bonnefont-Rousselot D, Lacomblez L, Jaudon MC, et al. Blood oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2000;178:57-2.
- Halliwel B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem.* 2006;97(6):1634-58.
- Barber SC, Shaw JS. Oxidative stress in ALS: key role in motor neuron injury and therapeutic target. *Free Radic Biol Med.* 2010;48(5):629-41.
- Fouilloux C, Contreras F, Rivera F, Terán U, Velasco M. Receptores de glutamato: implicaciones terapéuticas. *Arch Venez Farmacol Terap.* 2004;23(2):99-109.
- Daikhin Y, Yudkoff M. Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia. *J Nutr.* 2000;130:1026S-31S.
- Urch CE, Rahman W, Dickenson AH. Electrophysiological studies on the role of the NMDA receptor in nociception in the developing rat spinal cord. *Brain Res Dev Brain Res.* 2001;126(1):81-9.
- Silva LB, Mourão LF, Silva AA, et al. Effect of nutritional supplementation with whey protein in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Arq Neuro-Psiquiatria.* 2010;68(2):263-8.
- Bongioanni P, Corbiano S, Dini M. Effect of BCAA supplementation enriched of leucine in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotrophic Lat Scler Frontotemp Deg.* 2013;14(Suppl. 2):84-94.
- Plaitakis A, Smith J, Mandeli J, Yahr MD. Pilot trial of branched-chain amino acids in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet.* 1988;7:1015-8.
- The Italian ALS Study Group. Branched-chain amino acids and amyotrophic lateral sclerosis: A treatment failure? *Neurology.* 1993;43:2466-70.
- Tandan R, Bromberg MB, Forsberg RN, et al. A controlled trial of amino acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: I clinical, functional and maximum isometric torque data. *Neurology.* 1996;47:1220-6.
- Testa D, Caraceni T, Fetoni V. Branched-chain amino acids in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol.* 1989;236:445-7.
- Piscopo P, Crestini A, Adduci A, et al. Altered oxidative stress profile in the cortex of mice fed an enriched branched-chain amino acids diet: possible link with amyotrophic lateral sclerosis? *J Neurosci Res.* 2011;89(8):1276-83.
- Perboni S, Inui A. Anorexia in cancer: role of feeding-regulatory peptides. *PhilosTrans R Soc Lond B Biol Sci.* 2006;361(1471):1281-9.
- Shimomura Y, Muarakami T, Nakai N, Nagasami M, Harris RA. Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *J Nutr.* 2004;134:1583S-7S.
- Barbosa L. Danos em DNA promovidos pela enzima Cu, Zn-superóxido dismutase. Implicações para a apoptose em um modelo celular de esclerose lateral amiotrófica. Tese de Doutorado, USP, 2008. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46131/tde-18122008-112715/pt-br.php>. Acesso em: 6 jun, 2013.

31. Rosenfeld J, Ellis A. Nutrition and dietary supplements in motor neuron disease. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2008;19:573-89.
32. Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A, Wolfe RR. 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):E381-7.
33. Vianna D, Teodoro GFR, Torres-Leal FL, Tirapegui J. Protein synthesis regulation by leucine. *Braz J Pharm Sci.* 2010;46(1): 29-36.
34. Gredal O, Møller, SE. Effect of branched-chain amino acids on glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1995;129:40-3.
35. Backer DH. Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *J Nutr.* 2005;135:1585S-90S.
36. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty acids, Cholesterol, Protein, and Amino acids (Macronutrients): Preliminary Report. Washington DC: National Academy Press, 2002. Disponível em: http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Energy/energy_full_report.pdf. Acesso em: 22 jun, 2013.