

PAWLINA, Mateusz, ZIĘTARA, Karolina, ORZECHOWSKA, Aleksandra, OSKROBA, Aleksander, PAWELCZAK, Natalia, RAKSA, Karolina, ZIELONKA, Bartłomiej, KOWALCZYK, Ilona, PAWŁOWSKI, Piotr & STAWIKOWSKI, Cezary. The quantity, quality, and daily distribution of protein supplementation in maximizing muscle hypertrophy induced by resistance training. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;16(1):32-39. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.16.01.004> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/42986> <https://zenodo.org/record/7754317>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu). © The Authors 2023: This article is published with open access at License Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 08.03.2023. Revised: 14.03.2023. Accepted: 21.03.2023. Published: 21.03.2023.

The quantity, quality, and daily distribution of protein supplementation in maximizing muscle hypertrophy induced by resistance training

Mateusz Pawlina¹, Karolina Ziętara², Aleksandra Orzechowska³, Aleksander Oskroba⁴, Natalia Pawełczak⁵, Karolina Raksa⁶, Bartłomiej Zielonka⁷, Ilona Kowalczyk⁸, Piotr Pawłowski⁹ Cezary Stawikowski¹⁰

¹Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
<https://orcid.org/0000-0001-7354-4883> | mateuszpawlina14@gmail.com

²Studentka, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Psychologii
<https://orcid.org/0000-0002-6754-9263> | kar.zietara@gmail.com

³Studentka, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
<https://orcid.org/0000-0002-6919-0928> | olaorzechowska14@gmail.com

⁴Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
<https://orcid.org/0000-0003-0783-4895> | aleksander.jan.oskroba@gmail.com

⁵Studentka, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
n.pawelczak@student.uw.edu.pl | <https://orcid.org/0000-0001-9933-258X>

⁶Studentka, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Epidemiologii i Metodologii Badań Klinicznych
<https://orcid.org/0000-0001-5571-1035> | karolinaraksa@op.pl

⁷Wojskowy Szpital Kliniczny w Lublinie
bvrtlomiej.zi@gmail.com | <https://orcid.org/0000-0001-7788-1342>

⁸Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. prof. W. Orłowskiego CMKP w Warszawie
ilonaxkowalczyk@gmail.com | <https://orcid.org/0000-0002-8669-3068>

⁹Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Rozwoju Pielęgniarstwa
<https://orcid.org/0000-0002-1197-7218> | pawlowskipiotr56@gmail.com

¹⁰Wojskowy Szpital Kliniczny w Lublinie
<https://orcid.org/0000-0003-3026-8617> | cezary.stawikowski@gmail.com

ABSTRACT

Introduction and purpose: Resistance training (RT) combined with sufficient protein intake (PI) stimulates muscle hypertrophy. There are many factors determining the influence of PI on muscle hypertrophy. The aim of the study is to analyze the current state of knowledge on protein supplementation in the context of optimizing the effects of RT-induced muscles hypertrophy.

Description of the state of knowledge: The quality of protein supplements is a factor that has a significant impact on the degree to which they increase MPS. Protein meals containing all EAAs will stimulate MPS most potently. The most important factor determining the effectiveness of protein supplementation is the amount of protein intake per day in relation to body weight. PI in amounts greater than ~ 1.6 g/kg b.w./day does not further increase the rate of fat free mass gains induced by RE. Supplementing more protein at breakfast than at dinner is more effective in increasing muscle mass gain in response to RT.

Summary: The quantity, quality and source of protein supplements, that are daily administered, are important factors contributing to the effectiveness of the supplementation. Distributing the doses of protein supplement throughout the day and consuming greater amount of protein for breakfast rather than dinner may also be beneficial in terms of augmenting muscle protein synthesis (MPS). Optimizing these conditions is conducive to achieving a positive net protein balance, which result in improving RT-induced muscle mass gain.

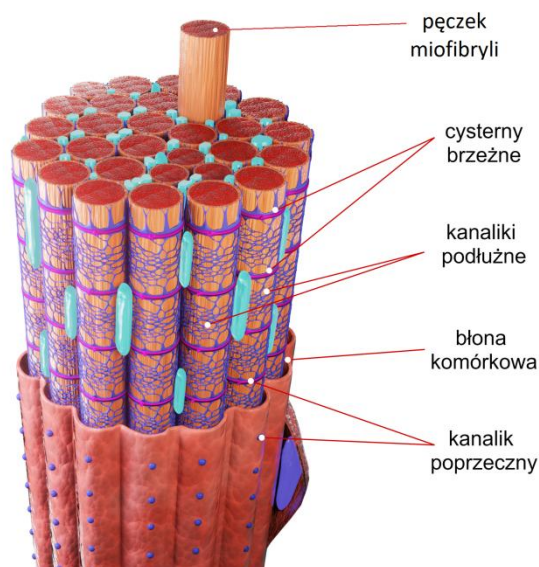
Key words: proteins, resistance training, muscles hypertrophy, diet

Wprowadzenie i cel pracy

Mięśnie szkieletowe są narządem ruchu, ale mają także duży udział w regulacji metabolizmu poprzez zapewnianie spoczynkowego wydatku energetycznego i poposiłkowego, stymulowanego insuliną usuwania glukozy z krwi. Tak więc, poza oczywistą rolą mięśni szkieletowych w poruszaniu się i mobilności, ich dobrostan ma kluczowe znaczenie dla zdrowia metabolicznego. Niższa niż przewidywana przez normy masa mięśni szkieletowych są związana jest z różnymi negatywnymi skutkami zdrowotnymi, takimi jak zwiększone ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia, nowotworów i niepełnosprawności. Dlatego skoordynowane wysiłki mające na celu utrzymanie, zwiększenie lub odzyskanie utraconej masy mięśni szkieletowych (na przykład z powodu nieużywania mięśni) mają istotne znaczenie dla zdrowia człowieka [1], [2].

Na hipertrofię mięśni wpływają czynniki, które można podzielić na dwie kategorie: zmienne egzogenne i endogenne. Czynniki egzogenne obejmują zmienne związane z ćwiczeniami oporowymi (RE – resistance exercise) (obciążenie, powtórzenia, czas pod napięciem, objętość treningowa itp.), zmienne związane z dietą, takie jak suplementacja białka, ilość dostarczonej energii, spożycie suplementów (np. kreatyny) oraz podawanie hormonów anabolicznych [1].

Przerost poszczególnych włókien mięśniowych przypisuje się zwiększeniu liczby składników kurczliwych mięśni, miofibrili. Wzrost liczby miofibrili wydaje się dyktować tempo hipertrofii, ponieważ jest to największy przedział włókna mięśniowego, zajmujący ponad 70% całkowitej wielkości komórki. Budowę komórki mięśniowej przedstawiono na Rycinie 1. Ponadto 50–60% całkowitej ilości białek w komórkach mięśniowych stanowią białka miofibrylarne. Ponieważ większość ($\sim 80\%$) suchej masy mięśniowej składa się z białek, ich metabolizm, tj. synteza i degradacja białek, był przedmiotem większości badań mających na celu zrozumienie regulacji hipertrofii mięśni szkieletowych w odpowiedzi na wysiłek fizyczny [3].



Rycina 1. Budowa komórki mięśniowej. (Źródło: <https://zpe.gov.pl/a/przeczytaj/DZ7Zk3uf2>) Ćwiczenia oporowe powodują łagodną stymulację rozpadu białek mięśniowych (MPB – muscle protein breakdown), ale większe pobudzenie syntezy białek mięśniowych (MPS – muscle protein synthesis). Spożycie białka zawierającego wystarczającą ilość niezbędnych aminokwasów, w określonej odległości czasowej od RE, zwiększa MPS i osłabia wywołany wysiłkiem fizycznym wzrost MPB. Dlatego tylko wtedy, gdy RE jest połączone z odpowiednią podażą białka, bilans białkowy netto (NPB – net protein balance) staje się dodatni, umożliwiając hipertrofię mięśni [1], [4].

Celem niniejszej pracy jest analiza aktualnego poziomu wiedzy dotyczącej suplementacji białka w kontekście maksymalizacji efektów ćwiczeń oporowych mięśni. Szczególna uwaga zostanie poświęcona ilości przyjmowanego białka, odległości czasowej jego przyjmowania od treningu oraz dziennej dystrybucji jego ilości.

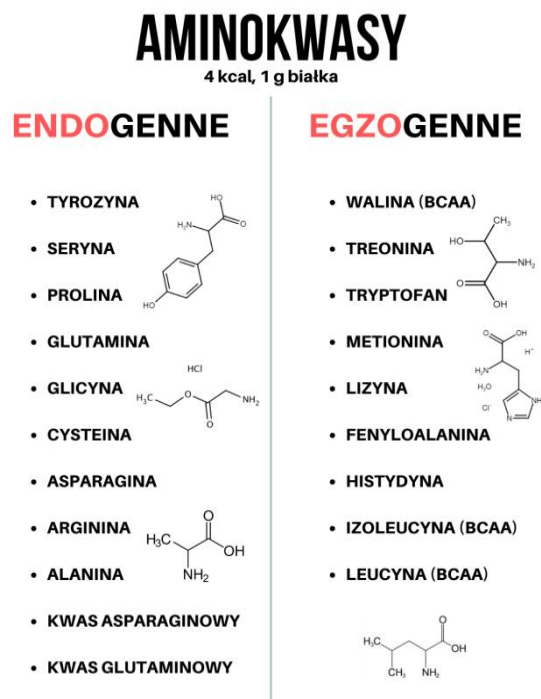
Opis stanu wiedzy

Połączenie spożycia odpowiedniej ilości białka i ćwiczeń oporowych jest najskuteczniejszą strategią promowania hipertrofii i przebudowy mięśni szkieletowych. Jednak, aby uzyskać maksymalną skuteczność, należy wziąć pod uwagę pewne warunki. Ilość, rodzaj i źródło białek mają znaczenie, podobnie jak czas spożycia i rozłożenie dawek przyjmowanych suplementów w ciągu dnia. Optymalizacja tych warunków sprzyja uzyskaniu dodatniego bilansu białkowego netto, co w dłuższej perspektywie może skutkować przyrostem masy mięśniowej [5].

Jakość i postać suplementowanego białka

Istnieje łącznie 20 aminokwasów, w tym 9 niezbędnych aminokwasów (EAA – essential amino acids) i 11 aminokwasów innych niż niezbędne (NEAA – non-essential amino acids) (Rycina 2.). EAA nie mogą być wytwarzane w organizmie i dlatego muszą być spożywane w diecie. Badania wykazały, że produkty zawierające białka zwierzęce i nabiałowe cechują się najwyższą zawartością EAA. Ich suplementacja skutkowała większym przerostem mięśni i syntezą białek po treningu oporowym w porównaniu z grupą kontrolną przyjmującą taką samą ilość wegetariańskiego białka, która zazwyczaj nie zawiera jednego lub więcej EAA. Stymulacja MPS w odpowiedzi na zwiększone stężenie aminokwasów we krwi wydaje się być całkowicie pobudzana przez EAA zawarte w białku, a spośród nich leucyna odgrywa w tym procesie najważniejszą rolę. Chociaż prawdą jest, że leucyna jest zdolna do stymulacji MPS pod nieobecność innych aminokwasów, należy podkreślić, że synteza białek jest ograniczana przez dostępność innych niezbędnych aminokwasów. Jednak wzbogacenie białka niższej jakości w leucynę, pod warunkiem, że obecny jest również pełny zestaw pozostałych EAA, może wywołać porównywalną stymulację MPS, jaką obserwuje się w źródłach o wyższej jakości. Lynch i wsp. przeprowadzili badanie na próbie 48 osób, którego celem było ustalenie, czy suplementy białka sojowego i serwatki o wyrównanej zawartości leucyny w porównywalny sposób stymulują wzrost siły i mięśni po 12 tygodniach treningu oporowego. Wykazali, że wzrost beztłuszczowej masy ciała i siły był podobny u grup suplementujących białka serwatkowe i sojowe. W badaniach przeważają stwierdzenia, że osoby, które chcą zoptymalizować wydajność treningu oporowego w kontekście przyrostu siły i beztłuszczowej masy ciała, powinny skupić się na zapewnieniu sobie dziennego spożycia odpowiedniej ilości białka zawierającej

wszystkie dziewięć EAA - posiłki białkowe zawierające wszystkie EAA będą maksymalnie stymulować MPS [6]–[11].



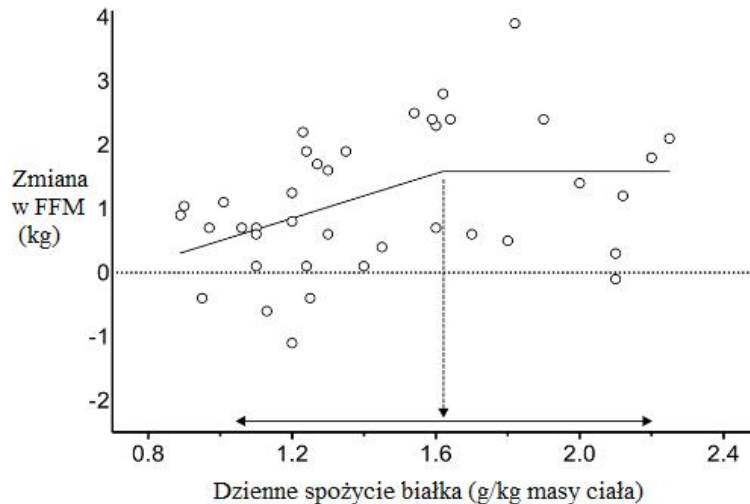
Rycina 2. Aminokwasy egzogenne są niezbędne dla organizmu, ponieważ nie są w nim wytwarzane. Aminokwasy endogenne należą do NEAA. (Źródło: <https://motywator.tv/tag/aminokwasy-endogenne/>)

Jedną z popularniejszych form suplementacji białka wysokiej jakości, jest przyjmowanie białka serwatkowego (WP – whey protein). Białko serwatkowe jest uważane za złoty standard odżywek białkowych, ponieważ zawiera wyższą zawartość niezbędnych aminokwasów niż inne odżywki białkowe. Ponadto WP wchłania się szybciej niż inne źródła białka. WP jest oferowane głównie w trzech postaciach: koncentratu (WPC – whey protein concentrate), hydrolizatu (WPH – whey protein hydrolyzate) oraz izolatu (WPI – whey protein isolate). Castro i wsp. wykonali metaanalizę mającą określić, suplementowanie której z powyższych form białka najefektywniej stymuluje przyrost beztłuszczowej masy ciała (FFM – fat free mass) u sportowców wykonujących RE. Poddano analizie 8 prac, lecz nie wykazano istotnych statystycznie różnic między powyższymi formami białka, przemawiających za wyższą skutecznością którejkolwiek z nich nad pozostałymi [12], [13].

Ilość przyjmowanego białka

Wokół ilości białka potrzebnej w diecie sportowca toczy się debata. Początkowo zalecano, aby sportowcy nie musieli spożywać więcej niż zalecane dzienne spożycie (RDA – recommended daily allowance) dla białka (tj. 0,8 do 1,0 g/kg m.c./dzień dla dzieci, młodzieży i dorosłych). Jednak badania przeprowadzone w ciągu ostatnich 30 lat wykazały, że sportowcy intensywnie trenujący mogą odnieść korzyści ze spożywania około dwukrotnie większej niż zalecana dawka białka w diecie (1,4–1,8 g/kg m.c./d) w celu utrzymania równowagi białkowej. Jeśli spożywana jest niewystarczająca ilość białka, sportowiec będzie utrzymywał ujemny bilans azotowy, co skutkuje katabolizmem białek i powolną regenerację. Z czasem może to prowadzić do zaniku mięśni, urazów, chorób i nietolerancji treningu [14].

W przypadku osób zaangażowanych w ogólny program fitness lub po prostu zainteresowanych optymalizacją swojego zdrowia, ostatnie badania sugerują, że zapotrzebowanie na białko może również przekraczać RDA. Morton i wsp. przeprowadzili metaanalizę obejmującą 49 badań i 1863 uczestników i doszli do wniosku, że dzienne spożycie białka na poziomie 1,62 g/kg m. c./dobę jest optymalne dla dorosłych wykonujących RE. Wykazali także, że przyjmowanie białka w ilościach większych niż ~1,6 g/kg m. c./dobę nie przyczynia się dalej do zwiększenia tempa przyrostów FFM indukowanych przez wykonywanie RE (Wykres 1.) [14], [15].



Wykres 1. Segmentowa regresja liniowa między względnym całkowitym spożyciem białka (g/kg masy ciała/dzień) a zmianą masy beztłuszczowej (Δ FFM) mierzoną za pomocą absorpcjometrii rentgenowskiej o podwójnej energii. Każde kółko reprezentuje pojedynczą grupę z badania Mortona i wsp. Strzałka przerywana wskazuje punkt przerywania = 1,62 g białka/kg/dzień, $p = 0,079$. Pełna strzałka wskazuje 95% CI (1,03 do 2,20).
(Źródło: Morton et al. 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)

Większe objętości treningu oporowego (RT – resistance training) indukują wyższe tempo obrotu białek mięśniowych. Biorąc ten fakt pod uwagę, potencjalną zmienną, która mogła zakłócić wyniki badań Mortona i wsp. jest heterogeniczność objętości RT w badaniach poddanych przez nich metaanalizie. Z tego powodu Haun i wsp. przeprowadzili badanie, w którym oceniali czy stopniowe zwiększanie dawek suplementacji białka w sposób proporcjonalny do objętości RT jest zasadną strategią zwiększania hipertrofii mięśni szkieletowych u dobrze wytrenowanych osób. Ustalili, że stopniowe zwiększanie dawek suplementacji białka może być korzystne, jeśli chodzi o poprawę składu masy ciała, natomiast nie powoduje istotnego wzrostu tempa hipertrofii mięśni, w przypadku, gdy suplementacja białka przekracza 1,6 g/kg/dobę [16].

Optymalizacja regeneracji po treningach jest istotnym zagadnieniem dla osób chcących efektywnie zwiększać FFM. Davies i wsp. wykonali metaanalizę 13 randomizowanych kontrolowanych badań klinicznych (RCT – randomized controlled trial) badających wpływ suplementacji WP na odnowę funkcji mięśni po RT. Zaobserwowano niewielki do średniego czasowy efekt ergogeniczny wywoływany przez suplementację WP, przyspieszający powrót funkcji mięśni po RT. Roberts i wsp. postanowili zbadać wpływ ilości suplementowanego białka na powyższe zagadnienie. Przeprowadzili oni badanie na grupie 14 osób wykonujących RE przez 10 dni. W tym czasie badacze oceniali jakość wykonywanego przez badanych treningu i stężenie markerów uszkodzenia mięśni w ich krwi. Wykazano, że grupa przyjmująca 1,8 g/kg m.c./d białka uzyskała podobne wyniki jak grupa, która suplementowała białka w ilości 2,9 g/kg m.c./d. Na tej podstawie badacze postawili wniosek, że 1,8 g/kg m.c./d to wystarczająca ilość suplementacji białka, w celu zapewnienia optymalnej regeneracji potreningowej [17], [18].

Optymalizacja momentu przyjęcia i dystrybucji dawek suplementów białkowych w ciągu doby

Spożycie białka powyżej dawki nasycającej nie przyczynia się dalej do stymulacji MPS. „Nadmiar” aminokwasów jest przeważnie utleniany. Biorąc pod uwagę, że dzienne spożycie białka w diecie jest ograniczone, znalezienie wzorców dystrybucji białek w ciągu dnia, które zarówno zmniejszają utlenianie aminokwasów, jak i maksymalizują ich wkład w syntezę białek (teoretycznie poprawiając NPB), może pomóc w optymalizacji suplementacji i ma praktyczne znaczenie naukowe w promowaniu korzystnych zmian w mięśniach szkieletowych [19]

Rozkład dziennego spożycia białka (PI – protein intake) u poszczególnych osób jest zwykle najniższy w porze śniadania i większy w okresie kolacji. Obserwowano, że zniekształcone wzorce spożycia białka i niewystarczające PI podczas śniadania są czynnikami wpływającymi negatywnie na przyrost masy mięśniowej. W związku z tym, Yasuda i wsp. przeprowadzili badanie mające ustalić, czy spożycie większej ilości białka w porze śniadaniowej stymuluje hipertrofię mięśni wywołaną RE w stopniu większym niż przyjmowanie protein w sposób zgodny z typowym schematem PI. Badaniu poddano 26 mężczyzn wykonujących RT 3 razy w tygodniu przez 12 tygodni. Wykazano, że w przypadku hipertrofii mięśni wywołanej przez RT u zdrowych

młodych mężczyzn, spożywanie posiłku wzbogaconego w białko na śniadanie i mniej białka na kolację przy jednoczesnym osiągnięciu odpowiedniego dziennego PI jest bardziej skuteczne niż spożywanie większej ilości białka na kolację [20]–[22]

Badacze wciąż szukają odpowiedzi na pytanie, czy optymalny czas przyjmowania składników odżywczych to przed, czy po RE, zwłaszcza w kontekście ograniczenia MPB dla zwiększonej reakcji anabolicznej mięśni. Kume, Yasuda i Hashimoto przeprowadzili badanie, którego celem była ocena wpływu czasu przyjęcia posiłku o dużej zawartości składników odżywczych i białka w stosunku do czasu wykonania RE. Ośmiu zdrowych młodych mężczyzn podzielono na 3 grupy: spożywającą posiłek przed RE, spożywającą posiłek po RE i wykonującą RE bez posiłku. Badacze wykazali, że obfity, zawierający białko, posiłek bezpośrednio po RE może skutecznie tłumić MPB rano, a więc przyczynić się do bardziej dodatniego NPB. Inne wnioski wyciągnęli Wirth i wsp. z przeprowadzonej przez nich metaanalizy. Wykazali oni, że suplementacja białka przed lub po treningu nie zwiększa jego wpływu na hipertrofię mięśni [23], [24].

Niektórzy badacze postulowali, że w populacji osób wykonujących RT, PI przed snem skuteczniej stymuluje MPS i regenerację mięśni niż PI rano. Chen i wsp. przeprowadzili badanie na próbie 42 mężczyzn wykonujących RT przez 6 tygodni. Badanych podzielono na grupę kontrolną oraz dwie inne grupy: jedną suplementującą WP i witaminę D3 przed snem oraz drugą – zażywającą te same suplementy rano, po śnie. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w przyroście masy mięśniowej pomiędzy grupą suplementującą przed snem, a grupą przyjmującą suplementy rano. Ormsbee i wsp. wykonali badanie, którego celem była ocena wpływu suplementacji białka przed snem na regenerację mięśni po RT. Badacze podzielili 18 mężczyzn na dwie grupy – jedna z nich przyjmowała przed snem preparat białkowy, druga – izokaloryczne placebo. Wszyscy badani przed suplementacją wykonywali RT. Przed treningiem i rano, następnego dnia po nim, badanym pobierano krew i badano stężenie markerów uszkodzenia mięśni. Nie wykazano różnic w stężeniu markerów uszkodzenia mięśni następnego ranka po treningu między badanymi grupami. Badacze wyciągnęli wniosek, że suplementacja białka przed snem nie poprawia regeneracji mięśni po RT [25], [26].

Podsumowanie

1. Suplementacja białka w istotny sposób przyczynia się do zwiększenia hipertrofii mięśni indukowanej treningiem oporowym.
2. Jakość przyjmowanych suplementów białkowych jest czynnikiem, który ma istotny wpływ na stopień w jakim zwiększają one MPS. Posiłki białkowe zawierające wszystkie EAA będą maksymalnie stymulować MPS
3. Najważniejszym czynnikiem warunkującym efektywność suplementacji protein jest ilość przyjmowanego białka na dobę w stosunku do masy ciała.
4. Przyjmowanie białka w ilościach większych niż ~1,6 g/kg m.c./dobę nie przyczynia się dalej do zwiększenia tempa przyrostów FFM indukowanych przez wykonywanie RE.
5. Suplementacja większej ilości białka na śniadanie niż na kolację, efektywniej zwiększa przyrost masy mięśniowej w odpowiedzi na RT.

References:

1. S. Joannis, C. Lim, J. McKendry, J. C. Mcleod, T. Stokes, and S. M. Phillips, “Recent advances in understanding resistance exercise training-induced skeletal muscle hypertrophy in humans.,” *F1000Res*, vol. 9, 2020, doi: 10.12688/f1000research.21588.1.
2. M. A. Pikosky, C. J. Cifelli, S. Agarwal, and V. L. Fulgoni, “Association of Dietary Protein Intake and Grip Strength Among Adults Aged 19+ Years: NHANES 2011–2014 Analysis,” *Front Nutr*, vol. 9, p. 873512, May 2022, doi: 10.3389/fnut.2022.873512.
3. V. C. Figueiredo, “Revisiting the roles of protein synthesis during skeletal muscle hypertrophy induced by exercise,” *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 317, no. 5, pp. R709–R718, Nov. 2019, doi: 10.1152/ajpregu.00162.2019.
4. C. Mcglory, M. C. Devries, and S. M. Phillips, “Skeletal muscle and resistance exercise training; the role of protein synthesis in recovery and remodeling,” *J Appl Physiol*, vol. 122, pp. 541–548, 2017, doi: 10.1152/jappl.
5. L. Deldicque, “Protein Intake and Exercise-Induced Skeletal Muscle Hypertrophy: An Update.,” *Nutrients*, vol. 12, no. 7, Jul. 2020, doi: 10.3390/nu12072023.

6. R. Jäger *et al.*, “International Society of Sports Nutrition Position Stand: Protein and exercise,” *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, vol. 14, no. 1. BioMed Central Ltd., Jun. 20, 2017. doi: 10.1186/s12970-017-0177-8.
7. T. Stokes, A. J. Hector, R. W. Morton, C. McGlory, and S. M. Phillips, “Recent perspectives regarding the role of dietary protein for the promotion of muscle hypertrophy with resistance exercise training,” *Nutrients*, vol. 10, no. 2. MDPI AG, Feb. 07, 2018. doi: 10.3390/nu10020180.
8. H. M. Lynch, M. P. Buman, J. M. Dickinson, L. B. Ransdell, C. S. Johnston, and C. M. Wharton, “No significant differences in muscle growth and strength development when consuming soy and whey protein supplements matched for leucine following a 12 week resistance training program in men and women: A randomized trial,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 17, no. 11, Jun. 2020, doi: 10.3390/ijerph17113871.
9. D. L. Plotkin, K. Delcastillo, D. W. van Every, K. D. Tipton, A. A. Aragon, and B. J. Schoenfeld, “Isolated leucine and branched-chain amino acid supplementation for enhancing muscular strength and hypertrophy: A narrative review,” *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, vol. 31, no. 3. Human Kinetics Publishers Inc., pp. 292–301, 2021. doi: 10.1123/IJSNEM.2020-0356.
10. M. Messina, H. Lynch, J. M. Dickinson, and K. E. Reed, “No Difference Between the Effects of Supplementing With Soy Protein Versus Animal Protein on Gains in Muscle Mass and Strength in Response to Resistance Exercise,” *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, vol. 28, no. 6, pp. 674–685, Nov. 2018, doi: 10.1123/ijsnem.2018-0071.
11. H. P. Cintineo, M. A. Arent, J. Antonio, and S. M. Arent, “Effects of Protein Supplementation on Performance and Recovery in Resistance and Endurance Training.,” *Front Nutr*, vol. 5, p. 83, 2018, doi: 10.3389/fnut.2018.00083.
12. L. H. A Castro *et al.*, “Comparative Meta-Analysis of the Effect of Concentrated, Hydrolyzed, and Isolated Whey Protein Supplementation on Body Composition of Physical Activity Practitioners.,” *Nutrients*, vol. 11, no. 9, Sep. 2019, doi: 10.3390/nu11092047.
13. C.-B. Kim, J.-H. Park, H.-S. Park, H.-J. Kim, and J.-J. Park, “Effects of Whey Protein Supplement on 4-Week Resistance Exercise-Induced Improvements in Muscle Mass and Isokinetic Muscular Function under Dietary Control,” *Nutrients*, vol. 15, no. 4, p. 1003, Feb. 2023, doi: 10.3390/nu15041003.
14. C. M. Kerksick *et al.*, “ISSN exercise & sports nutrition review update: research & recommendations,” *J Int Soc Sports Nutr*, vol. 15, no. 1, p. 38, Jan. 2018, doi: 10.1186/s12970-018-0242-y.
15. R. W. Morton *et al.*, “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*, vol. 52, no. 6, pp. 376–384, Mar. 2018, doi: 10.1136/bjsports-2017-097608.
16. C. T. Haun *et al.*, “Effects of Graded Whey Supplementation During Extreme-Volume Resistance Training.,” *Front Nutr*, vol. 5, p. 84, 2018, doi: 10.3389/fnut.2018.00084.
17. J. Roberts, A. Zinchenko, C. Suckling, L. Smith, J. Johnstone, and M. Henselmans, “The short-term effect of high versus moderate protein intake on recovery after strength training in resistance-trained individuals,” *J Int Soc Sports Nutr*, vol. 14, no. 1, Nov. 2017, doi: 10.1186/s12970-017-0201-z.
18. R. W. Davies, B. P. Carson, and P. M. Jakeman, “The effect of whey protein supplementation on the temporal recovery of muscle function following resistance training: A systematic review and meta-analysis,” *Nutrients*, vol. 10, no. 2. MDPI AG, Feb. 16, 2018. doi: 10.3390/nu10020221.
19. J. L. Hudson, R. E. B. Iii, and W. W. Campbell, “Protein Distribution and Muscle-Related Outcomes: Does the Evidence Support the Concept?,” *Nutrients*, vol. 12, no. 5, May 2020, doi: 10.3390/nu12051441.
20. J. Yasuda, T. Tomita, T. Arimitsu, and S. Fujita, “Evenly Distributed Protein Intake over 3 Meals Augments Resistance Exercise-Induced Muscle Hypertrophy in Healthy Young Men,” *Journal of Nutrition*, vol. 150, no. 7, pp. 1845–1851, Jul. 2020, doi: 10.1093/jn/nxaa101.
21. S. Aoyama *et al.*, “Distribution of dietary protein intake in daily meals influences skeletal muscle hypertrophy via the muscle clock,” *Cell Rep*, vol. 36, no. 1, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.celrep.2021.109336.

22. H.-K. Kim *et al.*, “Supplementation of Protein at Breakfast Rather Than at Dinner and Lunch Is Effective on Skeletal Muscle Mass in Older Adults,” *Front Nutr*, vol. 8, p. 797004, Dec. 2021, doi: 10.3389/fnut.2021.797004.
23. W. Kume, J. Yasuda, and T. Hashimoto, “Acute effect of the timing of resistance exercise and nutrient intake on muscle protein breakdown,” *Nutrients*, vol. 12, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.3390/nu12041177.
24. J. Wirth, E. Hillesheim, and L. Brennan, “The Role of Protein Intake and its Timing on Body Composition and Muscle Function in Healthy Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials,” *J Nutr*, vol. 150, no. 6, pp. 1443–1460, Jun. 2020, doi: 10.1093/jn/nxaa049.
25. Y. Chen, Y. Liang, H. Guo, K. Meng, J. Qiu, and D. Benardot, “Muscle-Related Effect of Whey Protein and Vitamin D3 Supplementation Provided before or after Bedtime in Males Undergoing Resistance Training.,” *Nutrients*, vol. 14, no. 11, May 2022, doi: 10.3390/nu14112289.
26. M. J. Ormsbee, P. G. Saracino, M. C. Morrissey, J. Donaldson, L. I. Rentería, and A. J. McKune, “Pre-sleep protein supplementation after an acute bout of evening resistance exercise does not improve next day performance or recovery in resistance trained men,” *J Int Soc Sports Nutr*, vol. 19, no. 1, pp. 164–178, Dec. 2022, doi: 10.1080/15502783.2022.2036451.