

The Physiological Medical Letter

Vol. XVII

January 2022

N° 1

TRATTAMENTO AMINOACIDICO (LA DIETA PROTEICA): FINALMENTE.....

Maurizio Ceccarelli

Premessa

Finalmente?? Perché titolare con questa affermazione?

Perché, **finalmente**, abbiamo il prodotto giusto per ottenere nei nostri pazienti una perdita, rapida e sicura, degli eccessi adiposi, generalizzati e localizzati.

Abbiamo lungamente parlato della necessità di somministrare, in questo trattamento, una formulazione amminoacidica che rispettasse i rapporti di Meister. Ci siamo adattati alle formulazioni di mercato, cercando quella più vicina a detta formulazione. Abbiamo chiesto, al mondo, di ottenere un prodotto idoneo alle nostre esigenze. Tutto inutile.

Oggi, abbiamo formulato, **NOI**, il prodotto idoneo e, come dice il detto: "chi fa da sé, fa per tre".

AEPHY PROTEIN è il primo integratore proteico, in buste monodose da 15 grammi, che rispetta la formulazione di Meister. Il preparato proteico è integrato da Arginina, Sinefrina, Forskolina, Caffaina e Colina.

- L'Arginina stimola la formazione del Growth Hormon, fondamentale per la risposta clinica;
- La Sinefrina, tratta dal Citrus Auranticum, e la Colina attivano i recettori Beta 3, aumentando il dispendio energetico per termogenesi;
- La Forskolina, tratta dal Coleus Forskohlii, e la Caffaina attivano la lipolisi, tramite l'adenilato-ciclastasi;
- Con un apporto glicidico dello 0,15/0,20%.

A questo punto, possiamo riprendere i nostri Trattamenti Aminoacidici con la sicurezza di ottenere una rapida mobilizzazione del grasso in eccesso, senza effetti collaterali.

Per i neofiti, ripetiamo le conoscenze scientifiche relative al Trattamento Aminoacidico.

La storia

Tutto è iniziato sulla base del concetto di restrizione calorica. Il nostro corpo aumenta di tessuto adiposo quando abbiamo un bilancio energetico positivo e ne consuma quando l'abbiamo negativo. Su queste semplici basi si è iniziato l'uso di diete a basso contenuto calorico per portare ad una diminuzione del grasso in eccesso.

Nei vari tentativi con diete sempre meno caloriche si è evidenziato con il nostro organismo, quando assume un apporto calorico molto basso, non perde più grasso ma perde proteine in quantità crescente. Sino ad arrivare ad una perdita, nel digiuno, di 200-300 g di muscolo al giorno. Questo portò ad una progressiva integrazione con proteine per ridurre questa perdita. Apfelhaum nel 1920 aggiunse caseina. Geunth e Verter nel 1924 aggiunsero glucosio e caseina. Baird e Howard nel 1925 mescolarono del glucosio con aminoacidi. Bollinger nel 1966 aggiunse alla dieta albumina.

Spetta però a G.L. Blackburn, ricercatore presso l'Università di Harvard, il merito della creazione del Protein Sparing Modified Fast Diet, che considerava, sia la riduzione dell'adipogenesi per calo della concentrazione insulinemica, causata dall'assenza di apporto glicidico, sia il fabbisogno proteico del paziente in digiuno modificato (1,2 g/kg nella donna e 1,5 g/kg nell'uomo).

Negli anni Novanta, Giuseppe Castaldo Direttore dell'Unità Operativa di Dietologia e Nutrizione Clinica nell'AORN Moscati di Avellino, iniziò ad utilizzare la dieta proteica sec. Blackburn, nei pazienti ospedalizzati ed iniziando una delle casistiche più vaste che oggi possiamo avere a disposizione.

In collaborazione con il nostro centro (International Centre for Study and Research in Aesthetic and Physiological Medicine - Direttore: Prof. Maurizio Ceccarelli) Giuseppe Castaldo allargò i suoi studi clinici con il trattamento aminoacidico (il termine fu introdotto per differenziare il concetto di dieta da quello di terapia) nell'adiposità localizzata.

In questi studi, Castaldo e Ceccarelli evidenziarono, non solo la caduta dei valori dell'insulina, ma anche l'aumento della concentrazione ematica del GH e dell'IGF-1.

Applicando al Trattamento Aminoacidico gli studi di Loftus e Lane che, nel 1997, dimostrarono come l'insulina e gli estrogeni agiscano a livello del C/EBP e del PPAR-gamma, attivando la transcriptasi per la lipoproteinlipasi e, quindi, l'adipogenesi e come il GH agisca fosforilando il PPAR-gamma, inattivando il recettore ed inibendo l'adipogenesi.

Sempre Castaldo e Ceccarelli, compilarono il protocollo finale del Trattamento Aminoacidico, evidenziando:

- La necessità dello studio antropometrico (massa grassa, magra e acquosa) per determinare la perdita reale di grasso nella diminuzione di peso. Si deve avere una perdita quasi esclusiva della FM.
- Lo studio dell'incremento di GH ed IGF-1 per calcolare il dosaggio soggettivo dell'apporto proteico necessario a questo incremento (mediamente 1,5 grammi per chilo di peso del paziente). Limitando il tempo a 15-21 giorni perché dopo tale periodo c'è flessione di questo incremento.
- La diminuzione dei valori d'insulina, per calcolare la minima dose glicidica nel trattamento che non ne causi un incremento. Non si deve superare 5% di apporto in carboidrati.
- Il calcolo del bilancio azotato per verificare che la perdita adiposa non sia accompagnata da perdita proteica. Blocco del trattamento in caso di bilancio azotato negativo.

- La necessità di supplementazione di potassio per caduta del suo valore ematico (possibili variazioni del ritmo cardiaco) per diminuzione dell'insulina (favorisce l'ingresso di questo nelle cellule).
- La necessità di somministrare un'integrazione in fibre, vitamine e minerali (alimentazione con carenza di questi principi).
- La soggettivazione della perdita di grasso sulla base del delta fra apporto energetico e fabbisogno.

La biochimica

Vediamo ora le basi biochimiche sulle quali è impostato il trattamento aminoacidico. Abbiamo detto che il trattamento prevede una dieta ipocalorica in assenza di zuccheri e con un contenuto proteico utile alla stimolazione del GH. Inoltre, il trattamento deve consentire la mobilizzazione esclusiva di grasso dalle zone dove questo è in eccesso e deve assicurare la mancanza di perdita proteica (a rischio le fibre muscolari cardiache).

Insulina e Corpi Chetonici

Questo tipo di alimentazione favorisce la formazione di corpi chetonici perché l'Acetil-CoA ha difficoltà ad inserirsi nel ciclo di Krebs. Ricordiamo qui che i corpi chetonici si formano, in assenza di glicidi, sia nel catabolismo lipidico, sia nel catabolismo proteico (l'aumento di acetone urinario o respiratorio non è indice di perdita di grasso!).

La funzione del pancreas endocrino, nei pazienti non diabetici, consente la secrezione di un livello insulinemico adeguato a consentire metabolizzazione dell'Acetil-CoA.

Infatti, solo in carenza d'insulina si riduce il trasporto di glucosio nelle cellule dei tessuti. L'insulina, legandosi allo specifico recettore presente sulla membrana cellulare, consente l'apertura dei canali delle acquaporine e l'ingresso nella cellula del glucosio. Nel diabete, l'esaurimento di questo ormone determina uno stato di carenza di glucosio all'interno della cellula, che contrasta con la iperglicemia extracellulare.

La mancanza di glucosio non permette di mantenere costante il valore dell'acido ossalacetico, fondamentale per il funzionamento del ciclo di Krebs, e determina una incompleta ossidazione dei prodotti del catabolismo dei lipidi e degli aminoacidi (Acetil-CoA).

L'Acetil-CoA, punto finale del catabolismo proteico e lipidico, non può entrare nel Ciclo di Krebs. Questo determina una reazione tra le varie molecole di Acetil-CoA che porta alla formazione dei corpi chetonici (acetone, acido acetoacetico e acido beta-idrossibutirrico). I corpi chetonici formati vengono esportati, principalmente dal fegato, nel sangue e veicolati ai vari tessuti.

La mancanza di glucosio intracellulare non permette ai tessuti extraepatici di utilizzare i corpi chetonici (perché manca l'acido ossalacetico, OAA) e porta all'accumulo di questi nel sangue (chetonemia).

Dei tre corpi chetonici, due, l'acido acetoacetico e l'acido beta-idrossibutirrico sono acidi e quindi tendono a cambiare il valore del pH ematico causando l'acidosi metabolica. L'aumento dei radicali acidi determina prima un consumo dei sistemi tampone bicarbonato e, quando questi si sono esauriti, porta all'acidificazione del sangue, abbassando il valore fisiologico di 7,4. Un pH ematico inferiore a 7,0 porta al coma metabolico il paziente.

Invece, in presenza di una normale funzione pancreatico e di una normale concentrazione d'insulina, non abbiamo un accumulo di corpi chetonici e non abbiamo cambiamento del valore del

pH del sangue ed il rischio di acidosi metabolica. Infatti, la normale funzione insulinemica (anche con ridotta concentrazione di questa) consente il passaggio intracellulare del glucosio consentendogli di seguire la normale via glicolitica citoplasmatica.

Il glucosio, nella via di Embden-Meyerof, viene scisso in due molecole di acido piruvico o piruvato. La formazione del piruvato consente, per azione della piruvato carbossilasi, la formazione di ossalacetato (OAA). L'acido ossalacetico permette l'ingresso dell'Acetil-CoA nel Ciclo di Krebs e la sua successiva metabolizzazione finale.

Questo sistema metabolico ci consente di comprendere perché nel trattamento aminoacidico, pur avendo un'iniziale accumulo di corpi chetonici, non abbiamo il consumo del sistema tampone bicarbonato ed i rischi dell'acidosi metabolica.

I pazienti in Trattamento Aminoacidico evidenziano un'assenza del senso di fame ed uno stato di benessere psicologico che consente, anche in notevole carenza energetica, una normale vita lavorativa e sociale. Questo va imputato ad uno dei corpi chetonici prodotti, l'acido beta-idrossibutirrico.

L'acido beta-idrossibutirrico agisce a livello cerebrale riducendo il senso di fame e migliorando il tono dell'umore del paziente. Questo perché l'acido beta-idrossibutirrico interferisce sulla sintesi di serotonina ed il miglioramento della concentrazione di questo neurotrasmettitore porta sia a stimolazione del centro ipotalamico della sazietà, sia ad un effetto antidepressivo con miglioramento del tono dell'umore.

Aminoacidi e GH

Come detto, nel Trattamento Aminoacidico, l'assunzione di aminoacidi, contenenti arginina ed ornitina, induce la neoformazione di Growth Hormon e l'assenza di zuccheri determina una caduta dei livelli d'insulina. Questo consente di bloccare la liposintesi e di indurre, in modo indiretto, un'attivazione della lipolisi.

L'insulina è il principale ormone liposintetico, infatti facilita il passaggio del glucosio e degli acidi grassi nell'adipocita consentendo la formazione dei trigliceridi.

Questa attività è svolta a tre livelli:

- Azione a livello del Recettore di Attivazione del Perissosoma (PARR), con successiva formazione dell'mRNA responsabile della costruzione della lipoproteinlipasi (enzima necessario alla captazione degli acidi grassi contenuti nelle lipoproteine circolanti nel sangue);
- Attivazione della funzionalità della lipoproteinlipasi con aumento della captazione degli acidi grassi dal sangue e della trasmissione di questi negli adipociti;
- Attivazione del recettore insulinico sulla membrana degli adipociti con conseguente apertura dei canali delle acquaporine e maggior apporto di glucosio nell'adipocita. Il glucosio viene convertito in glicerolo fosfato, questo si unisce con gli acidi grassi e permette la formazione dei trigliceridi.

Essendo molto attivo il metabolismo del tessuto adiposo, nell'arco di 3-4 settimane i trigliceridi intradipocitari vengono scissi (lipolisi) e ricostruiti (liposintesi), la caduta dei livelli d'insulina si traduce nel blocco della liposintesi e nell'attivazione, indiretta, della lipolisi.

Anche l'elevazione dei valori dell'ormone della crescita (GH) partecipano all'attivazione indiretta dell'idrolisi dei trigliceridi intradipocitari. Il Growth Hormon induce la fosforilazione del recettore PPAR. In biologia molecolare, la fosforilazione del recettore determina la sua inattivazione. Pertanto, una riduzione della sintesi di lipoproteinlipasi e, conseguentemente, della liposintesi con attivazione, indiretta, della lipolisi.

Ciò è confermato da studi di biologia molecolare fatti da Loftus e Lane. Questi, in una pubblicazione del 1997 dimostrarono come, sia l'insulina che gli estrogeni, agiscono a livello del C/EBP e del PPAR (fattori di trascrizione che promuovono l'espressione di certi geni interagendo con il promoter) attivando trascrittasi per la formazione della lipoproteinlipasi. Nello stesso lavoro, gli Autori, dimostrarono che il GH induce la fosforilazione del PPAR, bloccandolo, con conseguente inibizione dell'adipogenesi.

Il lavoro di Loftus e Lane ci permette di allargare l'utilizzazione del trattamento aminoacidico anche alle adiposità localizzate in sede trocanterica, nel corpo femminile. Infatti, a livello del grasso distribuito nella zona trocanterica e dei fianchi, nel corpo della donna, gli ormoni estrogeni stimolano l'adipogenesi attraverso l'attivazione dei C/EBP e PPAR e la sintesi della lipoproteinlipasi. Questo determina una resistenza alla mobilizzazione del tessuto adiposo in queste zone.

Il perché di quest'azione degli ormoni sessuali va ricercato in un significato evolutivo. La donna ha come principale funzione biologica la procreazione e, indipendentemente dal suo stato alimentare, deve essere in grado, alla nascita del bambino, di fornire un giusto apporto energetico con la lattazione. Il grasso localizzato nel distretto inferiore del corpo, resistente in tempi normali alla lipolisi, rappresenta una riserva naturale di energia capace attivarsi e liberare acidi grassi nella fase dell'allattamento.

Su queste basi, il trattamento aminoacidico può essere utilizzato anche nel trattamento delle adiposità localizzate. Infatti, il processo di fosforilazione dei recettori C/EBP e PPAR ne determina il blocco funzionale, portando alla mobilizzazione del grasso da questi distretti. Inoltre, nel caso di un successivo aumento di tessuto adiposo, questo è distribuito in modo più armonico nel corpo senza depositarsi, prevalentemente, in sede trocanterica.

Bilancio Azotato

Uno dei danni principali del digiuno modificato è la perdita di proteine. Questo può determinare perdita delle fibrocellule muscolari cardiache con morte del paziente. Dobbiamo, perciò, avere sempre la certezza, durante il Trattamento Aminoacidico, di non avere perdita proteica.

Un semplice esame (l'urea urinaria) ci consente di valutare il Bilancio Azotato:

$(\text{Grammi di Proteine Ingerite}/6,25) - (\text{Grammi Urea Urinaria} + 3) = \text{Bilancio Azotato}$

Se il bilancio è positivo, va tutto bene (le proteine ingerite vengono utilizzate per il mantenimento della massa magra), se il bilancio è negativo, bisogna bloccare il trattamento (le proteine sono insufficienti e l'organismo consuma la massa magra).

Il fabbisogno proteico è definito come la quantità di proteine alimentari necessaria per compensarne e pareggiarne la perdita su base giornaliera, in modo che una persona rimanga nel bilancio azotato. Ciò viene determinato misurando l'escrezione di azoto quando la persona segue una dieta priva di proteine.

In questo caso, l'assunzione di azoto alimentare è pari a zero e tutto l'azoto espulso proviene dalla disgregazione e catabolismo delle proteine corporee. Questo valore presume la presenza di calorie alimentari sufficienti e una proporzione normale di carboidrati alimentari (cosa che non abbiamo nel Trattamento Aminoacidico).

Studi fatti sul bilancio azotato mostrano che, in assenza di apporto proteico, un adulto del peso di 70 kg perde 8-12 g di azoto ogni giorno. In aggiunta viene tenuto conto delle questioni della digeribilità e della risposta soggettiva, quindi, al valore citato, è stato aggiunto un "fattore di

sicurezza". Così la RDA per le proteine ammonta a 0,8 g/kg/die, che per il 95% della popolazione è sufficiente a mantenere in equilibrio le riserve proteiche.

Ma, sulla base del bilancio azotato, considerando che un grammo d'azoto corrisponde a 6,25 g di proteine, oggi, arriviamo ad un fabbisogno di circa 1 grammo/kg di proteine al giorno.

In aggiunta al fabbisogno proteico, si ha un fabbisogno più specifico, anche per i singoli aminoacidi essenziali (EAA).

Già nel 1965 Alton Meister, Professore di Biochimica presso la Scuola di Medicina della Tufts University di Boston, in *Biochemistry of the Aminoacids*, parlava della corretta composizione in aminoacidi essenziali che doveva essere utilizzata nella nutrizione parenterale. Detta composizione assicura una corretta sintesi proteica e un giusto utilizzo netto di azoto.

Detta composizione qualitativa è, nei fabbisogni raccomandati dall'Organizzazione Mondiale della

Sanità (OMS):

Aminoacido	mg per kg peso corporeo	mg per 70 kg	mg per 100 kg
Istidina	10	700	1000
Isoleucina	20	1400	2000
Leucina	39	2730	3900
Lisina	30	2100	3000
Metionina + Cisteina	15 (totale)	1050	1500
Fenilalanina + Tirosina	25 (totale)	1750	2500
Treonina	15	1050	1500
Triptofano	4	280	400
Valina	26	1820	2600

Questi fabbisogni si intendono in un organismo sano e normale. Quando il bilancio azotato può essere alterato, come nella gravidanza, nell'allattamento, nell'anziano, durante l'attività sportiva, la convalescenza, la crescita (bambini, adolescenti), o nella dieta ipocalorica, il fabbisogno aumenta.

Quindi è necessario comprendere le differenze esistenti tra il normale fabbisogno proteico stabilito dall'Institute of Science e il fabbisogno proteico per i soggetti che non rientrano nella categoria definita "normale".

La dose giornaliera raccomandata (RDA, Recommended Daily Allowance) si limita a coprire le esigenze proteiche basali quotidiane del 97,5% degli uomini adulti e donne sani di età superiore ai 19 anni.

Un'altra linea guida è il Acceptable Macronutrient Distribution Range (AMDR) che esprime un range di assunzione più flessibile per soddisfare coloro che possono avere un fabbisogno proteico superiore a quello del RDA. Questo ci dà un margine di tolleranza molto più alto per l'assunzione proteica.

Ad esempio, su un fabbisogno di 2000 kcal, il massimo quantitativo tollerato dall'AMDR è di 175 gr di proteine (che per un individuo di 70 kg sarebbero 2.5 gr/kg), una dose di gran lunga superiore a quella del RDA, pur rimanendo, per definizione, accettata dagli enti della salute.

I Rischi

Il Trattamento Aminoacidico non è rischioso, ma richiede alcune attenzioni. Dobbiamo considerare la perdita di potassio per diminuzione dell'insulina e per il riassorbimento dei bicarbonati a livello renale e la possibile perdita di calcio dalle ossa conseguente all'acidificazione.

Va subito detto che questi problemi sono relativi, visto i tempi di trattamento (15 giorni).

La questione dell'acidificazione conseguente alle proteine nella dieta è un concetto noto come Net Renal Acid Load (NRAL, carico acido renale netto) o Potential Renal Acid Load (PRAL, carico acido renale potenziale). Il NRAL/PRAL si riferisce alla quantità totale di acido prodotto che i reni devono processare. Semplificando, gli alimenti ricchi di proteine tendono ad aumentare il PRAL.

Analizzando gli effetti di una dieta iperproteica sull'acidità prodotta, è stato verificato che la capacità dei reni di smaltire l'acido, in periodi di alto apporto proteico, sembra essere molto efficiente, evidenziando una grande capacità di surplus renale per la gestione di un ulteriore carico acido renale netto (NRAL).

Questo motiva il perché la letteratura scientifica non è mai riuscita a dimostrare danni renali a causa di diete iperproteiche in soggetti sani.

Nonostante il rene sia in grado di gestire e sopportare alti regimi proteici e carichi acidi, questa efficienza si riduce con l'avanzare dell'età.

L'assunzione di verdura, insieme alla supplementazione di potassio, è in grado tamponare questo carico acido netto (NRAL) favorendo un effetto alcalinizzante sul corpo.

Utile, nell'anziano in trattamento, può essere la supplementazione di glutammina.

I reni sono capaci di metabolizzare l'aminoacido glutammina nelle cellule del tubulo prossimale; per ogni molecola di glutammina, vengono prodotte due molecole di ammonio (NH₄⁺) con riduzione degli ioni idrogeno urinari.

Un'acidosi di lunga durata può indurre una regolazione ormonale del calcio e dei fosfati, portando alla alterazione del metabolismo del calcio e del fosforo ed a una possibile osteodistrofia uremica. In soggetti anziani si deve verificare la Clearance del Calcio ed eventualmente regolare una supplementazione di vitamina D e calcio.

Conclusione

Concludendo le considerazioni sul Trattamento Aminoacidico, dobbiamo ricordare:

1. Il Trattamento Aminoacidico è una terapia medica che, mediante variazioni endocrine, metabolizza, rapidamente, grandi quantità di tessuto adiposo (deve essere fatta da un medico, dopo accurata valutazione del paziente e non può prevedere il "fai da te" via web)
2. La valutazione base del paziente è lo studio della composizione corporea (calcolo di FM, FFM, TBW e AMA)
3. Il Trattamento prevede l'assunzione di proteine e fibre, con basso apporto di glucidi
4. Le proteine da somministrare devono avere una composizione qualitativa utile ad una corretta sintesi proteica e ad un utilizzo netto d'azoto (Meister)

5. Il quantitativo di proteine deve essere tale da consentire la stimolazione endocrina del GH e dell'IGF-1 e dare un Bilancio Azotato positivo (mediamente 1,5 grammi pro-chilo di peso)
6. L'apporto glicidico non deve superare il valore del 5% per non stimolare la secrezione dell'insulina
7. È necessaria un'integrazione di potassio (2-3 grammi) per compensare la perdita di questo
8. In pazienti anziani e in caso di trattamento ripetuto, si deve effettuare la Clearance del Calcio e, eventualmente supplementare Vitamina D e Calcio.
9. Sempre in pazienti anziani, può essere utile la supplementazione orale di Glutamina.
10. Il trattamento prevede cicli di un massimo di 15 giorni, intervallati da dieta ipocalorica con normale composizione in macronutrienti.

Infine, il trattamento può essere eseguito con alimenti (carne o pesce a basso contenuto glicidico). In caso di utilizzo di integratori questi dovranno rispondere ad un contenuto qualitativo in aminoacidi secondo la Composizione di Meister e ad una presenza massima in zuccheri del 5%.

Anche in questo caso il quantitativo, soggettivizzato, deve indurre un aumento della concentrazione ematica di GH ed IGF-1 ed una diminuzione della concentrazione ematica dell'insulina. Oltre a consentire un Bilancio azotato positivo.

Bibliografia

- Allen et al. Protein-induced hypercalciuria: a longer-term study. *Am J Clin Nutr.* 1979 Apr;32(4):741-9.
- Anand CR, Linkswiler HM. Effect of protein intake on calcium balance of young men given 500 mg calcium daily. *J Nutr.* 1974 Jun;104(6):695-700.
- Baba et al. High protein vs high carbohydrate hypoenergetic diet for the treatment of obese hyperinsulinemic subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999 Nov;23(11):1202-6.
- Bonjour JP. Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *J Am Coll Nutr.* 2005 Dec;24(6 Suppl):526S-36S.
- Brouns et al. Metabolic changes induced by sustained exhaustive cycling and diet manipulation. *Int J Sports Med.* 1989 May;10 Suppl 1: S49-62.
- Campbell et al. International Society of Sports Nutrition position stand: protein and exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2007 Sep 26; 4:8.
- Cao JJ, Nielsen FH. Acid diet (high-meat protein) effects on calcium metabolism and bone health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010 Nov;13(6):698-702.
- Dawson-Hughes B. Interaction of dietary calcium and protein in bone health in humans. *J Nutr.* 2003 Mar;133(3):852S-854S.
- Elmadfa I, Freisling H. Fat intake, diet variety and health promotion. *Forum Nutr.* 2005;(57):1-10.
- Fern et al. Effects of exaggerated amino acid and protein supply in man. *Experientia.* 1991 Feb 15;47(2):168-72.
- Gelfand RA, Hendler R. Effect of nutrient composition on the metabolic response to very low-calorie diets: learning more and more about less and less. *Diabetes Metab Rev.* 1989 Feb;5(1):17-30.
- Halton TL, Hu FB. The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety, and weight loss: a critical review. *J Am Coll Nutr.* 2004 Oct;23(5):373-85.

- Heaney RP, Layman DK., Amount and type of protein influences bone health. *Am J Clin Nutr.* 2008 May;87(5):1567S-1570S.
- Hill AJ. Does dieting make you fat? *Br J Nutr.* 2004 Aug;92 Suppl 1: S15-8.
- Hodgson et al. Partial substitution of carbohydrate intake with protein intake from lean red meat lowers blood pressure in hypertensive persons. *Am J Clin Nutr.* (2006) 83(4):780-7.
- Institute of Medicine (Trumbo et al.) Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc.* 2002 Nov;102(11):1621-30.
- Jehle et al. Partial neutralization of the acidogenic Western diet with potassium citrate increases bone mass in postmenopausal women with osteopenia. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Nov;17(11):3213-22.
- Krieger et al. Effects of variation in protein and carbohydrate intake on body mass and composition during energy restriction: a meta-regression. *Am J Clin Nutr.* 2006 Feb;83(2):260-74.
- Layman et al. A moderate-protein diet produces sustained weight loss and long-term changes in body composition and blood lipids in obese adults. *J Nutr.* 2009 Mar;139(3):514-21.
- Layman et al. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. *J Nutr.* 2003 Feb;133(2):411-7.
- Layman et al. Dietary protein and exercise have additive effects on body composition during weight loss in adult women. *J Nutr.* 2005 Aug;135(8):1903-10.
- Lemon PW. Is increased dietary protein necessary or beneficial for individuals with a physically active lifestyle? *Nutr Rev.* 1996 Apr;54(4 Pt 2): S169-75.
- Loenneke et al. Quality protein intake is inversely related with abdominal fat. *Nutr Metab (Lond).* 2012; 9: 5.
- Manninen AH. High-protein diets are not hazardous for the healthy kidneys. *Nephrol Dial Transplant.* 2005 Mar;20(3):657-8.
- Marable et al. Urinary nitrogen excretion as influenced by a muscle-building exercise program and protein intake variation. *Nutr. Rep. Int.* 1979 19: 795.
- Martin et al. Dietary protein intake and renal function. *Nutr Metab (Lond).* 2005; 2: 25.
- Mettler et al. Increased protein intake reduces lean body mass loss during weight loss in athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2010 Feb;42(2):326-37.
- Millward DJ. Metabolic demands for amino acids and the human dietary requirement: Millward and rRvers (1988) revisited. *J Nutr.* 1998 Dec;128(12 Suppl):2563S-2576S.
- Millward DJ. Optimal intakes of protein in the human diet. *Proc Nutr Soc.* (1999) 58(2): 403-13. Oddoye EA, Margen S. Nitrogen balance studies in humans: long-term effect of high nitrogen intake on nitrogen accretion. *J Nutr.* 1979 Mar;109(3):363-77.
- Paddon-Jones et al. Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004 Mar;286(3): E321-8.
- Paddon-Jones et al. Protein, weight management, and satiety. *Am J Clin Nutr.* 2008 May;87(5):1558S1561S.
- Pellett PL. Protein evaluation, amino acid scoring and the Food and Drug Administration's proposed food labeling regulations. *J Nutr.* 1991 Jan;121(1):145-50.

- Phillips SM. Dietary protein for athletes: from requirements to metabolic advantage. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2006 Dec;31(6):647-54.
- Poortmans JR, Dellalieux O. Do regular high protein diets have potential health risks on kidney function in athletes? *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2000 Mar;10(1):28-38.
- Smith et al. Effects of caloric or protein restriction on insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding proteins in children and adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:443-9.
- Soeters et al. Intermittent fasting does not affect whole-body glucose, lipid, or protein metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2009 Nov;90(5):1244-51
- Symons et al. A moderate serving of high-quality protein maximally stimulates skeletal muscle protein synthesis in young and elderly subjects. *J Am Diet Assoc.* 2009 Sep;109(9):1582-6.
- Tarnopolsky et al. Influence of protein intake and training status on nitrogen balance and lean body mass. *J Appl Physiol.* 1988 Jan;64(1):187-93.
- Tipton KD, Wolfe RR. Protein and amino acids for athletes. *J Sports Sci.* 2004 Jan;22(1):65-79.
- Torbay et al. High protein vs high carbohydrate hypoenergetic diet in treatment of obese normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects. *Nutr Res* 2002, 22:587-598.
- Veldhorst et al. Gluconeogenesis and energy expenditure after a high-protein, carbohydrate-free diet. *Am J Clin Nutr.* 2009 Sep;90(3):519-26.
- Waterlow JC. Metabolic adaptation to low intakes of energy and protein. *Annu Rev Nutr.* 1986; 6:495- 526.
- Waterlow JC. Protein turnover with special reference to man. *Q J Exp Physiol.* 1984 Jul;69(3):409-38.
- Welbourn et al. An oral glutamine load enhances renal acid secretion and function. *Am J Clin Nutr.* 1998 Apr;67(4):660-3.
- Westerterp-Plantenga et al. Dietary protein, weight loss, and weight maintenance. *Annu Rev Nutr.* 2009; 29:21-41.
- Westerterp-Plantenga MS. The significance of protein in food intake and body weight regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003 Nov;6(6):635-8.
- Willi et al. The effects of a high-protein, low-fat, ketogenic diet on adolescents with morbid obesity: body composition, blood chemistries, and sleep abnormalities. *Pediatrics.* 1998 Jan;101(1 Pt 1):61-7.
- Williams MH. Water, electrolytes, and temperature regulation. In: Williams MH. *Nutrition and Fitness for Sport.* Brown & Benchmark, 1995. pp. 187. ISBN 0697255484