



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Medicina

Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecniche dell'Attività Motoria Preventiva ed
Adattata

TESI DI LAUREA

**“SVISCERANDO L'ARGOMENTO”: DIETA CHETOGENICA,
ALLENAMENTO CON SOVRACCARICHI ED IPERTROFIA
MUSCOLARE**

Relatore: Prof.ssa Moro Tatiana

Laureando: Fiorotto Valentina

N° di matricola: 2057157

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

1.0 RIASSUNTO.....	2
2.0 INTRODUZIONE.....	3
2.1 LA DIETA CHETOGENICA.....	3
2.2 TIPOLOGIE DI DIETA CHETOGENICA.....	4
2.3 PARAMENTRI EMATOCHIMICI IN CONDIZIONI DI CHETOSI.....	5
2.4 EFFETTI NOTI DELLA DIETA CHETOGENICA SULL'IPERTROFIA MUSCOLARE.....	6
2.5 L'IPERTROFIA MUSCOLARE ED I SUOI MECCANISMI FISIOLGICI LEGATI ALL'ALLENAMENTO CON I SOVRACCARICHI.....	12
3.0 SCOPO DELLO STUDIO.....	17
4.0 MATERIALI E METODI.....	18
4.1 DISEGNO SPERIMENTALE PRELIMINARE.....	18
4.2 DISEGNO SPERIMENTALE.....	18
4.3 TIMELINE DELLE VISITE.....	20
4.4 PROTOCOLLI DI INTERVENTO DIETETICO.....	23
4.5 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.....	27
5.0 RISULTATI.....	28
5.1 TEST ONE-WAY ANOVA: VARIABILI DIPENDENTI DAL TEMPO....	28
5.2 CORRELAZIONI E FATTORI PREDITTIVI PER L'ENTRATA IN CHETOSI.....	31
5.3 CORRELAZIONI TRA DURATA DELLA CHETOSI, COMPOSIZIONE CORPOREA E MARKER BIOCHIMICI.....	32
5.4 CASO STUDIO: DIETA CHETOGENICA ED IPERTROFIA.....	33
6.0 DISCUSSIONE.....	35
7.0 CONCLUSIONE.....	37
8.0 BIBLIOGRAFIA.....	38

1.0 RIASSUNTO

La presente tesi mira ad enunciare le conoscenze esistenti ad oggi nella letteratura scientifica in merito alla dieta chetogenica. Si descriverà dunque in che cosa consiste, che processi innesca a livello biochimico nell'essere umano e con quali tempistiche solitamente. A questa spiegazione si assocerà quella inerente al concetto di ipertrofia muscolare e meccanismi fisiologici alla base di questa. Sulla base degli studi scientifici, presenti ad oggi, in merito agli effetti dell'allenamento con i sovraccarichi sui bodybuilder sottoposti ad un periodo di dieta chetogenica, ci si ricollegherà alla descrizione di uno studio pilota condotto dall'Università di Padova. Si passerà poi a descrivere il nuovo progetto sperimentale avviato dal medesimo istituto. Dopo l'enunciazione dei risultati rinvenuti a partire dalle analisi dei dati raccolti nei due progetti sperimentali, si discuteranno questi ultimi così da arrivare a trarre alcune conclusioni inerenti alle influenze a livello molecolare della dieta chetogenica e dell'allenamento con i sovraccarichi sulla risposta muscolare, tanto negli atleti, quanto nei soggetti sani o affetti da patologie croniche.

2.0 INTRODUZIONE

L'esercizio fisico di durata superiore ad un paio di minuti trae il suo carburante dalla combinazione di carboidrati e lipidi intra-muscolari ed extra-muscolari, con un minor contributo da parte degli amminoacidi (Egan et al., 2013). Da quando è stata introdotta la biopsia muscolare per indagare il metabolismo muscolare umano nel 1960, è stato largamente accettato il fatto che elevati livelli di glicogeno muscolare pre-esercizio determinassero risvolti ottimali nelle performance atletiche (Bergström et al., 1967). L'interesse nei confronti delle alternative low carb è cresciuto a seguito delle pubblicazioni di Phinney e colleghi nel 1980, le quali dimostrarono come pazienti in sovrappeso e ciclisti ben allenati potessero sostenere intensità di esercizio submassimali, seguendo una dieta chetogenica di 21 e 28 giorni rispettivamente (Phinney et al., 1980 e 1983). Da qui il dibattito accademico ha portato a diversi studi sulla tematica, svolti tanto su atleti di endurance, quanto su crossfitters ed atleti che si allenano contro resistenza (McSwiney et al., 2019). L'attuale comprensione dell'influenza delle diete a basso contenuto di carboidrati sulla massa magra e sulla forza e potenza muscolari è relativamente limitata. In particolare, non sono stati condotti studi a lungo termine (>90 giorni) sull'uomo che analizzino gli adattamenti molecolari acuti che avvengono nel muscolo quando si consuma una dieta chetogenica abbinata all'allenamento contro resistenza (Margolis & Pasiakos, 2023). Proprio quest'ultimo aspetto ha rappresentato lo stimolo ad approfondire cosa avviene a livello molecolare in seguito ad un allenamento con i sovraccarichi condotto durante un regime chetogenico.

2.1 La dieta chetogenica

La dieta chetogenica viene studiata da più di 100 anni (Winesett et al., 2015; Newburgh et al., 1920). Il Dr. Russel Wilder fu il primo ad utilizzarla per trattare l'epilessia nel 1921 (Wilder RM, 1921) ed il suo utilizzo, in generale, fu poi molto ampio fino all'introduzione dei farmaci antiepilettici (Masood et al., 2019; Miller et al., 2018).

È solo negli ultimi 30 anni però, che la ricerca scientifica ha permesso di estendere le conoscenze in merito ai benefici sulla salute dell'approccio dietetico chetogenico.

Di per sé la dieta chetogenica è un approccio nutrizionale basato su un'assunzione ridotta di carboidrati (meno di 20/30 g al giorno o 5% dell'energia totale) (Muscogiuri et al., 2019; Paoli et al., 2014; Paoli et al., 2015), un alto contenuto di grassi (più del 70%)

(McSwiney et al., 2019) ed un adeguato livello di proteine, generalmente superiore rispetto alle raccomandazioni italiane (0,9 g per kg di peso corporeo) (S.I.N.U., LARN-Revisione 2014). Il vantaggio a livello metabolico indotto dalla dieta chetogenica è dato proprio dalla drastica riduzione nel consumo giornaliero di carboidrati, che costringe il corpo ad usare i grassi come fonte energetica, come dimostrato dal RER (quoziente respiratorio) (Paoli et al., 2010; Rubini, 2015).

Il glucosio è una fonte fondamentale di energia per il sistema nervoso centrale, il quale è protetto dalla barriera emato-encefalica che non lascia passare gli acidi grassi liberi. Dopo pochi giorni di chetogenica, c'è un calo nella disponibilità di glucosio per via della riduzione delle scorte di glicogeno e, di conseguenza, è richiesta dall'organismo una fonte alternativa di energia (McPherson et al., 2012; Owen et al., 1969). È stato osservato che durante la dieta chetogenica le riserve di glicogeno possono diminuire del 40-50% (Harber et al., 2005; Phinney et al., 1983).

Questa fonte alternativa di energia viene fornita dai chetoni: acetoacetato, 3-idrossibutirrato ed acetone. I chetoni sono generati attraverso il processo di chetogenesi a partire all'acetil-CoA nei mitocondri del fegato. Sebbene generati a livello del fegato, quest'organo è incapace di utilizzarli per la mancanza del succinil-CoA: l'enzima 3-CoA transferasi, necessario a convertire l'acetoacetato in aceto-acetil-CoA. I corpi chetonici vengono dunque rilasciati in circolo per essere sfruttati da altri tessuti come fonte energetica, convertendo il 3-idrossibutirrato in acetoacetato ed infine in aceto-acetil-CoA, che può essere trasformato in acetil-CoA per entrare nel ciclo di Krebs (Nelson et al., 2000). Alla fine di questo processo, l'energia prodotta dalla chetogenesi è maggiore rispetto a quella fornita dal glucosio (Fukao et al., 2004). Inizialmente, la richiesta di acetil-CoA viene soddisfatta tramite la glicogenolisi epatica e la gluconeogenesi, ma dopo quattro-sette giorni di chetogenica, la lipolisi del tessuto adiposo diventa la fonte primaria di ricavo energetico. Il rapido aumento di chetoni circolanti induce fenomeni di chetonimia e chetonuria.

2.2 Tipologie di dieta chetogenica

Ci sono diverse versioni di dieta chetogenica, ma nella presente tesi si considerano quelle più facilmente fruibili dalla letteratura scientifica (Ashtary-Larky et al., 2022).

La dieta chetogenica classica è quella utilizzata per scopi terapeutici e prevede un rapporto 4:1 nella razione di grammi di grassi rispetto ai carboidrati e le proteine (90% grassi, 6% proteine e 4% carboidrati) (Bergqvist et al., 2005).

La dieta chetogenica modificata da Atkins, introdotta nel 2003, limita il consumo di carboidrati a 10 g/d per i bambini e 20 g/d per gli adulti, senza limitare l'introito energetico di fluidi o proteine (grassi 65%, proteine 30% e carboidrati 5%) (Kossoff et al., 2012 e 2013).

La VLCKD (dieta chetogenica a basso introito energetico) è, invece, un intervento nutrizionale che mima il digiuno, riducendo notevolmente l'introito di carboidrati giornaliero, solitamente inferiore ai 30 g/d. Tale dieta prevede che l'introito energetico giornaliero resti sotto le 800 kcal/d (Caprio et al., 2019).

La dieta chetogenica mediterranea, infine, è una dieta a basso consumo di carboidrati, meno di 30/50 g/d, con enfasi sull'intake di carne, pesce, olio d'oliva, noci ed insalata, in alcuni protocolli anche di estratti di erbe (Ashtary-Larky et al., 2022).

2.3 Parametri ematochimici in condizioni di chetosi

La concentrazione plasmatica di corpi chetonici riflette il bilancio tra la produzione epatica e l'up-take e catabolismo nei tessuti extraepatici (Evans et al., 2017). In condizioni di dieta equilibrata, la concentrazione dei corpi chetonici è molto bassa (<0,3 mmol/L) rispetto a quella del glucosio (~4 mmol/L) (Paoli, 2014).

Il corpo tendenzialmente inizia ad utilizzare i chetoni come fonte energetica dopo pochi giorni o settimane dall'inizio della dieta. Questo fenomeno è chiamato "adattamento alla chetosi" ed è molto variabile tra gli individui (Ashtary-Larky et al., 2022).

La chetosi nutrizionale non va confusa con lo stato di chetoacidosi patologica, dettata da diabete mellito, piuttosto che da alcolismo (Fedorovich et al., 2018). In condizioni di pH fisiologico, quindi, la chetosi comporta un innalzamento nella concentrazione ematica di corpi chetonici fino a 4-5 mmol/L (72-90 mg/dL). In condizioni di chetoacidosi le concentrazioni eccedono questi valori fino a dieci volte tanto (Tinsley et al., 2016). Il motivo alla base di questa variabilità è ancora molto dibattuto; ad ogni modo, alcuni autori propongono l'ipotesi secondo la quale la biogenesi mitocondriale ed il decremento del danno mitocondriale nei tessuti ossidativi (come il muscolo ed il cervello) possano essere implicati. Per esempio, studi sul tessuto muscolare mostrano come la dieta chetogenica

contribuisca alla biogenesi mitocondriale e riduca l'autofagia dei mitocondri, contribuendo ad aumentarne le riserve nel tessuto muscolare (Bough et al., 2006; Ahola-Erkkila et al., 2010). Altri credono che la chetogenica riduca la deacetilazione degli istoni, agendo come segnale molecolare atto a promuovere importanti modifiche epigenetiche (Gershuni et al., 2018; Newman et al., 2017).

2.4 Effetti noti della dieta chetogenica sull'ipertrofia muscolare

La dieta chetogenica è un approccio che è stato dimostrato essere efficace a promuovere la perdita di peso e che recentemente è stato utilizzato come valida opzione terapeutica per trattare i disordini metabolici, le malattie cardiovascolari ed il diabete tipo 2 (Paoli et al., 2013). Il suo ruolo nella performance sportiva è ancora controverso, con alcuni autori che sostengono i suoi effetti favorevoli (Paoli et al., 2012), mentre altri che ne scoraggiano l'utilizzo, per lo meno negli sport di endurance (Burke et al., 2021; Heikura et al., 2020; Whitfield et al., 2021). Per gli atleti che competono in sport con categorie di peso, la chetogenica può essere un metodo sicuro per perdere peso senza compromettere la performance, per questo potrebbe rappresentare un importante mezzo per questo tipo di persone. Ad ogni modo, sembrerebbe essere controproducente per quelli che ricercano la massima ipertrofia muscolare, poiché molti studi hanno mostrato come la fase di chetosi fatichi a determinare guadagni di massa magra (Paoli et al., 2019; Jabekk et al., 2010; Kephart et al., 2018; Vargas et al., 2018). I bodybuilder professionisti hanno come obiettivo quello di mantenere un perfetto bilanciamento tra volume muscolare e massa grassa, al fine di ottenere le simmetrie e proporzioni muscolari più accurate. Per raggiungere tale obiettivo, questi ultimi si sottopongono ciclicamente a diverse intensità di allenamento in combinazione con vari regimi dietetici, in modo da aumentare la massa muscolare durante l'off season e ridurre la massa grassa durante la fase di preparazione alla competizione (Tzur et al., 2020). In questo contesto la chetogenica sembrerebbe essere una dieta utile a ridurre il grasso, ma il suo ruolo nel preservare la performance atletica e l'ipertrofia muscolare negli atleti è stato ancora poco investigato.

I risultati di uno studio di Paoli et al. del 2021 rilevano come le analisi della composizione corporea al termine di otto settimane di regime chetogenico, comportino un cambiamento significativo nella composizione corporea dei soggetti. Lo studio ha preso in considerazione esclusivamente bodybuilder tra i 20 e 40 anni, con almeno 5 anni di

esperienza di allenamento alle spalle, iscritti regolarmente ad una categoria riconosciuta di bodybuilding a livello competitivo. Questi ultimi sono stati reclutati nelle regioni di Emilia Romagna e Veneto, escludendo coloro che facessero uso di steroidi, uso cronico di medicinali, che avessero problematiche metaboliche o qualsiasi altra problematica clinica che potesse essere aggravata dalle procedure dello studio. Da quest'ultimo è emerso come la massa grassa diminuisca significativamente nel gruppo che si sottopone a regime chetogenico, mentre la massa magra aumenta significativamente solo nel gruppo sottoposto ad una western diet. In termini di distribuzione di massa grassa e magra, viene osservato come entrambi i gruppi riducano la massa grassa, ma la differenza statisticamente significativa si rileva solo nel gruppo a regime chetogenico (Paoli et al., 2021)(Fig.1).

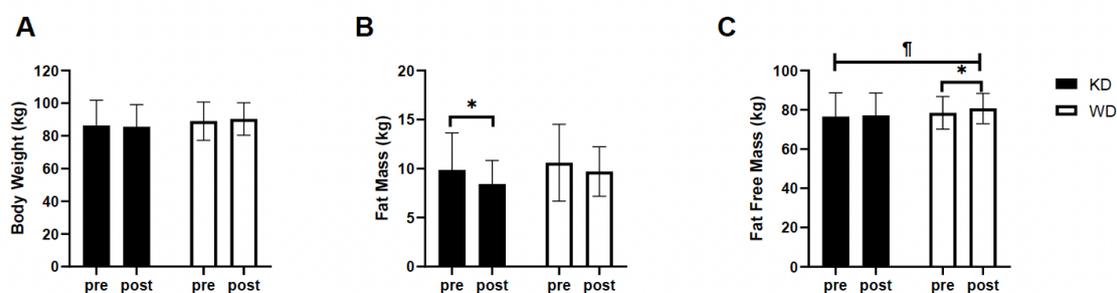


Figura 1. Risultati della composizione corporea dopo 8 settimane di dieta. (A) peso corporeo; (B) massa grassa; (C) massa magra. *differenze significative rispetto al valore iniziale ($p < 0.05$); ¶ interazione tempo x dieta ($p < 0.05$). KD, gruppo a regime chetogenico; WD, gruppo a regime western diet.

Fonte: Paoli, A.; Cenci, L.; Pompei, P.; Sahin, N.; Bianco, A.; Neri, M.; Caprio, M.; Moro, T. Effects of Two Months of Very Low Carbohydrate Ketogenic Diet on Body Composition, Muscle Strength, Muscle Area, and Blood Parameters in Competitive Natural Body Builders. *Nutrients* 2021, 13, 374.

Le analisi della calorimetria indiretta mostrano un aumento significativo nel REE (metabolismo basale) solo nel gruppo a regime western diet. Variazioni nei parametri relativi al quoziente respiratorio, invece, confermano l'abilità della sola dieta chetogenica di abbassare il RER, indicando uno shift verso il metabolismo lipidico. Valori di RER più bassi sembrano predire una migliore abilità di manipolare il peso corporeo (Seidell et al., 1992; Valtueña et al., 1997); questo potrebbe essere un vantaggio per i bodybuilder, durante i cicli di cutting.

Ci sono alcuni studi che affermano che la perdita di grasso indotta dal regime chetogenico si basi solo sul deficit calorico (Hall et al., 2015), mentre altri suggeriscono che la

chetogenica induca anche un aumento del REE (Ludwig et al., 2021; Ebbeling et al., 2012).

Nel caso dello studio di Paoli et al. un'ipotesi plausibile per giustificare l'aumento del REE nei soggetti sottoposti a regime chetogenico, sarebbe quella suggerita da Hall et al. per cui questi abbiano aumentato il loro NEAT (termogenesi non indotta dall'esercizio) (Hall et al., 2016).

Mentre gli effetti della dieta chetogenica sono consistenti in tutti gli studi per quanto riguarda la composizione corporea negli atleti (Paoli et al., 2012; Vargas et al., 2018; Bowler et al., 2020), lo stesso non si può dire per quanto concerne la massa magra, con alcuni autori che dimostrano un effetto catabolico della chetogenica sulla muscolatura (Kephart et al., 2018; Brinkworth et al., 2009; Johnstone et al., 2008; Ruth et al., 2013), altri che sostengono non abbia effetti diretti sui guadagni di massa muscolare (Paoli et al., 2012; Johnston et al., 2006). Solamente in uno studio viene mostrato un elevato incremento della massa magra, dopo una settimana di ricarica di carboidrati (Wilson et al., 2020). Il guadagno di massa muscolare si ottiene sotto una stimolazione cronica della sintesi proteica, che è governata da alcuni ormoni (come IGF-1 e testosterone) e da vie trascrizionali (come Akt/mTOR). Per quanto concerne il profilo ormonale, lo studio di Paoli et al. del 2012 rileva il medesimo andamento riscontrato anche in altri studi, per cui gli ormoni anabolici come il testosterone e l'IGF-1 calano nel gruppo a regime chetogenico. Durante la dieta chetogenica, la riduzione nell'assunzione di carboidrati porta anche ad una diminuzione dei livelli di insulina. L'insulina è il principale regolatore dell'uptake di glucosio da parte delle cellule ed è regolata dai livelli plasmatici di glucosio stesso; dunque, bassi livelli di glucosio ematico causati dalla riduzione dell'ingestione di carboidrati, inibiscono la secrezione di insulina da parte delle cellule beta del pancreas (Nelson et al., 2000). L'insulina è anche un potente ormone anabolico (Biolo et al., 1995) ed una riduzione nei suoi livelli facilita la mobilitazione delle scorte di grassi per via dei suoi effetti sul bilancio liposintesi/lipolisi; d'altra parte, rischia di inibire la via di crescita muscolare. Da un punto di vista trascrizionale, la dieta chetogenica sembra essere capace di aumentare la fosforilazione dell'AMPK (sistema delle proteine chinasi AMP dipendenti), che è ben conosciuta per le sue capacità inibitorie nei confronti della via Akt/mTOR (Grabacka M. et al., 2016). Ad ogni modo, a differenza degli studi che mostrano una diminuzione della massa magra sotto regime chetogenico, nello studio di

Paoli et al. si osserva un mantenimento dei livelli di quest'ultima; questo per via del costante stimolo contro resistenza, così come dell'assunzione di alti livelli proteici giornalieri (2,5 g/kg) (Paoli et al., 2012; Burke et al., 2021; Paoli et al., 2019; Ludwig et al., 2021).

Sempre in questo studio di Paoli et al., la forza aumenta in entrambi i gruppi, sia nel test alla panca piana che nello squat. La forza e la potenza muscolari negli atleti richiedono di assumere di norma alti quantitativi di carboidrati (3-8 g/kg) (Iraki et al., 2019; Roberts et al., 2020; Slater et al., 2011) per mantenere le riserve di glicogeno intramuscolare, oltre che per sostenere i grandi volumi di allenamento. In un recente studio di Chappell et al., 2018, gli autori osservano come i bodybuilder con i migliori risultati durante la fase di gara consumino normalmente una grande quantità di carboidrati (5,1 g/kg). Recentemente, Vargas-Molina et al., 2018 hanno confermato il mantenimento della massa magra in donne sottoposte a regime chetogenico che si allenavano per la forza, riscontrando però un decremento nelle espressioni di forza in panca piana e squat. Quest'ultimo studio sembrerebbe riscontare dunque un risultato diverso rispetto alla maggior parte degli studi, i quali non indicano invece che la dieta chetogenica sia in grado di impattare sulla performance muscolare.

Ad ogni modo, servirebbero evidenze più approfondite per indagare meglio questo aspetto (Paoli et al., 2021).

Sempre nello studio di Paoli et al., 2021 si osserva un miglioramento del profilo di trigliceridi, colesterolo HDL ed LDL a livello ematico. Le analisi del sangue rivelano più di preciso, un miglioramento del profilo lipidico solo nel gruppo a regime chetogenico. Infatti, il colesterolo totale diminuisce significativamente in questo gruppo ed il colesterolo HDL dimostra un'interazione significativa tra il suo progressivo incremento ed il tempo sotto regime chetogenico. I trigliceridi presentano il medesimo comportamento rispetto al gruppo sotto regime western diet, mentre i lipidi diminuiscono significativamente nel gruppo sotto dieta chetogenica. Similmente a quanto accade per il colesterolo totale, anche le concentrazioni di glucosio ed insulina a livello ematico calano nell'arco delle otto settimane di dieta chetogenica. Dalle analisi delle transaminasi non si riscontrano differenze per l'aspartato transaminasi, mentre un calo significativo dell'alanina aminotransferasi viene riscontrato solo nel gruppo a regime chetogenico.

La dieta chetogenica potrebbe dunque influenzare direttamente la sintesi endogena di colesterolo attraverso la riduzione nella produzione di insulina: l'insulina è necessaria ad attivare la idrossimetilglutaril-CoA reduttasi (HMGCoA), enzima chiave nella biosintesi del colesterolo. La concomitante riduzione nell'assunzione di carboidrati e l'aumento del colesterolo introdotto attraverso il cibo, comporta una conseguente inibizione nella produzione di quello endogeno (Ness et al., 1983). Per di più, durante la dieta chetogenica, i trigliceridi introdotti con il cibo sono velocemente metabolizzati per consentire il rilascio di glicerolo, che può essere usato nel fegato per scopi energetici (Bortz et al., 1972).

Diversi studi hanno dimostrato che la dieta chetogenica può ridurre le concentrazioni di glucosio ed insulina in soggetti obesi, insulino resistenti e diabetici (Paoli et al., 2013; Volek et al., 2009; Paoli et al., 2020). Questo effetto non è solo connesso al ridotto introito di glucosio con la dieta, ma anche alla migliorata sensibilità insulinica (Paoli et al., 2013). Nello studio di Paoli et al., 2021 al di là del buono stato di salute dei partecipanti, la dieta chetogenica ha indotto una diminuzione significativa del glucosio ematico entro i valori di normalità. Oltre a questo, si è osservato un calo dei livelli di ALT. Quest'ultimo, oltre ad essere un enzima epatico non specifico, è anche un enzima cruciale nella regolazione dell'omeostasi a livello energetico. È infatti capace di convertire aminoacidi glucogenici, come l'alanina ed il glutammato, in piruvato da trasformare in glucosio con la via della gluconeogenesi (Felig et al., 1973). Nei soggetti obesi e diabetici, elevati livelli di attività di ALT sono stati associati ad un'inadeguata sensibilità insulinica (Vozarova et al., 2002; West et al., 2006), suggerendo che ALT possa giocare un ruolo cruciale nella patogenesi della resistenza insulinica. La riduzione di ALT osservata nel gruppo a regime chetogenico suggerisce che l'uso di corpi chetonici come fonte energetica è ottimizzato dalla riduzione del bisogno di aminoacidi per scopi glucogenici; d'altra parte, questo risultato sembra confermare il miglioramento della sensibilità insulinica e conseguentemente il ridotto rischio di sviluppare diabete o insulino resistenza (Paoli et al., 2021).

Infine, considerando che l'alta intensità e frequenza dell'allenamento richiesta ai bodybuilder durante la loro fase di preparazione può indurre un forte danno a livello muscolare, questo potrebbe risultare in uno stato di infiammazione cronica capace di aumentare i livelli di IL-6, IL-1 e TNF- α (Gibala et al., 1995; Roth et al., 2000; Calle et al., 2010). Queste citochine sono collegate allo stress ossidativo e all'infiammazione.

Inoltre, le concentrazioni di TNF- α ed IL-6 sono generalmente correlate positivamente con i livelli di insulina; infatti, queste citochine giocano un ruolo importante nella patogenesi della resistenza insulinica (Valtueña et al., 1997; Tagliabue et al., 2012; Hall et al., 2015; Ebbeling et al., 2012). Protocolli di allenamento intensivo contro resistenza inducono un danno muscolare che promuove una risposta infiammatoria acuta che eventualmente genera radicali liberi e perossidazione lipidica (Hall et al., 2016; Hurley et al., 1984). Se l'aumento in acuto di IL-6 può essere correlato all'allenamento ed è perciò un fattore fondamentale nell'adattamento allo stimolo allenante, livelli elevati in cronico di questa citochina possono interagire con la via STAT3/TLR-4, portando a diminuzione della sensibilità insulinica e ad altri effetti dannosi per l'organismo. La dieta chetogenica sembra essere utile a modulare la risposta infiammatoria, riducendo i livelli basali di citochine pro-infiammatorie (Paoli et al., 2021).

D'altro canto, un programma di perdita di peso può aumentare lo stress, l'ansia ed influenzare negativamente l'umore (Fabricatore et al., 2011). Il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF) è una proteina della famiglia delle neurotrofine, coinvolta nel trofismo e plasticità neuronali, ma anche nella modulazione energetica e nell'omeostasi del glucosio a livello del sistema nervoso centrale (Genzer et al., 2016). Una riduzione di questa proteina può essere associata ad una situazione di stress, depressione, disordini dell'umore, aspetti cognitivi ed altri problemi patologici (Altar et al., 1999; Duman et al., 2000). Alcune ricerche hanno rivelato che, in seguito alla perdita di peso, alcuni soggetti potessero andare incontro a depressione e sentimenti negativi (Fabricatore et al., 2011). Negli esseri umani, però, la dieta chetogenica ha dimostrato essere capace di accrescere i livelli di BDNF, probabilmente attraverso la regolazione del 3-idrossibutirrato, che è anche associato con il sostanziale miglioramento delle funzioni cognitive (Marosi et al., 2016; Mohorko et al., 2019). Questo chetone aumenta a livello cerebrale in seguito all'esercizio fisico, regolando a sua volta l'espressione di BDNF a livello dell'ippocampo. Come la dieta chetogenica favorisce un incremento dei livelli ematici di 3-idrossibutirrato, segue un aumento di BDNF a livello cerebrale, atto a migliorare le funzioni cognitive e la memoria, fattori molto importanti per gli atleti (Murphy et al., 2020).

È stato dimostrato che la chetogenica può avere effetti positivi sull'infiammazione e può ridurre i comportamenti depressivi anche negli uomini, ma non ci sono dati disponibili

sui suoi effetti su atleti come i bodybuilder (Alter et al., 1999; Duman et al., 2000; Paoli et al., 2015; Forsythe et al., 2008; Pinto et al., 2018; Bostock et al., 2017).

Le attuali evidenze riguardanti le strategie nutrizionali per aumentare la massa muscolare si basano su due parametri principali: generare un surplus energetico e consumare tra 1,6 e 2,2 g/kg BM/day di proteine (Iraki et al., 2019). Si riferisce che un piccolo surplus è richiesto negli atleti che si allenano contro resistenza (+5-10% al di sopra dei livelli di mantenimento) ed anche di più nei soggetti sedentari e principianti in allenamento (+10-20% al di sopra dei livelli di mantenimento), per ottimizzare la sintesi di proteine, minimizzando l'accumulo di tessuto adiposo (Iraki et al., 2019). Ad ogni modo, per la fase di riduzione della massa grassa, è necessario generare un deficit calorico, nel quale la dose di proteine risulti aumentata tra 1,8 e 2,7 g/kg BM/day (Phillips et al., 2011) o anche 2,3 e 3,1 g/kg BM/day (Helms et al., 2014) così da non provocare una perdita di massa muscolare. I carboidrati vengono generalmente utilizzati, poiché corrispondono alla principale fonte energetica negli allenamenti di forza, con livelli tra i 3 e 7 g/kg BM/day (Escobar et al., 2016). Per aumentare la massa muscolare in off-season le raccomandazioni dicono di assumerne tra i 4 e 7 g/kg BM/day (Slater et al., 2011), con un introito lipidico tra gli 0,8 e 1,3 g/kg BM/day (Slater et al., 2011). L'uso della dieta chetogenica nei bodybuilder che gareggiano per fini estetici e in quegli sport in cui la composizione corporea risulta fondamentale, sta ad oggi attirando l'attenzione come eventuale alternativa atta a generare surplus calorico, attraverso una drastica riduzione nel consumo di carboidrati. La limitazione che si riscontra ad oggi, però, è data dal grande senso di sazietà che provoca l'elevato consumo di grassi (Westman et al., 2007; Gibson et al., 2015). Questo conduce ad una mancata aderenza al piano, per cui ad una strategia nutrizionale non ottimale, soprattutto se la si vuole mantenere per un periodo prolungato di più di otto settimane (Vargas-Molina et al., 2022).

2.5 L'ipertrofia muscolare ed i suoi meccanismi fisiologici legati all'allenamento con i sovraccarichi

Con il termine ipertrofia muscolare si intende l'aumento della dimensione della cellula muscolare (quindi per lo più il citoplasma), a cui dovrebbe corrispondere un adeguato aumento dei nuclei. Per mantenere il rapporto nuclei/citoplasma costante si suppone un'attivazione delle cellule satelliti o staminali come fonte di nuovi nuclei. A livello

generale ci sono due vie attraverso cui le proteine si accumulano durante la crescita o l'allenamento, inducendo quindi ipertrofia: una è l'aumento della sintesi proteica e l'altra è la riduzione della velocità di degradazione. Nei muscoli adulti le proteine vengono continuamente sostituite con un turnover di circa 7-15 giorni, cosicché le condizioni finali di anabolismo, di equilibrio o di catabolismo sono l'espressione del rapporto tra sintesi e degradazione proteica (Paoli et al., 2013). Sembra che non vi sia differenza nella velocità di turnover proteico tra diversi tipi di fibre (Rennie et al., 2000), ma si sa anche che le fibre lente possono sviluppare ipertrofia in maniera meno evidente (Goldspink G., 1998). Questa diversa predisposizione dipende dal diverso metabolismo: in una fibra ossidativa con tanti mitocondri la velocità di utilizzo dell'ossigeno è elevata e la fibra deve essere mantenuta piccola per garantire che al suo interno la velocità di diffusione dell'ossigeno sia sufficientemente alta, mentre una fibra con pochi mitocondri può crescere più facilmente poiché il suo metabolismo è meno dipendente dall'ossigeno. L'esercizio finalizzato all'aumento della massa muscolare è associato a delle modifiche in una o più variabili muscolari, come la tensione passiva, la tensione indotta dalla contrazione, la concentrazione di calcio sarcoplasmatica, la richiesta di energia, la concentrazione di ossigeno intramuscolare, la presenza di ormoni, fattori di crescita e citochine, la temperatura ed il danno cellulare. Un cambiamento sufficiente in una di queste variabili conduce ad un'alterazione dell'attività della trasduzione del segnale delle vie che regolano la trascrizione dei geni coinvolti nella crescita muscolare. È stato dimostrato che le vie di trasduzione del segnale vengono attivate da diversi tipi di contrazione e che i meccanismi di attivazione della traduzione e la loro regolazione sono attivati dagli esercizi con sovraccarichi. Il carico meccanico è il più importante fattore che stimola la crescita ipertrofica e la sua mancanza provoca atrofia (Goldberg et al., 1975).

Tralasciando le vie dipendenti dall'azione dell'insulina, il testosterone ha azione anabolica agendo direttamente sulla sintesi proteica a livello nucleare. Il GH (ormone della crescita) ha azione anabolizzante agendo mediante uno dei fattori di crescita ritenuti più importanti nell'ipertrofia e cioè l'IGF-1 (fattore di crescita insulino simile). L'IGF-1 è considerato anche un possibile mediatore dell'azione del carico. Infatti, a livello locale il sovraccarico applicato ad un muscolo induce, tramite la liberazione di IGF-1, l'aumento di massa muscolare, stimolando la fosfatidil inositolo 3 fosfato chinasi (PI3K) e attraverso questa AKT (o proteina chinasi B) (Glass D.J., 2005). Il ruolo di IGF-1 potrebbe anche

riguardare la proliferazione delle cellule satelliti e quindi l'aggiunta di nuclei (Jacquemin et al., 2004). Un ruolo contrario viene svolto dalla miostatina, che inibisce l'ipertrofia, probabilmente impedendo la proliferazione delle cellule donatrici di nuclei. La fosforilazione di PKB/AKT è significativa già a 5' dopo un RET (esercizio contro resistenza) e dopo 10' c'è la fosforilazione della proteina di legame del fattore dell'iniziazione degli eucarioti (eIF4-BP1), che permette l'associazione delle proteine strutturali eIF4E e eIF4G. La fosforilazione di PKB/AKT promuove anche l'attivazione della proteina chinasi mTOR (bersaglio meccanicistico della rapamicina), implicata a sua volta nel controllo della sintesi proteica. Questa chinasi fosforila un'altra proteina chinasi chiamata p70-S6 chinasi (S6K), che innesca una cascata di risposte fosforilando a sua volta la proteina ribosomiale S6. La fosforilazione di S6 provoca la rapida traduzione di una serie di mRNA che codificano le proteine necessarie per la sintesi proteica (Paoli et al., 2013). Al contrario, agenti catabolici come i glucocorticoidi portano all'inattivazione dell'AKT e questo conduce alla defosforilazione di FOXOs, alla sua traslocazione nucleare e quindi alla conseguente regolazione di atrofici (Naeder G.A., 2005) (Fig. 2).

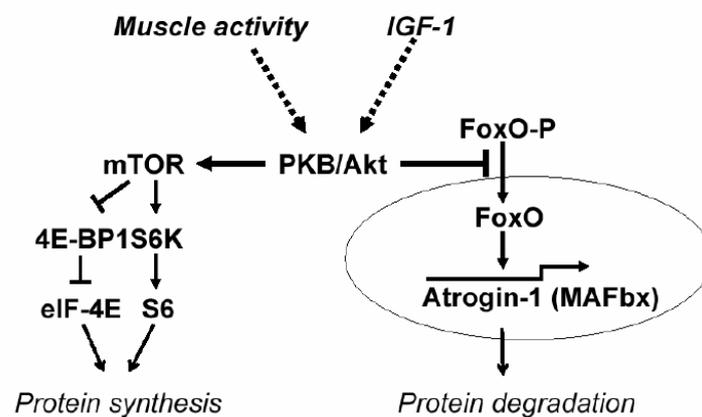


Figura 2. Vie metaboliche e di segnale per l'IGF-1. La rappresentazione schematica enfatizza il ruolo primario della cascata PI3K/Akt.

Fonte: Antonio Paoli, Marco Neri, Antonino Bianco, Principi di metodologia del fitness. Cesena, Erika Srl Editrice, 2013.

Oltre a queste vie di segnalazione, ad oggi è noto come gli esosomi siano vescicole di membrana capaci di proteggere il loro contenuto dagli attacchi dei macrofagi (van der Boorn et al., 2011). Tra le proteine che trasportano ci sono quelle del complesso maggiore di istocompatibilità, piuttosto che proteine del citoscheletro, come miosina, actina e

tubulina (Kowal et al., 2014). In aggiunta, gli esosomi sono ricchi in colesterolo, sfingomieline, glicosfingolipidi, fosfatidilserina e ceramide, tutti lipidi essenziali a mantenerne la corretta morfologia, biogenesi e regolazione omeostatica all'interno delle cellule che li ricevono (Skotland et al., 2017). Recentemente, tra gli acidi nucleici contenuti e trasportanti negli esosomi, sono stati identificati mRNAs ed RNAs non codificanti come miRNAs, lncRNAs, RNAs ribosomiale, RNAs di trasporto, snoRNAs, snRNAs e piRNAs. Tutti questi possono svolgere ruoli diversi all'interno delle cellule (van der Boorn et al., 2011) (Fig.3).

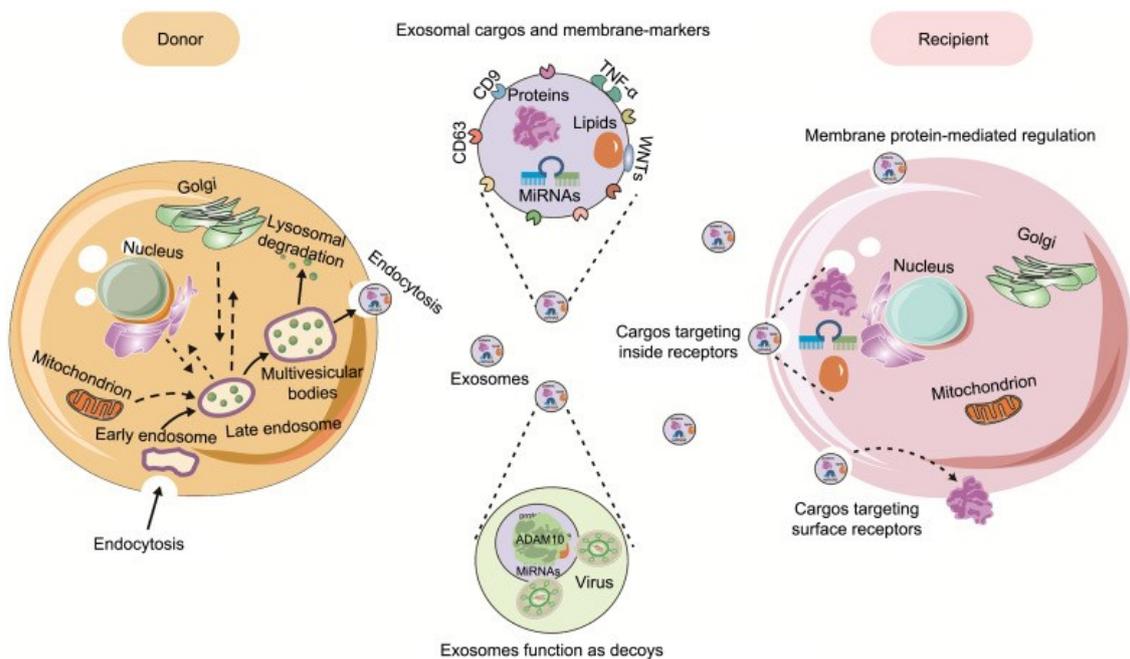


Figura 3. Biogenesi e meccanismo d'azione degli esosomi.

Fonte: Wang Z, Yang J, Sun X, Sun X, Yang G, Shi X. Exosome-mediated regulatory mechanisms in skeletal muscle: a narrative review. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2023 Jan 15;24(1):1-14. doi: 10.1631/jzus.B2200243. PMID: 36632747; PMCID: PMC9837378.

Anche la muscolatura scheletrica è in grado di secernere esosomi, alcuni dei quali entrano nel circolo ematico, mentre altri agiscono sul tessuto muscolare prossimale influenzandone le attività biologiche come il rimodellamento (Mytidou et al., 2021).

In un recentissimo studio di Xhuti et al. del 2023 è stata indagata per la prima volta l'influenza dell'età e del RET sugli ELVs circolanti e relativi alla muscolatura, nonché sugli esosomi miRNAs. Ciò che è stato riscontrato nel circolo ematico e dalle biopsie muscolari è che l'avanzare dell'età riduce significativamente la secrezione di ELV-miRNAs correlati con la salute e funzionalità muscolari. Dallo studio emerge come 12

settimane di RET possano parzialmente normalizzare i livelli di ELV-miRNAs circolanti, compatibilmente ai livelli dei soggetti giovani, determinando però effetti minimi sui livelli di miRNAs presenti all'interno della muscolatura (Xhuti et al., 2023) (Fig.4).

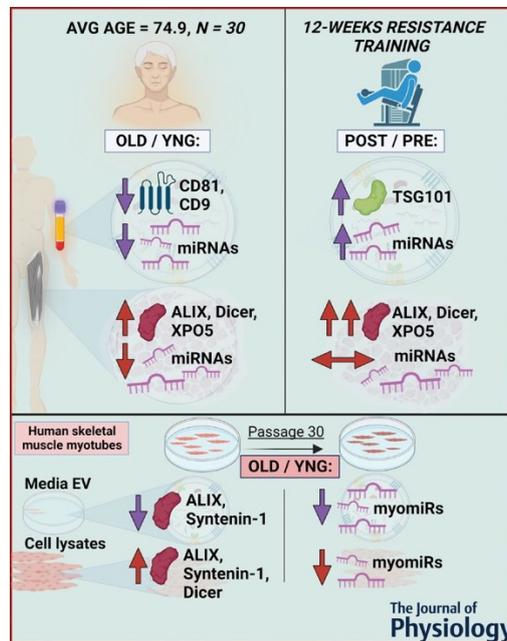


Figura 4. Schematizzazione dello studio di Xhuti.

Fonte: Xhuti D, Nilsson MI, Manta K, Tarnopolsky MA, Nederveen JP. Circulating exosome-like vesicle and skeletal muscle microRNAs are altered with age and resistance training. *J Physiol*. 2023 Feb 1. doi: 10.1113/JP282663. Epub ahead of print. PMID: 36722691.

3.0 SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo principale del presente progetto di ricerca è quindi quello di indagare a livello molecolare quali siano le influenze della dieta chetogenica sulla risposta muscolare ad un allenamento contro resistenza. L'ipotesi è che durante un regime chetogenico le vie di segnale anaboliche vengano inibite a favore di una maggior attivazione dei processi di autofagia, nonostante lo stimolo dato dall'esercizio fisico. Se questa ipotesi fosse corretta, si spiegherebbe perché è difficile aumentare la massa muscolare durante tale regime.

Il secondo scopo dello studio è di indagare come l'attivazione neuromuscolare si modifichi sotto regime chetogenico. Dai trial precedenti è infatti emerso che, nonostante non si verifichi una crescita muscolare importante, la forza muscolare aumenta, se opportunamente sollecitata. Date le proprietà dei corpi chetonici di stimolare fattori neutrofici, l'ipotesi è che la dieta chetogenica possa migliorare l'attivazione delle unità motorie: se questa fosse corretta, si spiegherebbe perché durante un regime chetogenico si osserva un aumento dell'espressione di forza anche in assenza di un accrescimento della massa muscolare.

Se tutte queste ipotesi fossero validate, sarà possibile delineare il meccanismo di regolazione muscolare indotto da tale regime. Inoltre, considerando che la dieta chetogenica viene utilizzata anche in ambito clinico per trattare patologie come l'epilessia o sindromi metaboliche, i dati ricavati da questo progetto potrebbero aiutare a rendere più efficaci gli interventi di esercizio fisico e dieta anche in ambito patologico.

Tuttavia, data l'elevata variabilità delle risposte ai regimi chetogenici, il progetto di tesi includerà anche uno studio preliminare per identificare eventuali parametri che possano influenzare la velocità dell'entrata in chetosi, in modo da poter ottimizzare la risposta dello studio principale.

4.0 MATERIALI E METODI

4.1 Disegno Sperimentale Preliminare

In merito alla variabilità con cui i soggetti entrano in chetosi, ci si avvale di uno studio portato avanti dall'Università di Padova per riscontrare questa differenza interindividuale nell'arco di 15 giorni. In questo studio prospettico pilota si assiste ad un primo periodo T0, della durata di 15 giorni, in cui ai soggetti viene chiesto di permanere sotto regime dietetico chetogenico. Una volta reclutati i partecipanti si esegue una visita medica e viene spiegato il protocollo alimentare da seguire nelle due settimane successive, così come la procedura per rilevare in autonomia glicemia e chetonimia a domicilio. In seguito all'acquisizione del consenso informato ed in caso di esito positivo della visita medica, viene programmato il giorno in cui eseguire DEXA, BIA, prelievo ematico e consegna del piano alimentare da seguire. La distribuzione dei macronutrienti durante la dieta chetogenica prevede <30 g/d di glucidi, avvalendosi anche di preparati chetogenici (RKP) a base di proteine di alta qualità ed ipoglucidici, capaci di imitare il gusto dei carboidrati ed implementare l'aderenza dei partecipanti al progetto sperimentale. 40-45% di proteine, pari a circa 1,5 g/kg di massa ideale. 50-55% di lipidi, di cui la metà monoinsaturi (acido oleico). Ai soggetti viene richiesto di rilevare glicemia e chetonimia 2 volte al giorno, una al mattino ed una alla sera per 15 giorni, ovvero, prima di iniziare una fase low-carb di altre due settimane. La distribuzione dei macronutrienti durante la low-carb prevede 30-40% di energia dai glucidi, proteine ad 1 g/kg di massa ideale e la rimanente quota calorica dai lipidi. Entrambi i periodi dietetici si svolgono in ipocalorica (25 kcal/kg di massa ideale). Vengono eseguiti nuovamente DEXA, BIA e prelievo ematico a T1, così come a T2, fase che dà inizio al periodo di dieta libera. Si ricorda che i soggetti presi in esame in questo studio sono tutti sedentari.

4.2 Disegno Sperimentale

Lo studio è un clinical trial randomizzato, in cui i soggetti vengono divisi in due gruppi intervento: dieta chetogenica (KD) o dieta di controllo (CD). Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico del Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università degli Studi di Padova e registrato su *clinicaltrial.gov* con ID: NCT05897567. Il protocollo prevede di regolarizzare l'alimentazione dei partecipanti tramite due settimane iniziali di run-in, in cui è previsto seguano una dieta standardizzata; successivamente li si assegna

casualmente ad uno dei due gruppi prima menzionati, affinché procedano con le quattro settimane di dieta ed allenamento (Fig.5). Durante tutto il periodo di intervento tutti i partecipanti, indipendentemente dal gruppo di appartenenza, seguono la medesima scheda di allenamento con volume ed intensità dei carichi prestabilita dal gruppo di ricerca.

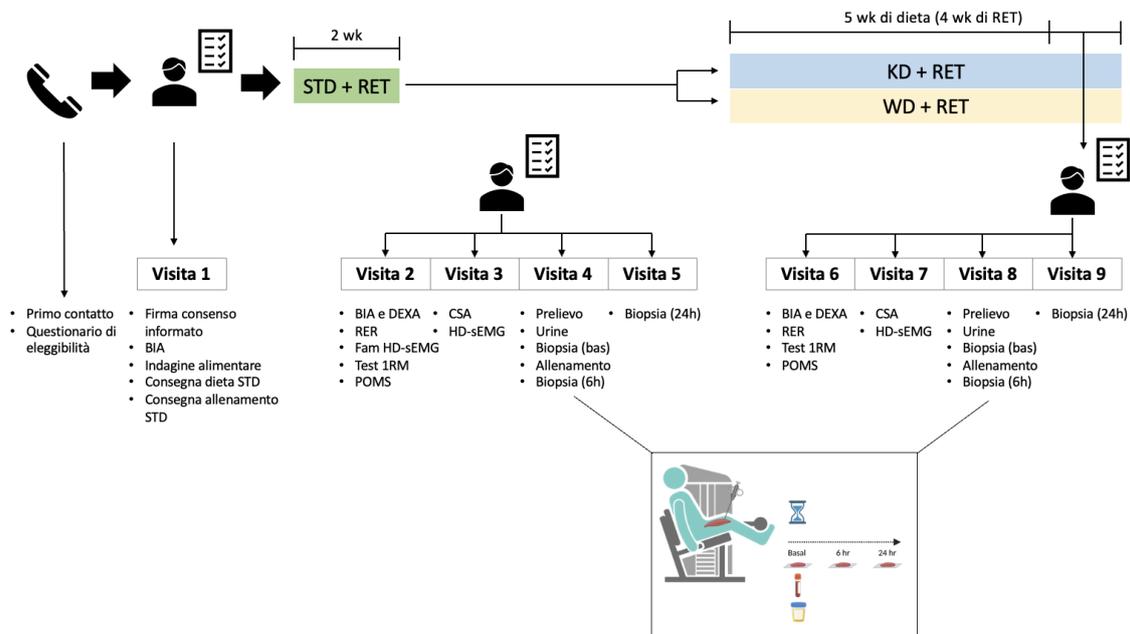


Figura 5 - Schematizzazione del disegno sperimentale

I partecipanti vengono reclutati mediante pubblicità sui social media e nelle principali palestre della città di Padova. Dopo un primo colloquio telefonico, per accertare l'eleggibilità allo studio, se il partecipante in questione dovesse risultare interessato ed idoneo, gli si richiederebbe di presentarsi presso il laboratorio di Nutrizione e Fisiologia dell'esercizio per la prima visita di screening.

I criteri di inclusione dello studio prevedono che i partecipanti siano rigorosamente di sesso maschile, d'età compresa tra i 18 e 35 anni, con indice di massa corporea (BMI) compreso tra i 18 e 30. È, inoltre, fondamentale che questi svolgano un allenamento con i sovraccarichi regolare da almeno due anni e che abbiano mantenuto il loro peso corporeo stabile negli ultimi sei mesi.

I criteri di esclusione prevedono, invece, la presenza di eventi cardiovascolari passati, malattie metaboliche come diabete e pre-diabete, patologie croniche (cardiovascolari, epatiche, respiratorie, cancro), stati acuti infiammatori o infezioni, malattie infiammatorie

intestinali o chirurgia gastrointestinale, malattie renali o epatiche, uso o trattamento con farmaci steroidei. Inoltre, i soggetti non devono aver adottato un regime chetogenico negli ultimi sei mesi. Questi criteri seguono quelli stabiliti da simili lavori sull'argomento, inoltre, sono stati stabiliti al fine di evitare elementi di interferenza con lo studio.

Il numero di partecipanti e la potenza del campione auspicabili, sono stati calcolati utilizzando il software G-Power. Sono stati considerati come outcomes primari: incremento di massa muscolare misurato mediante DEXA (kg) e variazioni della proteina S6K in risposta all'esercizio. Facendo riferimento agli studi presenti in letteratura (Fry et al., 2011) e avendo fissato un power di 80% e un alpha risk del 5%, sono necessari 12 soggetti per gruppo per testare l'ipotesi. Poiché è possibile aspettarsi un dropout da parte del 20% del campione, il goal di reclutamento sarà di almeno 30 partecipanti totali, che verranno allocati casualmente nei due gruppi intervento.

4.3 Timeline delle visite

Durante la prima visita viene spiegato il protocollo di studio e chiarite eventuali perplessità da parte del partecipante. Solo quando sicuro di voler partecipare allo studio gli viene fatto firmare il consenso informato ed attribuito un codice identificativo.

Solo successivamente si procede con i seguenti test (Fig.6):

- Questionario anamnestico
- Rilevamento peso ed altezza
- Analisi della composizione corporea mediante bio-impedenziometria (BIA)
- Colloquio nutrizionale

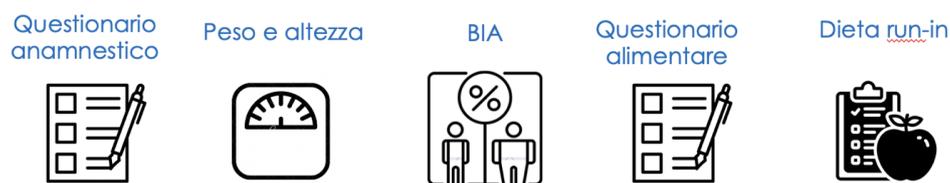


Figura 6 - Test della prima visita

Questa prima visita prevede una durata di circa 45 min ed al suo termine è previsto si consegnino al soggetto il protocollo alimentare di run-in personalizzato e di allenamento standardizzato.

Dopo le prime due settimane atte a stabilizzare tutti i partecipanti, creando un simile livello di partenza, si richiede loro di presentarsi a digiuno presso il laboratorio di Nutrizione e Fisiologia dell'esercizio per eseguire i test della seconda visita (Fig.7):

- Rilevamento peso ed altezza
- Analisi della composizione corporea tramite bioimpedenziometria (BIA)
- Analisi della composizione corporea mediante DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry)
- Analisi del metabolismo basale e del quoziente respiratorio a riposo (RER/RR)
- Test di forza 1 RM effettuato mediante leg-extension
- Familiarizzazione per test di massima forza volontaria isometrica (MVC) ed elettromiografia ad alta densità (HD-sEMG)
- Questionario POMS (Profile of Mood State)

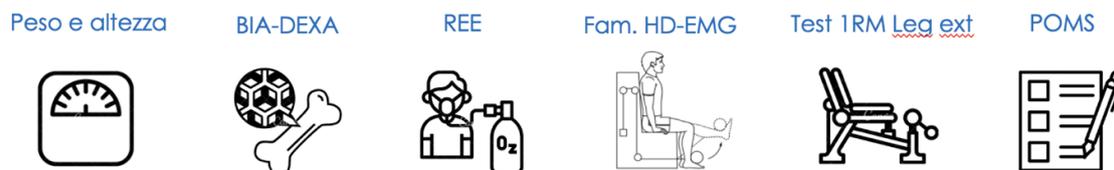


Figura 7 – Test della seconda visita

Il test per misurare il metabolismo a riposo (RER/RR) richiede che i soggetti si presentino a digiuno verso le prime ore del mattino. La durata del test prevede all'incirca 20 minuti in cui al soggetto viene richiesto di respirare all'interno di una maschera, rimanendo sdraiato su un lettino. L'analisi viene effettuata mediante il dispositivo COSMED Quark RMR, un carrello metabolico per l'analisi del consumo dei gas (VO_2 , VCO_2) sia a riposo che sotto sforzo e dei parametri ventilatori e metabolici correlati (metabolico, n.d.).

La DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) rappresenta il gold standard per la valutazione della composizione corporea e prevede che i soggetti assumano una posizione supina sul lettino, rimanendo immobili per tutta la durata della scansione. I risultati di ogni scansione vengono caricati su un computer collegato direttamente al dispositivo.

Il questionario POMS (Profile of Mood State) viene somministrato al fine di conoscere lo stato d'animo dei partecipanti, in quanto è stato dimostrato che la dieta chetogenica possa influire sull'umore (Brietzke et al., 2018).

I test di forza massimali effettuati alla leg-extension (1RM) servono a regolare i carichi della seduta di allenamento in acuto prevista per la quarta visita. Per quanto riguarda questa seconda visita, invece, la sua durata prevede un lasso di tempo all'incirca di 2 ore. Due giorni dopo si richiede ai partecipanti di ripresentarsi in laboratorio per sottoporsi ai test della terza visita. Tra questi ci sono la:

- Misurazione del volume muscolare della coscia (Cross-sectional area, CSA) e dell'architettura del muscolo vasto laterale mediante ecografia.
- Misurazione della massima forza volontaria isometrica (MVC) dei muscoli estensori del ginocchio ed esecuzione di contrazioni sub-massimali (15%, 30%, 50% e 70% MVC) rilevabili con elettromiografia ad alta densità (HD-EMG).

Con questo test vengono valutate le capacità di controllo e modulazione della forza prodotta dall'arto inferiore preso in esame. I partecipanti vengono fatti sedere su una sedia che simula una leg-extension isometrica, dotata di una cella di carico all'altezza del tendine d'Achille, atta a rilevare la forza espressa muscolarmente. Questa terza visita ha la durata di circa 90 minuti.

La quarta visita prevede, invece, di eseguire i prelievi del sangue e le biopsie muscolari presso l'ambulatorio del reparto di Chirurgia plastica dell'Azienda Ospedaliera di Padova. I rischi della biopsia sono dolore, sanguinamento, lividi ed infezioni, ma sono comunque bassi considerando le tecniche e gli strumenti adoperati. In caso di dolore che si perpetua nelle 48 ore successive è possibile assumere un leggero antidolorifico. Per evitare si formi una cicatrice si suggerisce ai partecipanti di mantenere il sito della biopsia coperto dall'esposizione ai raggi del sole e di evitare di fare bagni o saune nelle giornate immediatamente successive alla procedura. Dopo la parte medica condotta nelle prime ore del mattino, si riconducono i soggetti presso il laboratorio di Nutrizione e Fisiologia dell'esercizio per consentire loro di assumere una colazione standardizzata. Successivamente inizia la seduta di allenamento alla leg-extension di 50 minuti circa. Anche il pranzo risulta standardizzato e dopo 6 ore dall'allenamento i soggetti vengono riaccompagnati in ospedale per effettuare una seconda biopsia muscolare. La quinta ed ultima visita è prevista a 24 ore dalla seduta allenante e richiede un'ultima biopsia muscolare. Al termine di questa vengono consegnati e spiegati i protocolli alimentari e di allenamento per la parte dell'intervento sperimentale vero e proprio, che farà seguito alle quattro settimane successive.

Al termine della quattro settimane di allenamento e dieta, i partecipanti continueranno per un'ulteriore settimana l'intervento dietetico a cui sono stati assegnati e durante la quinta settimana si svolgeranno nello stesso ordine le quattro visite effettuate prima di iniziare l'intervento.

4.4 Protocolli di intervento dietetico

Le diete vengono calcolate mediante l'utilizzo del software Metadieta e la supervisione di un biologo nutrizionista.

Per quanto concerne la prima settimana di run-in, a tutti i soggetti viene somministrato un piano di 35 kcal/kg di peso corporeo con un apporto proteico di 2g/kg. Lo schema dei macronutrienti prevede una suddivisione in 60% carboidrati, 20% grassi e 20% proteine, da suddividere in colazione, pranzo, cena ed uno spuntino proteico da adattare in funzione dell'orario di allenamento del partecipante. La dieta presenta una struttura settimanale con la possibilità di effettuare delle sostituzioni, sia all'interno dei singoli pasti, che tra una giornata e l'altra.

La dieta si costruisce sulla base dei principi di quella mediterranea ed è caratterizzata da cereali integrali e raffinati, 5 porzioni di frutta e verdura, 2 porzioni di latte e derivati, proteine sia animali che vegetali ed olio extravergine di oliva come principale condimento (Fig.8).



Figura 8 - Piramide della dieta mediterranea (SmartFood IEO)

Inoltre, si pone particolare attenzione alla distribuzione dell'apporto energetico nel corso di tutta la giornata, al fine di agevolare la digestione e garantire un costante e adeguato apporto di energia e nutrienti. Le indicazioni fornite dalla valutazione antropometrica e dal colloquio nutrizionale permettono di costruire una dieta in linea con i target previsti e al tempo stesso una personalizzazione sul soggetto.

Per coloro che vengono assegnati al protocollo dietetico chetogenico, l'apporto calorico giornaliero è sempre di 35 kcal/kg di peso corporeo e 2 g/kg di proteine. Il calcolo viene perfezionato sulla base della misurazione del metabolismo basale (REE) alla seconda visita ed il quantitativo di carboidrati viene tenuto sotto il 5% (meno di 50 g/d). Il rimanente contributo deriva dai grassi (circa 65/70%). Anche in questo caso la dieta prevede i tre pasti principali ed uno spuntino proteico post allenamento. Nello sviluppo del piano viene posta particolare attenzione nel soddisfacimento del fabbisogno di micronutrienti e fibre necessari per mantenere il corpo in salute e permettere una performance ottimale, poiché le diete che prevedono l'esclusione di intere categorie di alimenti come cereali, frutta e legumi, rischiano spesso di provocare deficit nutrizionali. Per questo motivo sono stati selezionati alcuni prodotti Tisanoreica, azienda italiana che collabora con l'Università di Padova nello studio delle diete chetogeniche. I prodotti sono selezionati sulla base dei valori nutrizionali e degli ingredienti presenti, con il duplice scopo di raggiungere il target previsto di nutrienti ed aumentare la palatabilità e l'aderenza alla dieta.

Per quanto riguarda il gruppo di controllo, invece, la dieta prevede sempre un introito calorico di 35 kcal/kg di peso corporeo, perfezionato sulla base dei risultati del metabolismo basale (REE) della seconda visita, e 2 g/kg di proteine. I carboidrati rappresentano qui il 55% del contributo calorico totale, mentre il rimanente 20% circa è rappresentato dai grassi. La dieta viene sempre distribuita sui tre pasti principali e spuntino proteico post allenamento. La dieta del gruppo di controllo si costruisce sulla base di quella mediterranea e prevede il consumo di cereali integrali e raffinati, alternati durante la settimana, fonti proteiche animali e vegetali, cinque porzioni di frutta e verdura ed olio extravergine di oliva come principale condimento. Nonostante questa dieta permetta una maggiore elasticità nella scelta degli alimenti e sia più vicina alla dieta abituale delle persone, è opportuno che i soggetti rispettino in maniera precisa le frequenze e le quantità degli alimenti al fine di raggiungere i target previsti.

Nelle giornate di test risulta però importante controllare gli effetti dell'alimentazione sulla risposta muscolare: per questo motivo si decide di impostare pasti uguali pre- e post-intervento (Fig.9).

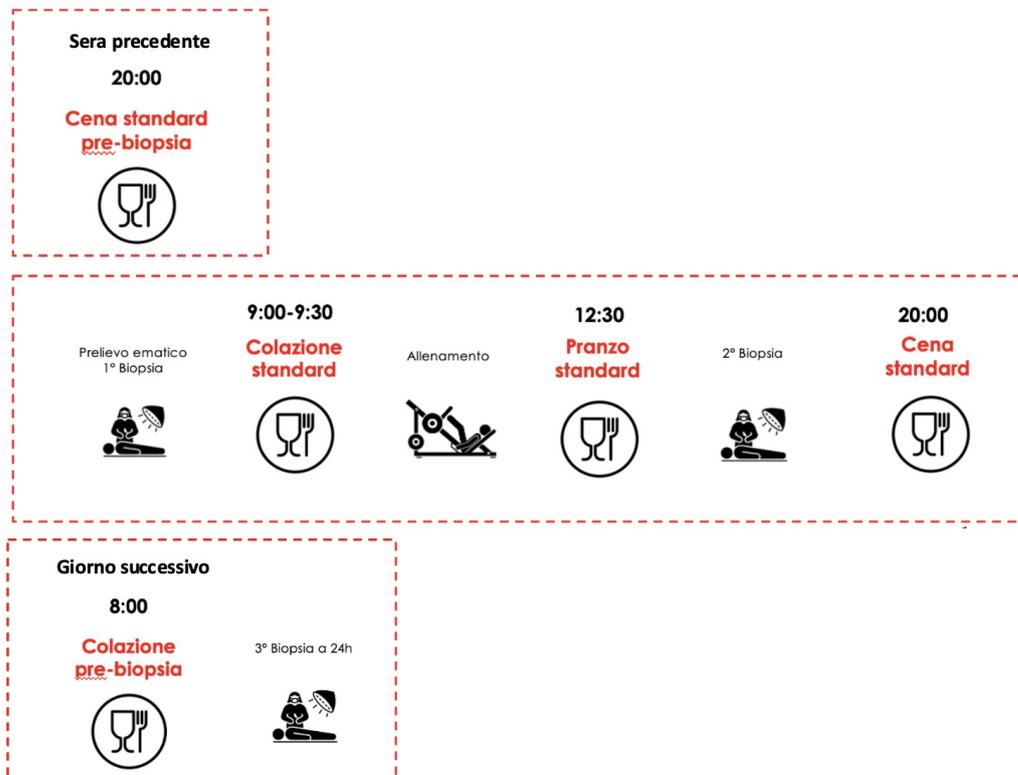


Figura 9 – Timeline dei pasti standardizzati

Si tenga presente che in fase di run-in, la sera precedente alla prima biopsia in acuto prevede per tutti i soggetti un introito calorico di circa 12 kcal/kg di peso corporeo, di cui il 60% è costituito da carboidrati, 20% da grassi e 20% da proteine.

La sera prima della giornata di biopsie post-intervento, ovvero alla quinta settimana di studio sperimentale, i soggetti appartenenti al gruppo di controllo assumono una cena analoga a quella proposta all'inizio dell'intervento, con un introito calorico di 12 kcal/kg di peso corporeo, di cui 60% carboidrati, 20% grassi e 20% proteine. I soggetti sottoposti a regime chetogenico, invece, seguono la cena proposta nella dieta chetogenica, caratterizzata sempre da un introito di 12 kcal/kg di peso corporeo, di cui 5% carboidrati, 70% grassi e 25% proteine. Gli alimenti proposti, in questo caso, sono rappresentati da pasta chetogenica, grissini chetogenici, olio extravergine di oliva, verdure a foglia verde, carni/pesce grasso e frutta secca.

Per entrambi i gruppi di intervento viene somministrata una colazione standard post biopsia basale, che prevede l'assunzione di yogurt greco intero, abbinato a biscotti chetogenici a bassissimo contenuto di carboidrati, forniti da Tisanoreica. La virtuale assenza di carboidrati prevista anche per il gruppo di controllo serve ad escludere picchi insulinici post-prandiali e determinare se, a parità di condizioni, il regime chetogenico determini una risposta post-esercizio diversa.

Anche il pranzo post-allenamento, per le medesime motivazioni della colazione, seguirà lo stesso principio: si prevedono, dunque, un introito calorico di 12 kcal/kg di peso corporeo ed una suddivisione dei macros in 5% carboidrati, 70% grassi e 25% proteine per entrambi i gruppi. Gli alimenti scelti sono, conseguentemente, carne magra, parmigiano, olio extravergine di oliva, verdure e grissini chetogenici Tisanoreica.

Dopo 6 ore dalla biopsia la cena sarà analoga alle cene proposte nelle diete settimanali di entrambi i gruppi, prevedendo 12 kcal/kg di peso corporeo distribuite con:

- 60% carboidrati, 20% grassi e 20% proteine per il gruppo di controllo
- 5% carboidrati, 70% grassi e 25% proteine per il gruppo sottoposto a dieta chetogenica

La struttura delle due cene è analoga ma prevede fonti alimentari differenti: nel caso del gruppo di controllo la cena comprende pasta al sugo, pane, carne bianca, verdure, olio extra vergine e frutta, mentre i soggetti sottoposti a regime chetogenico assumono pasta e grissini chetogenici con un condimento ricco di grassi, pesce grasso, olio extravergine d'oliva, semi e verdura.

Come si evince dalla descrizione dei piani dietetici, sia il gruppo di controllo che quello a regime chetogenico devono introdurre lo stesso quantitativo di calorie e proteine. Al fine di monitorare l'aderenza alla dieta, il software Metadieta fornisce un'applicazione per dispositivi mobili attraverso cui il soggetto può visualizzare la dieta prescritta e selezionare l'alimento scelto e la quantità consumata. In tempo reale il gruppo di ricerca può quindi visionare ed eventualmente invitare a correggere l'assunzione degli alimenti. Inoltre, i soggetti sono contattati telefonicamente ogni settimana da parte di uno dei membri del gruppo di ricerca per controllare l'adesione ai protocolli.

È fondamentale che il gruppo sottoposto a regime chetogenico si mantenga in chetosi per tutta la durata dell'intervento. Come enunciato precedentemente, l'effettiva entrata in chetosi può variare da individuo ad individuo e, per questo motivo, è fondamentale misurare giornalmente i livelli di glucosio e corpi chetonici nel sangue dei soggetti. Per

verificare tale aderenza allo studio viene dunque consegnato un glucometro ad ogni partecipante, così da poter monitorare a distanza la sua compliance al progetto sperimentale.

4.5 Protocolli di allenamento

- Run-in

Nella prima settimana di run-in tutti i soggetti devono seguire un allenamento standard che prevede 4 sedute settimanali (A-B-A-B) così strutturate:

- Scheda A: pettorali – deltoidi – bicipiti – quadricipiti – addominali
- Scheda B: dorsali – deltoidi posteriori – tricipiti – femorali – polpacci – addominali

L'intensità dell'allenamento viene impostata del 70% 1RM, con esercizi base che prevedono un volume 3x10, mentre quelli complementari 3x12.

- Intervento

Il periodo di allenamento durante l'intervento sperimentale dura 4 settimane ed è finalizzato all'ipertrofia. Anche in questa fase si lavora in split routine con 4 sedute settimanali. Lo schema della suddivisione è:

- Scheda A: cosce – femorali – spalle – addominali
- Scheda B: pettorali – deltoidi – bicipiti – polpacci – addominali
- Scheda C: dorsali – deltoidi posteriori – tricipiti – polpacci – addominali

L'intensità dell'allenamento aumenta al 75% 1RM. Gli esercizi base hanno un volume 4x8, mentre quelli complementari 3x10.

- Allenamento durante le giornate di test (visita 4 e visita 8)

La seduta di allenamento segue il seguente protocollo:

- 5 min di riscaldamento su bike a 50W
- 10+10 reps al 45% 1RM su leg extension
- 8 serie da 10+10 reps al 70% 1RM su leg extension con 3 min di riposo tra le serie

La durata del protocollo di allenamento è di circa 50 minuti.

5.0 RISULTATI

5.1 Test One-Way ANOVA: variabili dipendenti dal tempo

Alla luce delle analisi svolte utilizzando il programma GraphPad sugli esiti di DEXA, BIA e prelievi del sangue dei soggetti sottoposti al disegno sperimentale preliminare, si evincono alcune differenze registrate dai medesimi individui in tempi diversi.

In particolare, il test One-way ANOVA ha mostrato un effetto statisticamente significativo della dieta chetogenica sulla diminuzione della massa corporea in kg ($p < 0.0001$). Il test post hoc di Tukey ha rivelato che la perdita di massa corporea è stata significativa già nei primi 15 giorni ($p < 0.0001$), così come nei complessivi 30 giorni di intervento ($p < 0.0001$), garantendo una sua progressiva diminuzione anche con il reinserimento graduale dei carboidrati con la dieta low carb, sostenuta dai soggetti tra t1 e t2 ($p = 0.0021$) (Fig.10).

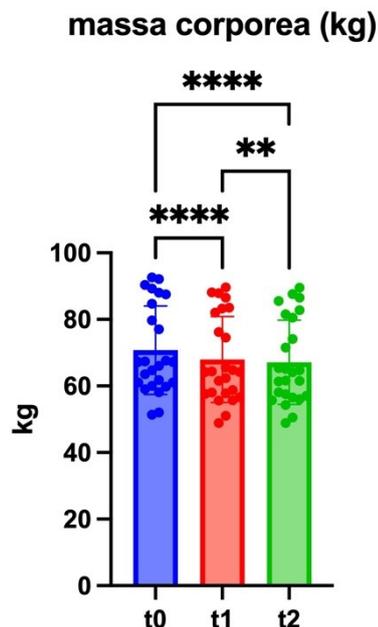
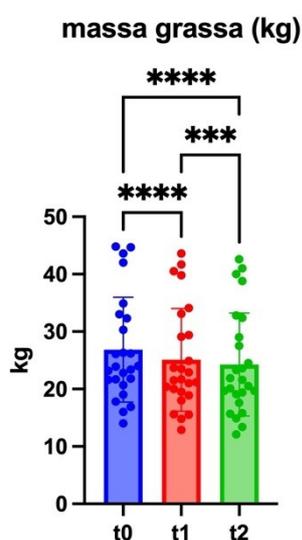


Figura 10 – Test poc hoc di Tukey sulla massa corporea



Di questa massa corporea, la massa grassa è stata la principale componente a godere dei benefici dei piani alimentari, registrando una diminuzione statisticamente significativa ($p < 0.0001$). Il test post hoc di Tukey ha rivelato che la riduzione di tale valore si è verificata tanto nei primi 15 giorni, quanto nei 30 giorni totali di intervento ($p < 0.0001$); allo stesso tempo, i soggetti hanno potuto registrare ulteriori miglioramenti tra t1 e t2 ($p = 0.0003$) (Fig.11).

Figura 11 – Test poc hoc di Tukey sulla massa grassa

Il colesterolo totale e HDL si riducono significativamente con l'intervento ($p < 0.0001$). In entrambi i casi, si evincono riduzioni statisticamente significative già a 15 ($p = 0.0298$ e $p = 0.0005$) e a 30 giorni ($p = 0.0004$ e $p < 0.0001$) di intervento dietetico (Fig.12).

Il colesterolo LDL si riduce significativamente ($p = 0.0107$), ma la sua riduzione si apprezza solo dopo 30 giorni ($p = 0.0042$) (Fig.13 e Fig.14).

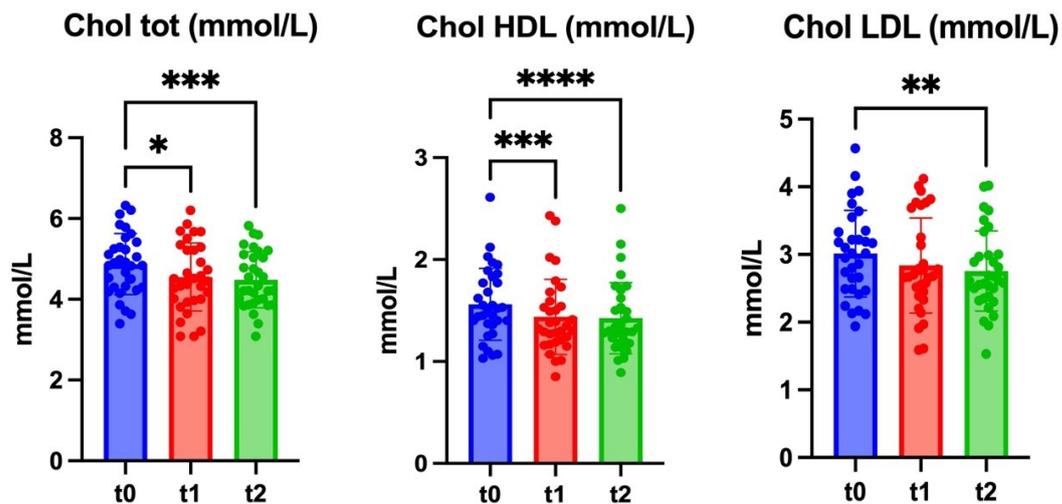


Figure 12, 13 e 14 - Test poc hoc di Tukey sul colesterolo totale, HDL e LDL

Anche il glucosio si riduce ($p=0.0025$) in maniera statisticamente significativa a 15 giorni di intervento ($p=0.0065$) (Fig.15).

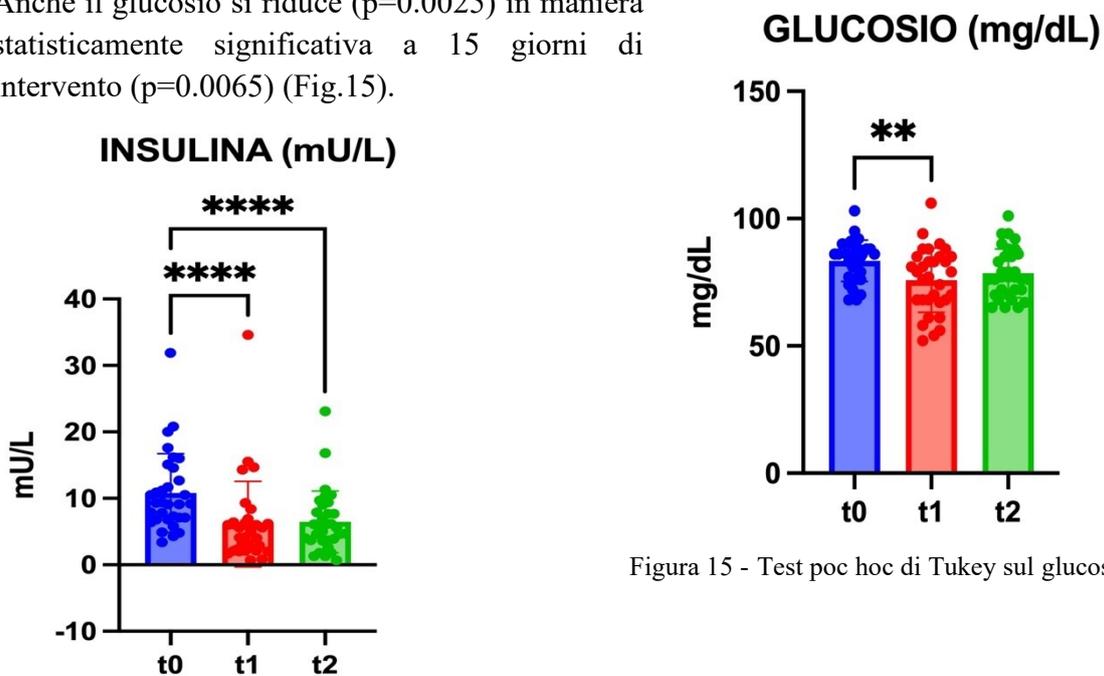


Figure 15 - Test poc hoc di Tukey sul glucosio

Figure 16 - Test poc hoc di Tukey sull'insulina

L'insulina decreta a sua volta significativamente ($p<0.0001$) sia a 15 che a 30 giorni di intervento dietetico ($p<0.0001$) (Fig.16).

I marker epatici (gGT) mostrano riduzioni significative ($p=0.0011$) molto marcate a 15 giorni di intervento ($p=0.0001$) e più lievi a 30 giorni di protocollo dietetico ($p=0.0050$). Non si evince alcun dato significativo tra t1 e t2 (Fig. 17).

I marker tiroidei come TSH e FT3 risultano diminuiti in maniera statisticamente significativa ($p<0.0001$ per TSH e $p=0.0002$ per FT3). Il TSH si riduce in maniera statisticamente significativa solamente nei complessivi 30 giorni di intervento

($p=0.0256$), mentre FT3 nei primi 15 giorni di dieta chetogenica ($p<0.0001$) (Fig.18 e Fig.19).

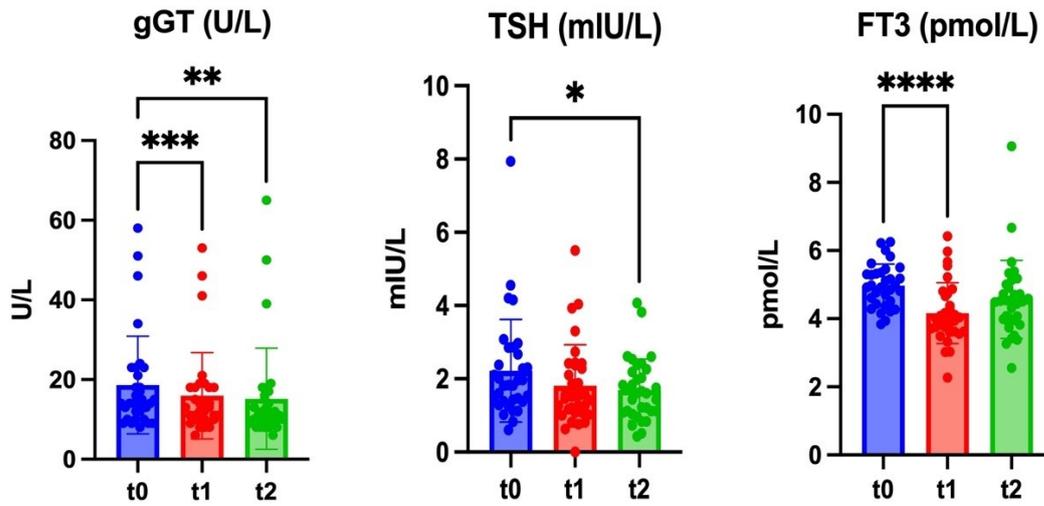


Figure 17, 18 e 19 - Test poc hoc di Tukey sul gGT, FT3 e TSH

Infine, il marker infiammatorio VES risulta a sua volta statisticamente significativo ($p<0.0001$), riducendosi durante i 30 giorni complessivi di intervento ($p=0.0237$) (Fig.20).

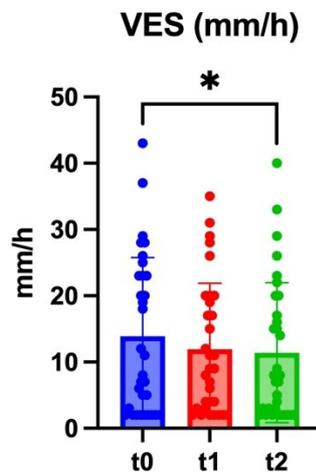
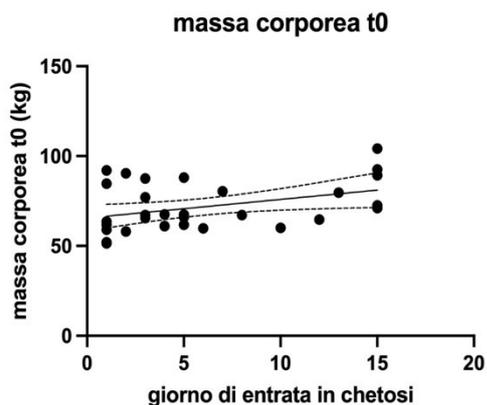


Figura 20 - Test poc hoc di Tukey su VES

Per tutte le altre variabili prese in considerazione non sono emerse differenze statisticamente significative.

5.2 Correlazioni e fattori predittivi per l'entrata in chetosi



La correlazione di Pearson ha mostrato, invece, che la massa corporea di un soggetto a t0 è legata in maniera statisticamente significativa al giorno di entrata in chetosi della persona stessa ($r=0.3863$ e $p=0.0318$) (Fig.21). Di questa massa corporea, è la componente di massa grassa a guidare la correlazione ($r=0.4430$ e $p=0.0126$ a t0) (Fig.22).

Figura 21 – Correlazione di Pearson tra la massa corporea a t0 ed il giorno di entrata in chetosi

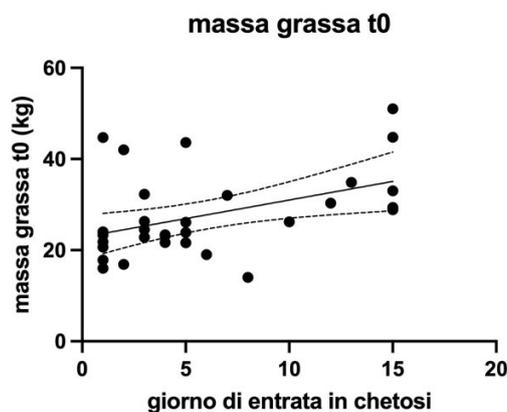


Figura 22 – Correlazione di Pearson tra la massa grassa a t0 ed il giorno di entrata in chetosi

Altri marker che correlano significativamente con il tempo impiegato dai soggetti per entrare in chetosi sono il colesterolo LDL ($r=0.3618$ e $p=0.0385$) (Fig.23), la bilirubina totale ($r=-0.4844$ e $p=0.0043$) e frazionata ($r=-0.4762$ e $p=0.0051$) (Fig.24), oltre che agli indici di infiammazione sistemica PCR ($r=0.4955$ e $p=0.0034$) e VES ($r=0.4567$ e $p=0.0075$) (Fig.25).

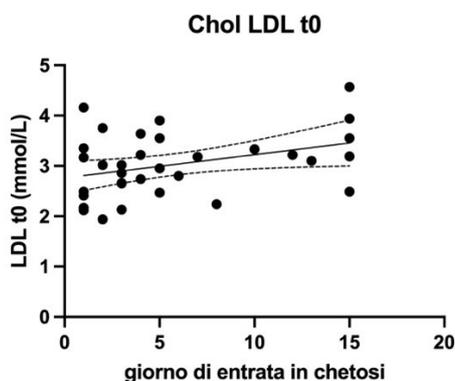


Figura 23 – Correlazione di Pearson tra il colesterolo LDL a t0 ed il giorno di entrata in chetosi

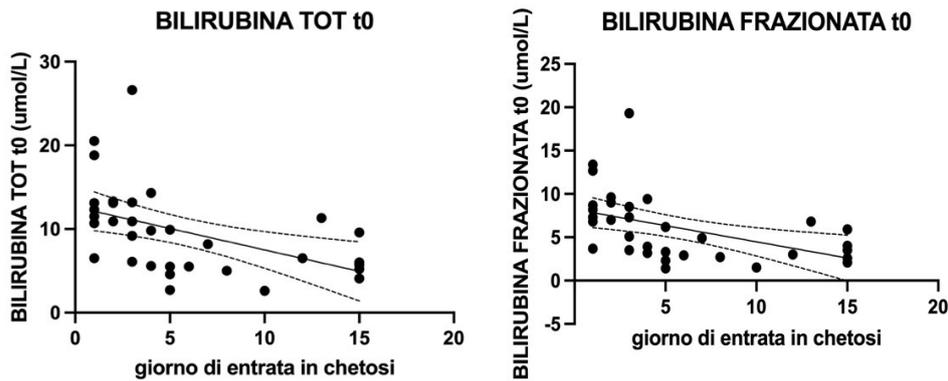


Figura 24 – Correlazione di Pearson tra la bilirubina totale e frazionata a t0 ed il giorno di entrata in chetosi

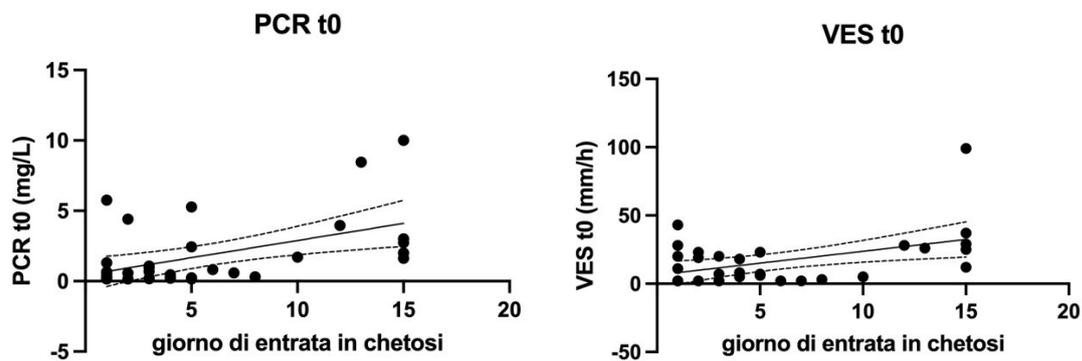


Figura 25 – Correlazione di Pearson tra la PCR e VES a t0 ed il giorno di entrata in chetosi

5.3 Correlazioni tra durata della chetosi, marker epatici ed infiammatori

La diminuzione del marker epatico aspartato-transferasi (AST) ($r=-0.3812$ e $p=0.0454$), correla negativamente con il tempo di permanenza sotto regime dietetico chetogenico (Fig.26).

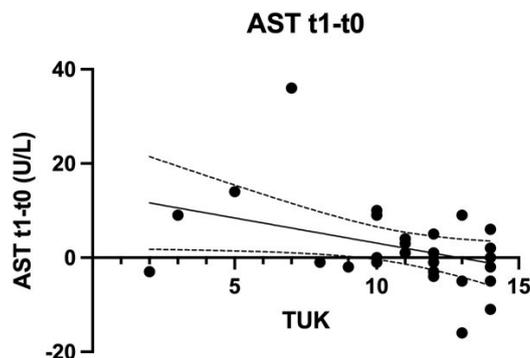


Figure 26 – Correlazione di Pearson tra il tempo sotto chetosi ed il comportamento di AST

I marker infiammatori IL-6 ($r=-0.4655$ e $p=0.0126$) (Fig.27), e l'ormone dello stress cortisolo (-0.4134 e $p=0.0288$) (Fig.28), a loro volta, hanno rivelato una correlazione

negativa con il tempo trascorso in chetosi durante i primi 15 giorni di studio.

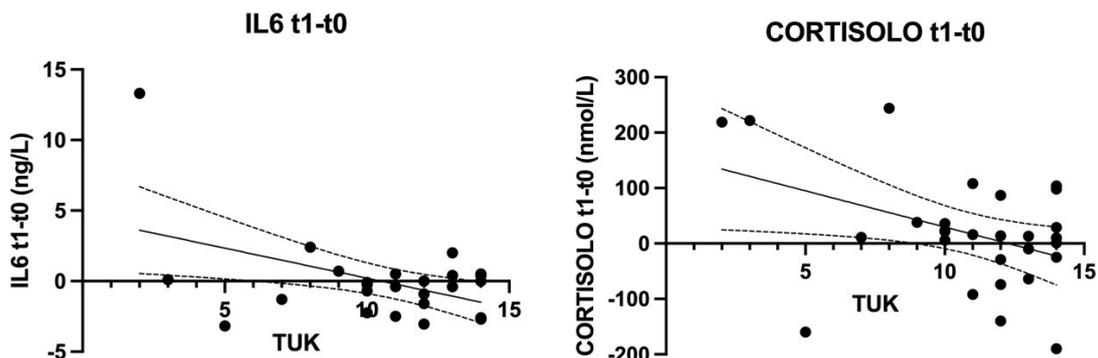


Figure 27 e 28 – Correlazione di Pearson tra il tempo sotto chetosi ed il comportamento di IL-6 e cortisolo

Non sono emerse correlazioni statisticamente significative per le altre variabili analizzate.

5.4 Caso di studio: dieta chetogenica ed ipertrofia

Per quanto riguarda, invece, il progetto sperimentale sugli effetti della dieta chetogenica ed ipertrofia, sono stati ad oggi reclutati quattro soggetti ($32,25 \pm 9,78$ anni; $75,70 \pm 4,67$ kg; $176,30 \pm 3,30$ cm), di cui uno solo ha portato a termine lo studio. Di seguito vengono riportati i dati anamnestici di KETOEX01 al tempo t0 (Fig.29).

ID	KETOEX01
SESSO	MASCHIO
ANNI	19
ALTEZZA	177,0 cm
PESO	81,0 kg

Figura 29 – Tabella contenente i dati anamnestici di KETOEX01 a t0

Anche nel caso di questo progetto sperimentale, la chetosi è stata raggiunta entro 5 giorni, con un valore medio di chetonemia di circa 0.5 mmol/L. La glicemia è rimasta stabile a circa 90 mg/dl per tutta la prima settimana e successivamente si è ridotta stabilizzandosi su 75-80 mg/dl (Fig.30).

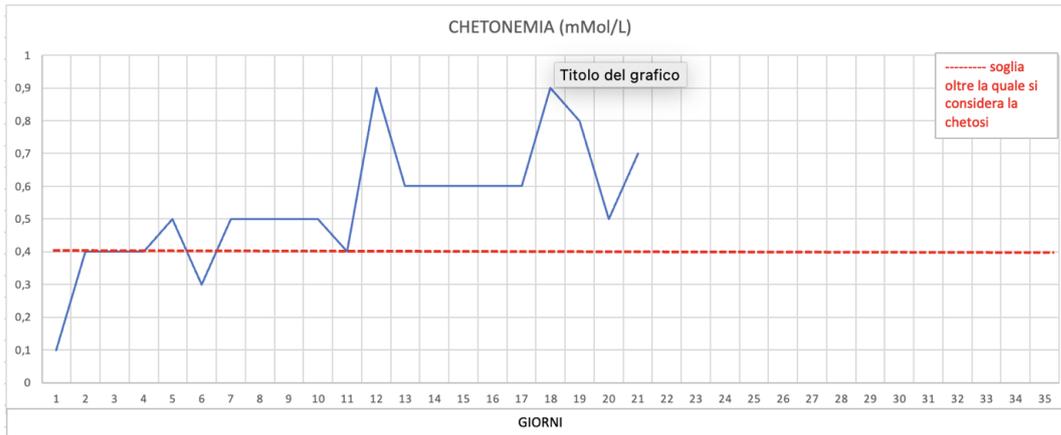


Figura 30 - Livelli di corpi chetonici misurati durante l'intervento

Dall'analisi della composizione corporea eseguita tramite DEXA, si è potuto registrare un decremento sostanziale della massa grassa al termine delle quattro settimane di dieta chetogenica (Fig.31).

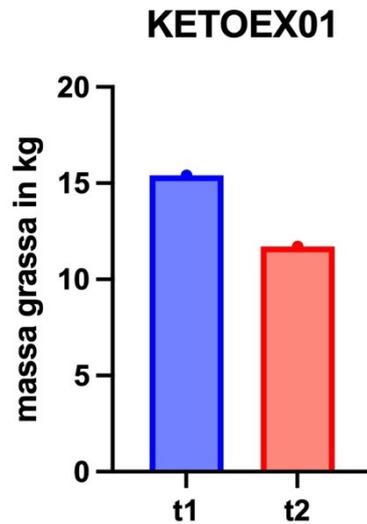


Figura 31 – Variazione della massa grassa di Ketoex01 al termine delle quattro settimane di dieta chetogenica

Allo stesso tempo, la massa magra è passata da essere pari a 61,5 kg iniziali, ad equivalere a 60,7 kg finali.

Dal punto di vista del dispendio energetico a riposo (REE), le analisi pre/post riscontrano le seguenti differenze:

- un metabolismo basale di 2367 kcal/d successivamente alla settimana di run-in
- un metabolismo basale di 1927 kcal/d successivamente alle quattro settimane di dieta chetogenica ed allenamento

Allo stesso tempo, il QR (quoziente respiratorio) è variato da 0,78 a 0,74.

Il primo test massimale alla leg-extension ha visto il soggetto registrare un massimale di 92kg. Al termine del protocollo, il soggetto si è sottoposto al medesimo test, riscontrando un massimale di 95kg.

6.0 DISCUSSIONE

Alla luce dei risultati riportati nel capitolo precedente, si evince come la dieta chetogenica sia in grado di provocare una netta diminuzione della massa grassa nell'arco di due sole settimane di intervento. Inoltre, vengono confermati gli effetti positivi di questo regime dietetico sulla riduzione delle lipoproteine e fattori infiammatori (Forsythe et al., 2008; Westman E. et al., 2007; Bruci et al., 2020). Per quanto riguarda i marker epatici gGT e quelli tiroidei di FT3 e TSH, questi si vedono a loro volta diminuire nell'arco delle settimane di intervento dietetico. Questi risultati potrebbero essere semplicemente legati alla risposta individuale alla dieta dei soggetti presi in esame. Sono comunque presenti alcuni studi in letteratura che riscontrano lievi decrementi di questi stessi parametri in soggetti affetti da cancro, piuttosto che epilessia intrattabile attraverso i farmaci. Nel caso della gamma glutamil transferasi, un decremento di questo valore può essere indice di buona funzionalità delle vie biliari; mentre per quanto riguarda il decremento nella produzione di ormoni tiroidei, questo dato potrebbe essere indicativo di una maggior efficienza da parte di quelli che vengono prodotti e rilasciati in circolo ad adempiere alle loro funzioni, piuttosto che sintomo di ipotiroidismo (Zhao et al., 2022; Kose et al., 2017).

Come previsto, la maggior durata dello stato di chetosi (TUK) può influenzare le variazioni di parametri infiammatori come IL-6 e cortisolo, così come quelle di marker epatici quali AST. (Paoli et al., 2021; Pirimoğlu et al., 2020) Maggiore è il tempo che una persona trascorre sotto chetosi, maggiore sembra essere il beneficio in termini di riduzione dello stato infiammatorio e migliorata funzionalità epatica.

Proprio per questo motivo, la prima parte sperimentale di questo elaborato ha avuto lo scopo di individuare potenziali fattori influenzanti l'entrata in chetosi di una persona. Da queste analisi è emerso che i principali fattori che correlano con il tempo di entrata in chetosi sono le concentrazioni ematiche di LDL, bilirubina, PCR e VES.

Da un lato, non sorprende che soggetti con livelli infiammatori (PCR e VES) più elevati impieghino più tempo per entrare in chetosi: la chetosi, infatti, è uno stato metabolico in cui il corpo inizia ad utilizzare i grassi come fonte primaria di energia, producendo chetoni come sottoprodotto. Per fare ciò, l'organismo deve prima ridurre le scorte di glicogeno disponibili. L'infiammazione può essere associata all'iperproduzione di glucosio da parte del fegato e alla ridotta sensibilità all'insulina delle cellule. Questo può portare a livelli elevati di zucchero nel sangue, noti come iperglicemia. L'infiammazione cronica, spesso osservata in condizioni come l'obesità, il diabete di tipo 2 e l'aterosclerosi, può contribuire all'insorgenza dell'iperinsulinemia e alla resistenza insulinica, aumentando così il rischio di iperglicemia; quindi, richiedendo più tempo all'organismo per produrre corpi chetonici (Gershuni et al., 2018).

Meno chiara è la correlazione tra bilirubina e corpi chetonici. I corpi chetonici vengono prodotti principalmente nel fegato a partire dagli acidi grassi. Questa produzione è una risposta fisiologica del corpo quando l'apporto di carboidrati è limitato ed il corpo necessita di una fonte alternativa di energia (Masood et al., 2020). D'altro canto, la bilirubina è prodotta dal fegato come parte del processo di eliminazione dei prodotti di degradazione dell'emoglobina e può essere utilizzata come indicatore della funzione epatica (Fevery J., 2008). Recenti studi stanno tentando di capire il meccanismo alla base del ciclo redox della biliverdina-bilirubina nel reticolo endoplasmatico cellulare e della via del citocromo P450 nel mitocondrio, capaci di catturare i radicali liberi e proteggere le membrane cellulari dalla perossidazione lipidica. Esistono, infatti, diverse pubblicazioni riguardanti la relazione tra le proprietà antiossidanti della bilirubina e la

migliorata prognosi in patologie che causano lo stress ossidativo dell'organismo, come Alzheimer, CVD, diabete, infiammazione e cancro (Soto Conti CP., 2021). Questo potrebbe spiegare il fatto che lo stato di obesità ed infiammazione inizialmente elevato dei soggetti del disegno preliminare, sia la causa dei bassi valori ematici di bilirubina totale e frazionata (coniugata e non coniugata) riscontrati nei soggetti (El-Eshmawy et al., 2022). Sembrerebbe che, più tali valori sono ridotti, più sia il tempo che occorre ad una persona per entrare in chetosi.

Sulla base di queste premesse, il soggetto reclutato per studiare gli effetti della dieta chetogenica sull'ipertrofia muscolare si presentava entro valori normali. Di fatto è entrato in chetosi entro i primi 5 giorni.

La massa muscolare non si è modificata in modo rilevante durante le quattro settimane di intervento, mentre la forza è aumentata. Questo conferma come un regime chetogenico inibisca l'ipertrofia, ma mantenga le proprietà neuro-adattative del muscolo (Paoli et al., 2021; Paoli et al., 2019; Jabekk et al., 2010; Kephart et al., 2018; Vargas et al., 2018; Kephart et al., 2018; Brinkworth et al., 2009; Johnstone et al., 2008; Ruth et al., 2013).

Al completamento dello studio si auspica di ottenere delle indicazioni più precise sui meccanismi capaci di spiegare questo fenomeno. L'ipotesi è che le vie di segnale dell'ipertrofia, legate all'asse Akt/mTOR, vengano inibite dall'attivazione di AMPK in risposta alla riduzione dello stato energetico della cellula. Tuttavia, è possibile che i corpi chetonici possano stimolare la componente neuronale del sistema muscolo scheletrico. Alcuni studi suggeriscono, infatti, che la chetosi può influenzare positivamente i fattori neurotrofici, come il fattore di crescita dei neuroni (NGF) ed il fattore di crescita derivato dalle cellule gliali (GDNF). Questi fattori neurotrofici sono importanti per la crescita, la sopravvivenza ed il mantenimento delle cellule nervose, quindi, a stimolare positivamente l'espressione di forza muscolare (Mayor E. 2023). Concludendo, è possibile decretare il fatto che una condizione iniziale di diminuita bilirubina totale, maggiore massa grassa, livelli di colesterolo elevati, insulina elevata, PCR e VES elevati, determinino una più difficoltosa entrata in chetosi da parte della persona. Questo si spiega con una condizione di infiammazione all'interno dell'organismo, che non agevola lo switch dal metabolismo prevalentemente glucidico a quello basato sostanzialmente sui grassi.

7.0 CONCLUSIONE

La dieta chetogenica si dimostra spesso volte efficace in ambito clinico e patologico, con soggetti affetti da epilessia intrattabile con i farmaci, soggetti con deficit di GLUT-1, deficit di piruvato deidrogenasi, persone che soffrono di emicrania, autismo, depressione, diabete mellito di tipo II, sclerosi laterale amiotrofica, Alzheimer, Parkinson, sindrome dell'ovaio policistico ed obesità (Kose et al., 2017). Anche in questi casi viene richiesta una supervisione medica costante, al fine di assicurarsi che i pazienti seguano il protocollo dietetico meticolosamente, sottoponendosi a controlli periodici per quanto riguarda la buona funzionalità dell'organismo. Tra gli effetti collaterali di questa dieta, infatti, si riscontrano costipazione, molto spesso associata ad un basso apporto di fibre, stanchezza, ipotensione ortostatica, ipoproteinemia (per via della gluconeogenesi a partire da substrati proteici), ipocalcemia, dislipidemia e calcolosi urinaria (legata alla disidratazione ed acidosi cronica). Per questi motivi, così come per il fatto che limita di molto la gamma di cibi a disposizione, questo tipo di protocollo dietetico risulta poco sostenibile sul lungo periodo (Ashtary-Larky et al., 2022; Kossoff et al., 2013). Estendendo il suo utilizzo alla popolazione generale, con obiettivi di perdita di peso e mantenimento dello stato di buona salute e forma fisica, un tale piano alimentare non risulta adatto a favorire un'abitudine ad una alimentazione sana e variegata. Molto spesso viene utilizzata per un raggiungimento rapido dell'obiettivo, in soggetti spesso sedentari e privi delle nozioni basilari riguardanti i meccanismi fisiologici del dimagrimento. Questo determina varie volte il recupero dei chilogrammi persi durante la dieta, se non addirittura un peggioramento della forma fisica rispetto alla condizione di partenza.

Oltre a questo, bisogna tenere conto del fatto che ad oggi viviamo in una società in cui siamo fortemente sottoposti a stimoli riguardanti cibi iperpalatabili, tanto sui social network, quanto sulle pubblicità in radio o tv, sia in termini di offerta di luoghi di ritrovo e ristoro all'interno delle città. Una tale dieta diventa dunque molto difficile da gestire a livello psicologico e sociale.

Per quella fetta di popolazione costituita dagli sportivi, invece, tale strategia andrebbe comunque calibrata in funzione della tipologia di attività svolta e dell'obiettivo da raggiungere. Negli sport in cui le competizioni prevedono di rientrare velocemente in una certa categoria di peso o che mirano alla definizione delle masse muscolari in un certo periodo della programmazione, questa strategia potrebbe essere una buona soluzione, poiché somministrata a soggetti dotati di una mentalità atta a fronteggiare periodi di restrizione e/o richiesta di un maggiore impegno e sforzo dal punto di vista fisico, volitivo e psicologico (Paoli et al., 2021).

Lo stesso discorso non potrebbe essere fatto con quegli atleti interessati ad incrementare la massa muscolare: oltre all'inibizione delle vie anaboliche, questo piano alimentare limita di tanto la gamma di alimenti a disposizione, rendendo difficoltoso il raggiungimento del fabbisogno energetico necessario, con tutte le adeguate componenti nutrizionali. Si tenga presente poi, che molto spesso l'aderenza a tali regimi dietetici è sfavorita dal grande senso di sazietà che provocano (Paoli et al., 2019; Jabekk et al., 2010; Kephart et al., 2018; Vargaset al., 2018).

8.0 BIBLIOGRAFIA

- Altar C. A. (1999). Neurotrophins and depression. *Trends in pharmacological sciences*, 20(2), 59–61. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(99\)01309-7](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(99)01309-7)
- Antonio Paoli, Marco Neri, Antonino Bianco, *Principi di metodologia del fitness*. Cesena, Erika Srl Editrice, 2013
- Ashtary-Larky, D., Bagheri, R., Bavi, H., Baker, J. S., Moro, T., Mancin, L., & Paoli, A. (2022). Ketogenic diets, physical activity and body composition: a review. *The British journal of nutrition*, 127(12), 1898–1920. <https://doi.org/10.1017/S0007114521002609>
- Bergqvist, A. G., Schall, J. I., Gallagher, P. R., Cnaan, A., & Stallings, V. A. (2005). Fasting versus gradual initiation of the ketogenic diet: a prospective, randomized clinical trial of efficacy. *Epilepsia*, 46(11), 1810–1819. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00282.x>
- Bergström, J., & Hultman, E. (1967). A study of the glycogen metabolism during exercise in man. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 19(3), 218–228. <https://doi.org/10.3109/00365516709090629>
- Biolo, G., Declan Fleming, R. Y., & Wolfe, R. R. (1995). Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *The Journal of clinical investigation*, 95(2), 811–819. <https://doi.org/10.1172/JCI117731>
- Boden, G., Sargrad, K., Homko, C., Mozzoli, M., & Stein, T. P. (2005). Effect of a low-carbohydrate diet on appetite, blood glucose levels, and insulin resistance in obese patients with type 2 diabetes. *Annals of internal medicine*, 142(6), 403–411. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-142-6-200503150-00006>
- Bortz, W. M., Paul, P., Haff, A. C., & Holmes, W. L. (1972). Glycerol turnover and oxidation in man. *The Journal of clinical investigation*, 51(6), 1537–1546. <https://doi.org/10.1172/JCI106950>
- Bostock, E. C., Kirkby, K. C., & Taylor, B. V. (2017). The Current Status of the Ketogenic Diet in Psychiatry. *Frontiers in psychiatry*, 8, 43. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00043>
- Bowler, A. L., & Polman, R. (2020). Role of a Ketogenic Diet on Body Composition, Physical Health, Psychosocial Well-Being and Sports Performance in Athletes: A Scoping Review. *Sports (Basel, Switzerland)*, 8(10), 131. <https://doi.org/10.3390/sports8100131>
- Brietzke, E., Mansur, R. B., Subramaniapillai, M., Balanza-Martínez, V., Vinberg, M., González-Pinto, A., Rosenblat, J. D., Ho, R., & McIntyre, R. S. (2018). Ketogenic diet as a metabolic therapy for mood disorders: Evidence and developments. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 94, pp. 11–16). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.07.020>
- Brinkworth, G. D., Noakes, M., Buckley, J. D., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. (2009). Long-term effects of a very-low-carbohydrate weight loss diet compared with an isocaloric low-fat diet after 12 mo. *The American journal of clinical nutrition*, 90(1), 23–32. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27326>
- Brucci, A., Tuccinardi, D., Tozzi, R., Balena, A., Santucci, S., Frontani, R., Mariani, S., Basciani, S., Spera, G., Gnessi, L., Lubrano, C., & Watanabe, M. (2020). Very Low-Calorie Ketogenic Diet: A Safe and Effective Tool for Weight Loss in Patients With Obesity and Mild Kidney Failure. *Nutrients*, 12(2), 333. <https://doi.org/10.3390/nu12020333>
- Burke, L. M., Whitfield, J., Heikura, I. A., Ross, M. L. R., Tee, N., Forbes, S. F., Hall, R., McKay, A. K. A., Walleit, A. M., & Sharma, A. P. (2021). Adaptation to a low carbohydrate high fat diet is rapid but impairs endurance exercise metabolism and performance despite enhanced glycogen availability. *The Journal of physiology*, 599(3), 771–790. <https://doi.org/10.1113/JP280221>

- Calle, M. C., & Fernandez, M. L. (2010). Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutrition research and practice*, 4(4), 259–269. <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.4.259>
- Caprio, M., Infante, M., Moriconi, E., Armani, A., Fabbri, A., Mantovani, G., Mariani, S., Lubrano, C., Poggiogalle, E., Migliaccio, S., Donini, L. M., Basciani, S., Cignarelli, A., Conte, E., Ceccarini, G., Bogazzi, F., Cimino, L., Condorelli, R. A., La Vignera, S., Calogero, A. E., ... Cardiovascular Endocrinology Club of the Italian Society of Endocrinology (2019). Very-low-calorie ketogenic diet (VLCKD) in the management of metabolic diseases: systematic review and consensus statement from the Italian Society of Endocrinology (SIE). *Journal of endocrinological investigation*, 42(11), 1365–1386. <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01061-2>
- Chappell, A. J., Simper, T., & Barker, M. E. (2018). Nutritional strategies of high level natural bodybuilders during competition preparation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15, 4. <https://doi.org/10.1186/s12970-018-0209-z>
- Duman, R. S., Malberg, J., Nakagawa, S., & D'Sa, C. (2000). Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biological psychiatry*, 48(8), 732–739. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(00\)00935-5](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)00935-5)
- Ebbeling, C. B., Swain, J. F., Feldman, H. A., Wong, W. W., Hachey, D. L., Garcia-Lago, E., & Ludwig, D. S. (2012). Effects of dietary composition on energy expenditure during weight-loss maintenance. *JAMA*, 307(24), 2627–2634. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.6607>
- Egan, B., & Zierath, J. R. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell metabolism*, 17(2), 162–184. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>
- El-Eshmawy, M. M., Mahsoub, N., Asar, M., & Elsehely, I. (2022). Association Between Total Bilirubin Levels and Cardio-Metabolic Risk Factors Related to Obesity. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 22(1), 64–70. <https://doi.org/10.2174/1871530321999210128201259>
- Escobar, K. A., VanDusseldorp, T. A., & Kerksick, C. M. (2016). Carbohydrate intake and resistance-based exercise: are current recommendations reflective of actual need? *The British journal of nutrition*, 116(12), 2053–2065. <https://doi.org/10.1017/S0007114516003949>
- Evans, M., Cogan, K. E., & Egan, B. (2017). Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation. *The Journal of physiology*, 595(9), 2857–2871. <https://doi.org/10.1113/JP273185>
- Fabricatore, A. N., Wadden, T. A., Higginbotham, A. J., Faulconbridge, L. F., Nguyen, A. M., Heymsfield, S. B., & Faith, M. S. (2011). Intentional weight loss and changes in symptoms of depression: a systematic review and meta-analysis. *International journal of obesity* (2005), 35(11), 1363–1376. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.2>
- Fedorovich, S. V., Voronina, P. P., & Waseem, T. V. (2018). Ketogenic diet versus ketoacidosis: what determines the influence of ketone bodies on neurons? *Neural regeneration research*, 13(12), 2060–2063. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.241442>
- Felig P. (1973). The glucose-alanine cycle. *Metabolism: clinical and experimental*, 22(2), 179–207. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(73\)90269-2](https://doi.org/10.1016/0026-0495(73)90269-2)
- Feverly J. (2008). Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 28(5), 592–605. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2008.01716.x>
- Forsythe, C. E., Phinney, S. D., Fernandez, M. L., Quann, E. E., Wood, R. J., Bibus, D. M., Kraemer, W. J., Feinman, R. D., & Volek, J. S. (2008). Comparison of low fat and low carbohydrate diets on circulating fatty acid composition and markers of inflammation. *Lipids*, 43(1), 65–77. <https://doi.org/10.1007/s11745-007-3132-7>

- Fry, C. S., Drummond, M. J., Glynn, E. L., Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Timmerman, K. L., Walker, D. K., Dhanani, S., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2011). Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis. *Skeletal Muscle*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-11>
- Fukao, T., Lopaschuk, G. D., & Mitchell, G. A. (2004). Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid biochemistry. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 70(3), 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.11.001>
- Grabacka, M., Pierzchalska, M., Dean, M., & Reiss, K. (2016). Regulation of Ketone Body Metabolism and the Role of PPAR α . *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2093. <https://doi.org/10.3390/ijms17122093>
- Genzer, Y., Dadon, M., Burg, C., Chapnik, N., & Froy, O. (2016). Effect of dietary fat and the circadian clock on the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Molecular and cellular endocrinology*, 430, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.04.015>
- Gershuni, V. M., Yan, S. L., & Medici, V. (2018). Nutritional Ketosis for Weight Management and Reversal of Metabolic Syndrome. *Current nutrition reports*, 7(3), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s13668-018-0235-0>
- Gibala, M. J., MacDougall, J. D., Tarnopolsky, M. A., Stauber, W. T., & Elorriaga, A. (1995). Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 78(2), 702–708. <https://doi.org/10.1152/jappl.1995.78.2.702>
- Gibson, A. A., Seimon, R. V., Lee, C. M., Ayre, J., Franklin, J., Markovic, T. P., Caterson, I. D., & Sainsbury, A. (2015). Do ketogenic diets really suppress appetite? A systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 16(1), 64–76. <https://doi.org/10.1111/obr.12230>
- Glass D. J. (2005). Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(10), 1974–1984. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.04.018>
- Goldberg, A. L., Etlinger, J. D., Goldspink, D. F., & Jablecki, C. (1975). Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Medicine and science in sports*, 7(3), 185-198.
- Goldspink G. (1998). Cellular and molecular aspects of muscle growth, adaptation and ageing. *Gerodontology*, 15(1), 35–43. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.1998.00035.x>
- Hall, K. D., Bemis, T., Brychta, R., Chen, K. Y., Courville, A., Crayner, E. J., Goodwin, S., Guo, J., Howard, L., Knuth, N. D., Miller, B. V., 3rd, Prado, C. M., Siervo, M., Skarulis, M. C., Walter, M., Walter, P. J., & Yannai, L. (2015). Calorie for Calorie, Dietary Fat Restriction Results in More Body Fat Loss than Carbohydrate Restriction in People with Obesity. *Cell metabolism*, 22(3), 427–436. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.021>
- Hall, K. D., Chen, K. Y., Guo, J., Leibel, R. L., Mayer, L. E., Reitman, M. L., Rosenbaum, M., Smith, S. R., Walsh, B. T., & Ravussin, E. (2016). Reply to DS Ludwig and CB Ebbeling. *The American journal of clinical nutrition*, 104(5), 1488–1490. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.143628>
- Harber, M. P., Schenk, S., Barkan, A. L., & Horowitz, J. F. (2005). Alterations in carbohydrate metabolism in response to short-term dietary carbohydrate restriction. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 289(2), E306–E312. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00069.2005>
- Heikura, I. A., Burke, L. M., Hawley, J. A., Ross, M. L., Garvican-Lewis, L., Sharma, A. P., McKay, A. K. A., Leckey, J. J., Welvaert, M., McCall, L., & Ackerman, K. E. (2020). A Short-Term Ketogenic Diet Impairs Markers of Bone Health in Response to Exercise. *Frontiers in endocrinology*, 10, 880. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00880>

- Helms, E. R., Aragon, A. A., & Fitschen, P. J. (2014). Evidence-based recommendations for natural bodybuilding contest preparation: nutrition and supplementation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 11, 20. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-11-20>
- Hurley, B. F., Seals, D. R., Hagberg, J. M., Goldberg, A. C., Ostrove, S. M., Holloszy, J. O., Wiest, W. G., & Goldberg, A. P. (1984). High-density-lipoprotein cholesterol in bodybuilders v powerlifters. Negative effects of androgen use. *JAMA*, 252(4), 507–513
- Iraki, J., Fitschen, P., Espinar, S., & Helms, E. (2019). Nutrition Recommendations for Bodybuilders in the Off-Season: A Narrative Review. *Sports* (Basel, Switzerland), 7(7), 154. <https://doi.org/10.3390/sports7070154>
- Jabekk, P. T., Moe, I. A., Meen, H. D., Tomten, S. E., & Høstmark, A. T. (2010). Resistance training in overweight women on a ketogenic diet conserved lean body mass while reducing body fat. *Nutrition & metabolism*, 7, 17. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-17>
- Jacquemin, V., Furling, D., Bigot, A., Butler-Browne, G. S., & Mouly, V. (2004). IGF-1 induces human myotube hypertrophy by increasing cell recruitment. *Experimental cell research*, 299(1), 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.05.023>
- Johnston, C. S., Tjonn, S. L., Swan, P. D., White, A., Hutchins, H., & Sears, B. (2006). Ketogenic low-carbohydrate diets have no metabolic advantage over nonketogenic low-carbohydrate diets. *The American journal of clinical nutrition*, 83(5), 1055–1061. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.5.1055>
- Johnstone, A. M., Horgan, G. W., Murison, S. D., Bremner, D. M., & Lobley, G. E. (2008). Effects of a high-protein ketogenic diet on hunger, appetite, and weight loss in obese men feeding ad libitum. *The American journal of clinical nutrition*, 87(1), 44–55. <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.1.44>
- Kephart, W. C., Pledge, C. D., Roberson, P. A., Mumford, P. W., Romero, M. A., Mobley, C. B., Martin, J. S., Young, K. C., Lowery, R. P., Wilson, J. M., Huggins, K. W., & Roberts, M. D. (2018). The Three-Month Effects of a Ketogenic Diet on Body Composition, Blood Parameters, and Performance Metrics in CrossFit Trainees: A Pilot Study. *Sports* (Basel, Switzerland), 6(1), 1. <https://doi.org/10.3390/sports6010001>
- Kose, E., Guzel, O., Demir, K. & Arslan, N. (2017). Changes of thyroid hormonal status in patients receiving ketogenic diet due to intractable epilepsy. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 30(4), 411-416. <https://doi.org/10.1515/jpem-2016-0281>
- Kossoff, E. H., & Hartman, A. L. (2012). Ketogenic diets: new advances for metabolism-based therapies. *Current opinion in neurology*, 25(2), 173–178. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3283515e4a>
- Kossoff, E. H., & Wang, H. S. (2013). Dietary therapies for epilepsy. *Biomedical journal*, 36(1), 2–8. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.107152>
- Kossoff, E. H., Cervenka, M. C., Henry, B. J., Haney, C. A., & Turner, Z. (2013). A decade of the modified Atkins diet (2003–2013): Results, insights, and future directions. *Epilepsy & behavior : E&B*, 29(3), 437–442. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.09.032>
- Kowal, J., Tkach, M., & Théry, C. (2014). Biogenesis and secretion of exosomes. *Current opinion in cell biology*, 29, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.05.004>
- Lodi, A., Karsten, B., Bosco, G., Gómez-López, M., Brandão, P. P., Bianco, A., & Paoli, A. (2016). The Effects of Different High-Protein Low-Carbohydrates Proprietary Foods on Blood Sugar in Healthy Subjects. *Journal of medicinal food*, 19(11), 1085–1095. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0072>
- Lodi, A., Zarantonello, L., Bisiacchi, P. S., Cenci, L., & Paoli, A. (2020). Ketonemia and Glycemia Affect Appetite Levels and Executive Functions in Overweight Females During Two Ketogenic Diets. *Obesity* (Silver Spring, Md.), 28(10), 1868–1877. <https://doi.org/10.1002/oby.22934>

- Ludwig, D. S., Dickinson, S. L., Henschel, B., Ebbeling, C. B., & Allison, D. B. (2021). Do Lower-Carbohydrate Diets Increase Total Energy Expenditure? An Updated and Reanalyzed Meta-Analysis of 29 Controlled-Feeding Studies. *The Journal of nutrition*, 151(3), 482–490. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa350>
- Margolis, L. M., & Pasiakos, S. M. (2023). Low carbohydrate availability impairs hypertrophy and anaerobic performance. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 26(4), 347–352. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000934>
- Marosi, K., Kim, S. W., Moehl, K., Scheibye-Knudsen, M., Cheng, A., Cutler, R., Camandola, S., & Mattson, M. P. (2016). 3-Hydroxybutyrate regulates energy metabolism and induces BDNF expression in cerebral cortical neurons. *Journal of neurochemistry*, 139(5), 769–781. <https://doi.org/10.1111/jnc.13868>
- Masood, W., Annamaraju, P., & Uppaluri, K. R. (2020). Ketogenic Diet. *StatPearls*.
- Mayor E. (2023). Neurotrophic effects of intermittent fasting, calorie restriction and exercise: a review and annotated bibliography. *Frontiers in aging*, 4, 1161814. <https://doi.org/10.3389/fragi.2023.1161814>
- McPherson, P. A., & McEneny, J. (2012). The biochemistry of ketogenesis and its role in weight management, neurological disease and oxidative stress. *Journal of physiology and biochemistry*, 68(1), 141–151. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0112-4>
- McSwiney, F. T., Doyle, L., Plews, D. J., & Zinn, C. (2019). Impact Of Ketogenic Diet On Athletes: Current Insights. *Open access journal of sports medicine*, 10, 171–183. <https://doi.org/10.2147/OAJSM.S180409>
- Miller, V. J., Villamena, F. A., & Volek, J. S. (2018). Nutritional Ketosis and Mitohormesis: Potential Implications for Mitochondrial Function and Human Health. *Journal of nutrition and metabolism*, 2018, 5157645. <https://doi.org/10.1155/2018/5157645>
- Mohorko, N., Čermelič-Bizjak, M., Poklar-Vatovec, T., Grom, G., Kenig, S., Petelin, A., & Jenko-Pražnikar, Z. (2019). Weight loss, improved physical performance, cognitive function, eating behavior, and metabolic profile in a 12-week ketogenic diet in obese adults. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, 62, 64–77
- Murphy, R. M., Watt, M. J., & Febbraio, M. A. (2020). Metabolic communication during exercise. *Nature metabolism*, 2(9), 805–816. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0258-x>
- Muscogiuri, G., Barrea, L., Laudisio, D. et al. The management of very low-calorie ketogenic diet in obesity outpatient clinic: a practical guide. *J Transl Med* 17, 356 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2104-z>
- Mytidou, C., Koutsoulidou, A., Katsioloudi, A., Prokopi, M., Kapnisis, K., Michailidou, K., Anayiotos, A., & Phylactou, L. A. (2021). Muscle-derived exosomes encapsulate myomiRs and are involved in local skeletal muscle tissue communication. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 35(2), e21279. <https://doi.org/10.1096/fj.201902468RR>
- Nader G. A. (2005). Molecular determinants of skeletal muscle mass: getting the "AKT" together. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(10), 1985–1996. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.02.026>
- Nelson, D.L.; Cox, M.M. (2000). *Lehninger principles of biochemistry*. Worth Publ., 41, 113–158.
- Ness G. C. (1983). Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Molecular and cellular biochemistry*, 53-54(1-2), 299–306. <https://doi.org/10.1007/BF00225261>
- Newburgh, L. H., & MARSH, P. L. (1920). The use of a high fat diet in the treatment of diabetes mellitus: First paper. *Archives of Internal Medicine*, 26(6), 647-662.

- Newman, J. C., & Verdin, E. (2017). β -Hydroxybutyrate: A Signaling Metabolite. *Annual review of nutrition*, 37, 51–76. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064916>
- Niebauer, J., & Cooke, J. P. (1996). Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *Journal of the American College of Cardiology*, 28(7), 1652–1660. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(96\)00393-2](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(96)00393-2)
- Owen, O. E., Felig, P., Morgan, A. P., Wahren, J., & Cahill, G. F., Jr (1969). Liver and kidney metabolism during prolonged starvation. *The Journal of clinical investigation*, 48(3), 574–583. <https://doi.org/10.1172/JCI106016>
- Paoli A. (2014). Ketogenic diet for obesity: friend or foe?. *International journal of environmental research and public health*, 11(2), 2092–2107. <https://doi.org/10.3390/ijerph110202092>
- Paoli, A., Bianco, A., & Grimaldi, K. A. (2015). The Ketogenic Diet and Sport: A Possible Marriage?. *Exercise and sport sciences reviews*, 43(3), 153–162. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000050>
- Paoli, A., Cancellara, P., Pompei, P., & Moro, T. (2019). Ketogenic Diet and Skeletal Muscle Hypertrophy: A Frenemy Relationship?. *Journal of human kinetics*, 68, 233–247. <https://doi.org/10.2478/hukin-2019-0071>
- Paoli, A., Cenci, L., Fancelli, M., Parmagnani, A., Fratter, A., Cucchi, A., et al. (2010). Ketogenic diet and phytoextracts. Comparison of the efficacy of Mediterranean, Zone and Tisanoreica diet on some health risk factors. *AGRO FOOD INDUSTRY HI-TECH*, 21(4), 24-29.
- Paoli, A., Cenci, L., Pompei, P., Sahin, N., Bianco, A., Neri, M., Caprio, M., & Moro, T. (2021). Effects of Two Months of Very Low Carbohydrate Ketogenic Diet on Body Composition, Muscle Strength, Muscle Area, and Blood Parameters in Competitive Natural Body Builders. *Nutrients*, 13(2), 374. <https://doi.org/10.3390/nu13020374>
- Paoli, A., Grimaldi, K., D'Agostino, D., Cenci, L., Moro, T., Bianco, A., & Palma, A. (2012). Ketogenic diet does not affect strength performance in elite artistic gymnasts. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-9-34>
- Paoli, A., Mancin, L., Giacona, M. C., Bianco, A., & Caprio, M. (2020). Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome. *Journal of translational medicine*, 18(1), 104. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02277-0>
- Paoli, A., Moro, T., Bosco, G., Bianco, A., Grimaldi, K. A., Camporesi, E., & Mangar, D. (2015). Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3) supplementation on some cardiovascular risk factors with a ketogenic Mediterranean diet. *Marine drugs*, 13(2), 996–1009. <https://doi.org/10.3390/md13020996>
- Paoli, A., Rubini, A., Volek, J. S., & Grimaldi, K. A. (2013). Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *European journal of clinical nutrition*, 67(8), 789–796. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.116>
- Phillips, S. M., & Van Loon, L. J. (2011). Dietary protein for athletes: from requirements to optimum adaptation. *Journal of sports sciences*, 29 Suppl 1, S29–S38. <https://doi.org/10.1080/02640414.2011.619204>
- Phinney, S. D., Bistrian, B. R., Evans, W. J., Gervino, E., & Blackburn, G. L. (1983). The human metabolic response to chronic ketosis without caloric restriction: preservation of submaximal exercise capability with reduced carbohydrate oxidation. *Metabolism: clinical and experimental*, 32(8), 769–776. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(83\)90106-3](https://doi.org/10.1016/0026-0495(83)90106-3)

- Phinney, S. D., Horton, E. S., Sims, E. A., Hanson, J. S., Danforth, E., Jr, & LaGrange, B. M. (1980). Capacity for moderate exercise in obese subjects after adaptation to a hypocaloric, ketogenic diet. *The Journal of clinical investigation*, 66(5), 1152–1161. <https://doi.org/10.1172/JCI109945>
- Pinto, A., Bonucci, A., Maggi, E., Corsi, M., & Businaro, R. (2018). Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Activity of Ketogenic Diet: New Perspectives for Neuroprotection in Alzheimer's Disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 7(5), 63. <https://doi.org/10.3390/antiox7050063>
- Pirimoğlu, B., Sade, R., Polat, G., İşlek, A., & Kantarcı, M. (2020). Analysis of correlation between liver fat fraction and AST and ALT levels in overweight and obese children by using new magnetic resonance imaging technique. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 31(2), 156–162. <https://doi.org/10.5152/tjg.2020.18594>
- Rennie M. J. & Tipton, K. D. (2000). Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annual review of nutrition*, 20, 457–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.20.1.457>
- Rm W. (1921). The effects of ketonemia on the course of epilepsy. In *Mayo Clin Proc* (Vol. 2, pp. 307-308).
- Roberts, B. M., Helms, E. R., Trexler, E. T., & Fitschen, P. J. (2020). Nutritional Recommendations for Physique Athletes. *Journal of human kinetics*, 71, 79–108. <https://doi.org/10.2478/hukin-2019-0096>
- Roth, S. M., Martel, G. F., Ivey, F. M., Lemmer, J. T., Metter, E. J., Hurley, B. F., & Rogers, M. A. (2000). High-volume, heavy-resistance strength training and muscle damage in young and older women. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 88(3), 1112–1118. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.88.3.1112>
- Rubini, A., Bosco, G., Lodi, A., Cenci, L., Parmagnani, A., Grimaldi, K., Zhongjin, Y., & Paoli, A. (2015). Effects of Twenty Days of the Ketogenic Diet on Metabolic and Respiratory Parameters in Healthy Subjects. *Lung*, 193(6), 939–945. <https://doi.org/10.1007/s00408-015-9806-7>
- Ruth, M. R., Port, A. M., Shah, M., Bourland, A. C., Istfan, N. W., Nelson, K. P., Gokce, N., & Apovian, C. M. (2013). Consuming a hypocaloric high fat low carbohydrate diet for 12 weeks lowers C-reactive protein, and raises serum adiponectin and high density lipoprotein-cholesterol in obese subjects. *Metabolism: clinical and experimental*, 62(12), 1779–1787. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.07.006>
- Seidell, J. C., Muller, D. C., Sorkin, J. D., & Andres, R. (1992). Fasting respiratory exchange ratio and resting metabolic rate as predictors of weight gain: the Baltimore Longitudinal Study on Aging. *International journal of obesity and related metabolic disorders:journal of the International Association for the Study of Obesity*, 16(9), 667–674.
- Skotland, T., Sandvig, K., & Llorente, A. (2017). Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward. *Progress in lipid research*, 66, 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.03.001>
- Slater, G., & Phillips, S. M. (2011). Nutrition guidelines for strength sports: sprinting, weightlifting, throwing events, and bodybuilding. *Journal of sports sciences*, 29 Suppl 1, S67–S77. <https://doi.org/10.1080/02640414.2011.574722>
- Società Italiana di Nutrizione Umana (S.I.N.U.). Livelli di Assunzione Raccomandati di Energia e Nutrienti per la Popolazione Italiana, LARN-Revisione 2014. Available online: <http://www.sinu.it>. Consultato il 3.05.2023.
- Soto Conti CP. Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule. *Arch Argent Pediatr*. 2021 Feb;119(1):e18-e25. English, Spanish. doi: 10.5546/aap.2021.eng.e18. PMID: 33458986.
- Tagliabue, A., Bertoli, S., Trentani, C., Borrelli, P., & Veggiotti, P. (2012). Effects of the ketogenic diet on nutritional status, resting energy expenditure, and substrate oxidation in patients with medically refractory

epilepsy: a 6-month prospective observational study. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 31(2), 246–249

Tinsley, G. M., & Willoughby, D. S. (2016). Fat-Free Mass Changes During Ketogenic Diets and the Potential Role of Resistance Training. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 26(1), 78–92. <https://doi.org/10.1123/ijnsnem.2015-0070>

Tzur, A.; Roberts, B.M. (2020). The ketogenic diet for bodybuilders and physique athletes. *Strength Cond. J.*, 42, 108–115.

Valtueña, S., Salas-Salvadó, J., & Lorda, P. G. (1997). The respiratory quotient as a prognostic factor in weight-loss rebound. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 21(9), 811–817. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800480>

van den Boorn, J. G., Schlee, M., Coch, C., & Hartmann, G. (2011). SiRNA delivery with exosome nanoparticles. *Nature biotechnology*, 29(4), 325–326. <https://doi.org/10.1038/nbt.1830>

Vargas-Molina, S., Gómez-Urquiza, J. L., García-Romero, J., & Benítez-Porres, J. (2022). Effects of the Ketogenic Diet on Muscle Hypertrophy in Resistance-Trained Men and Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of environmental research and public health*, 19(19), 12629.

Vargas, S., Romance, R., Petro, J. L., Bonilla, D. A., Galancho, I., Espinar, S., Kreider, R. B., & Benítez-Porres, J. (2018). Efficacy of ketogenic diet on body composition during resistance training in trained men: a randomized controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12970-018-0236-9>

Volek, J. S., Phinney, S. D., Forsythe, C. E., Quann, E. E., Wood, R. J., Puglisi, M. J., Kraemer, W. J., Bibus, D. M., Fernandez, M. L., & Feinman, R. D. (2009). Carbohydrate restriction has a more favorable impact on the metabolic syndrome than a low fat diet. *Lipids*, 44(4), 297–309. <https://doi.org/10.1007/s11745-008-3274-2>

Vojarova, B., Stefan, N., Lindsay, R. S., Saremi, A., Pratley, R. E., Bogardus, C., & Tataranni, P. A. (2002). High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*, 51(6), 1889–1895. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.6.1889>

West, J., Brousil, J., Gazis, A., Jackson, L., Mansell, P., Bennett, A., & Aithal, G. P. (2006). Elevated serum alanine transaminase in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 99(12), 871–876. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcl116>

Westman, E. C., Feinman, R. D., Mavropoulos, J. C., Vernon, M. C., Volek, J. S., Wortman, J. A., Yancy, W. S., & Phinney, S. D. (2007). Low-carbohydrate nutrition and metabolism. *The American journal of clinical nutrition*, 86(2), 276–284. <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.2.276>

Whitfield, J., Burke, L. M., McKay, A. K. A., Heikura, I. A., Hall, R., Fensham, N., & Sharma, A. P. (2021). Acute Ketogenic Diet and Ketone Ester Supplementation Impairs Race Walk Performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 53(4), 776–784. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002517>

Wilson, J. M., Lowery, R. P., Roberts, M. D., Sharp, M. H., Joy, J. M., Shields, K. A., Partl, J. M., Volek, J. S., & D'Agostino, D. P. (2020). Effects of Ketogenic Dieting on Body Composition, Strength, Power, and Hormonal Profiles in Resistance Training Men. *Journal of strength and conditioning research*, 34(12), 3463–3474

Winesett, S. P., Bessone, S. K., & Kossoff, E. H. (2015). The ketogenic diet in pharmaco resistant childhood epilepsy. *Expert review of neurotherapeutics*, 15(6), 621–628. <https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1044982>

Xhuti, D., Nilsson, M. I., Manta, K., Tarnopolsky, M. A., & Nederveen, J. P. (2023). Circulating exosome-like vesicle and skeletal muscle microRNAs are altered with age and resistance training. *The Journal of physiology*, 10.1113/JP282663. Advance online publication. <https://doi.org/10.1113/JP282663>

Zhao, H., Jin, H., Xian, J., Zhang, Z., Shi, J., & Bai, X. (2022). Effect of Ketogenic Diets on Body Composition and Metabolic Parameters of Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 14(19), 4192. <https://doi.org/10.3390/nu14194192>