



Università degli Studi di Cagliari

DOTTORATO DI RICERCA

BIOLOGIA E BIOCHIMICA DELL'UOMO E DELL'AMBIENTE

Ciclo XXVIII

**ANALISI METABOLIMETRICA DI UN CAMPIONE DI DONNE
OBESE SOGGETTE A *WEIGHT CYCLING***

Settore scientifico disciplinare di afferenza

BIO/09 - MED/49

Presentata da: DOTT. ANDREA DELEDDA

Coordinatore Dottorato PROF. EMANUELE SANNA

Tutor PROF. ANDREA LOVISELLI

Esame finale Anno Accademico 2014 – 2015

"Non importa quante volte cadi, ma quante volte cadi e ti rialzi."
(Vince Lombardi)

Indice

pag.

Introduzione	6
Epidemiologia dell'obesità	
Diabete e obesità	
Obesità: una condizione multifattoriale	
Composizione corporea	
Trattamento dell'obesità e patologie correlate	
Il bilancio energetico	16
Valore energetico globale degli alimenti	
Termogenesi e determinanti della spesa energetica	
Attività fisica	
Misurazione dell'energia spesa	20
Misurazione dell'introito calorico	25
Bilancio energetico e controllo neuroendocrino del peso: l'importanza dell'ipotalamo	27
Regolazione	
Infiammazione ipotalamica	
Controllo dell'appetito	
Aspetto edonistico	
Segnali periferici ormonali e bilancio energetico	
Gli adipociti come regolatori del bilancio energetico	
Cronobiologia e bilancio energetico	
Altri ormoni e sistemi alterati nell'obesità	
Critiche al metodo del conteggio calorico	38
Dimagrimento, <i>weight cycling</i> e difficoltà a mantenere il peso perso	41
Scopo del lavoro	44
Materiali e metodi	45
Risultati	50
Discussione	60
Conclusioni	62
Limitazioni dello studio	63
Abstract	64
Bibliografia	65

Desidero ringraziare le seguenti persone:

i miei familiari, la mia ragazza Giulia e la sua famiglia

tutti i componenti del Centro Obesità, il team motorio, il team nutrizionale e in particolare il mio tutor Andrea Loviselli, Fernanda, Daniela, Silvia, Manuela, Ramona, Serena, Roberta, Salvatore

tutti i colleghi della Scuola di Dottorato e in particolare Francesca Broccia e Giovanna Ghiani

il dott. Paolo Mura

i medici specializzandi in medicina sportiva e in particolare Sara Magnani

i docenti che hanno scritto i lavori citati nella bibliografia, che hanno contribuito alla mia formazione e tutti quelli che mi hanno insegnato qualcosa e/o spinto a migliorarmi

i miei colleghi che mi hanno sostenuto e aiutato, in particolare Francesco Astolfi e Riccardo

Dore

Analisi metabolimetrica di un campione di donne obese soggette a weight cycling

Introduzione

L'obesità è definita come eccesso di tessuto adiposo tale da influire negativamente sullo stato di salute. Tale condizione deriva solitamente da uno sbilancio tra *energy intake*, spesa energetica e accumulo di grasso. Poiché la carestia rappresenta un pericolo maggiore per un organismo rispetto all'abbondanza di cibo, i nostri sistemi biologici sono orientati ad accumulare il grasso come fonte di energia (1).

L'obesità sta emergendo come una delle sfide mediche principali del 21° secolo (1).

Il suo aumento a livello mondiale (e quello delle malattie croniche ad essa correlate) è stato in una certa misura favorito dalla liberalizzazione del commercio, dalla crescita economica e dalla rapida urbanizzazione. Questi fattori continuano ad alimentare drammatici cambiamenti degli ambienti, del modo di alimentarsi e degli stili di vita in modo da promuovere un bilancio energetico positivo. La transizione nutrizionale nei paesi a basso e medio reddito è tipicamente caratterizzata da aumenti del consumo di grassi animali e proteine, cereali raffinati e zuccheri aggiunti. Spesso questo tipo di alimentazione è accoppiata ad una riduzione dell'attività fisica e a stili di vita più meccanizzati e sedentari (2, 3).

Il criterio per la diagnosi dell'obesità è il body mass index (BMI o IMC in italiano), definito come rapporto tra peso e quadrato dell'altezza (4).

Definizione	BMI kg/m ²
<i>Sottopeso</i>	<18,5
<i>Normopeso</i>	18,5-24,9
<i>Sovrappeso</i>	25-29,9
<i>Obesità grado I</i>	30-34,9
<i>Obesità grado II</i>	35-39,9
<i>Obesità grado III</i>	≥40

I dati epidemiologici indicano che l'attuale epidemia di obesità globale è iniziata circa 40 anni fa, tuttavia, alcuni studi suggeriscono che l'aumento dei tassi di obesità sia iniziato prima, e che la progressione dell'epidemia sia stata incostante (5).

Dal 1980 il BMI medio della popolazione mondiale è aumentato di 0,4-0,5 kg/m² per decade negli adulti, e nel 2008 sono stati stimati 502 milioni di obesi (4).

L'obesità è un problema primario di salute pubblica negli Stati Uniti con più di 300.000 morti ogni anno sono attribuibile a obesità o sovrappeso. Negli Stati Uniti, tra la popolazione adulta di ~ 240 milioni di individui, più del 65 % è in sovrappeso e, di questi, la metà obesi.

Inoltre, si stimano circa 13 milioni di bambini americani obesi, che hanno un'alta probabilità di trasformarsi in adulti obesi e avere una ridotta qualità e aspettativa di vita.

Nel resto del mondo, sia nei paesi sviluppati che in via di sviluppo, un miliardo di persone sono in sovrappeso o obese, rendendo questo problema un'epidemia globale (5).

L'epidemia di obesità è solitamente attribuita a due fattori: la combinazione tra la diminuzione dell'attività fisica (ad esempio, riduzione delle lezioni di educazione fisica della scuola e il carattere sedentario della maggior parte dei lavori moderni) e l'ipernutrizione dovuta a moderne pratiche di marketing e alle tecnologie alimentari (come le dimensioni eccessive delle porzioni nei ristoranti e la pronta disponibilità di alimenti trasformati e a basso costo ma ad alto contenuto calorico dei pasti tipici dei fast food).

Inoltre gli studi suggeriscono che anche altri fattori potrebbero contribuire all'epidemia di obesità, tra cui la riduzione del sonno, gli interferenti endocrini e gli effetti dell'epigenetica, sia durante la vita intrauterina che in maniera intergenerazionale (5).

Il diabete, che spesso accompagna l'obesità, nel 2011-2012 ha avuto una prevalenza stimata tra il 12 % al 14 % tra gli adulti statunitensi, a seconda dei criteri utilizzati, con una maggiore prevalenza tra le minoranze etniche. Tra il 1988-1994 e il 2011-2012, la prevalenza del diabete è aumentata nella popolazione generale e in tutti i sottogruppi valutati (5,6).

Dati gli alti costi dell'obesità e delle sue comorbidità, in termini di spesa sanitaria, in particolare la riduzione della qualità della vita, sono di primaria importanza le strategie di prevenzione, in particolare nei paesi a basso reddito e con reddito medio che devono gestire la coesistenza di malattie infettive e malnutrizione, oltre alla epidemia di obesità. Dato che i paesi diventano sempre più urbanizzati, paradossalmente la malnutrizione e l'obesità possono coesistere all'interno dello stesso paese, determinando una sfida ancora più grande per i sistemi sanitari con risorse limitate.

Grazie alla portata e alla complessità dell'epidemia di obesità, sono necessarie strategie di prevenzione e politiche su più livelli in modo da avere un effetto misurabile. Le modifiche dovrebbero includere politiche globali di alto livello internazionale e sforzi coordinati da parte dei governi, organizzazioni, comunità e individui per influenzare positivamente il cambiamento comportamentale (2).

L'obesità grave ha avuto un costo di 69 miliardi di dollari nel 2013 nei soli Stati Uniti. Ogni obeso di III grado ha un costo di 2000\$ in più rispetto ad un normopeso (7).

L'obesità crescente è anche tra le cause dell'aumento del 41% negli ultimi 25 anni della mortalità per cause cardiovascolari (8, 9).

Epidemiologia

Con riferimento all'Italia, uno studio europeo (10) evidenzia una prevalenza dell'obesità fra gli adulti (18 anni e oltre) pari al 9,3% per gli uomini e l'8,7% per le donne, mentre la prevalenza di sovrappeso è rispettivamente del 42,1% e del 25,8% (dati auto-dichiarati riferiti al 2003). Rispetto agli altri Paesi europei l'Italia si colloca all'8° posto della graduatoria di 41 Paesi per valori crescenti di prevalenza dell'obesità. Occorre tuttavia tener conto del fatto che i dati non sono raccolti in modo uniforme e la comparabilità non è quindi perfetta.

Un'analisi italiana (11), basata sull'indagine multiscope sulle famiglie «Aspetti della vita quotidiana» condotta dall'Istat nel 2007, riporta, attraverso un approccio multi-fattoriale, più aspetti associati all'obesità includendo nei modelli di regressione logistica, accanto alle variabili demografiche quali sesso, età e tipologia familiare, le caratteristiche del luogo di residenza, le condizioni socioeconomiche, gli aspetti relativi allo stile di vita e la dimensione psicologica e relazionale.

Il rischio di obesità è maggiore per gli uomini, cresce con l'età fino a 64 anni, è maggiore per chi vive nel Sud, per le persone in coppia con figli, per le persone meno istruite e che hanno risorse economiche scarse,

per chi non fuma o ha smesso di fumare, consuma alcolici in quantità eccessiva, non pratica sport regolarmente e non ha una vita culturale attiva.

L'obesità aumenta con l'età e per la popolazione di oltre 45 anni i fattori di rischio sono più numerosi: vivere in un contesto poco sviluppato, non avere risorse economiche e interessi culturali, aumentano il rischio di essere obesi solo per le persone di 45 anni e oltre, che evidentemente soffrono di più dei giovani dei condizionamenti dell'ambiente e della mancanza di risorse materiali e culturali.

Lo studio conclude che la prevenzione e la cura dell'obesità richiedano la collaborazione di molte figure e organizzazioni, per la maggior parte non sanitarie, per creare un ambiente che renda disponibili e accessibili opzioni dietetiche più sane e un'attività fisica regolare. I risultati suggeriscono inoltre l'opportunità di interventi rivolti in particolare agli uomini, meno attenti delle donne sia ai problemi estetici sia alla salute in genere, e alle persone al di sopra dei 45 anni, per le quali l'obesità è un rischio più frequente.

L'Italia ha inoltre la più alta prevalenza di obesità infantile in Europa (12, 13).

Diabete e obesità

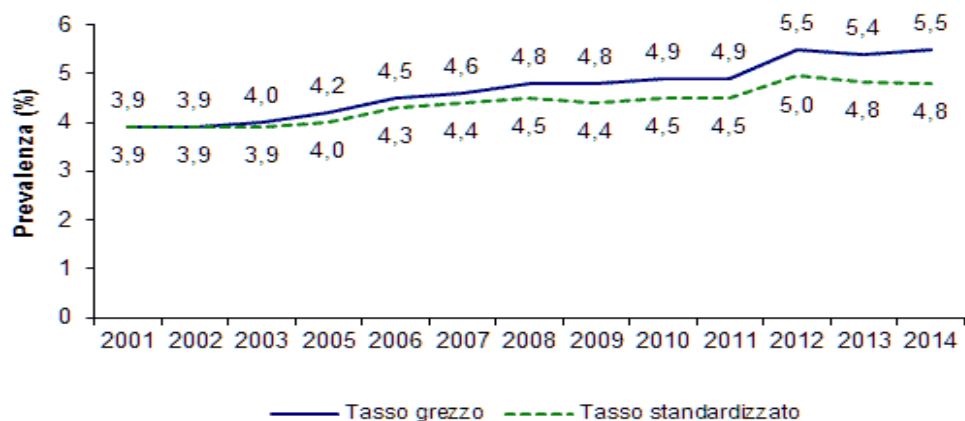
Una delle caratteristiche dell'obesità è data dal fatto che spesso coesiste con la sindrome metabolica prima e il diabete di tipo 2 poi. Entrambi sono 2 fattori di rischio cardiovascolari ma anche tumorali (14).

Il legame tra obesità e disglucemia è dovuto a molti fattori, tra cui flora intestinale alterata e il rilascio di citochine e fattori proinfiammatori che alterano le normali vie metaboliche da parte del tessuto adiposo, rendendo le cellule resistenti all'azione dell'insulina e quindi incapaci di metabolizzare correttamente i nutrienti e in particolare il glucosio.

I dati riportati nell'annuario statistico ISTAT 2014 (17) indicano che è diabetico il 5,5% degli italiani (5,3% degli uomini e 5,6 % delle donne), pari a oltre 3 milioni di persone. Nel grafico sono riportati sia i valori grezzi della prevalenza del diabete in Italia (linea blu), sia quelli standardizzati (linea tratteggiata verde), che tengono cioè conto del cambiamento nella composizione per età e sesso della popolazione italiana nel corso degli anni. La prevalenza standardizzata è aumentata dal 3,9% nel 2001 al 4,8% nel 2014. La prevalenza del diabete per anno è stata standardizzata per età e sesso (popolazione di riferimento: Italia 2001, stima ISTAT 57.844.000 residenti).

Andamento della prevalenza del diabete

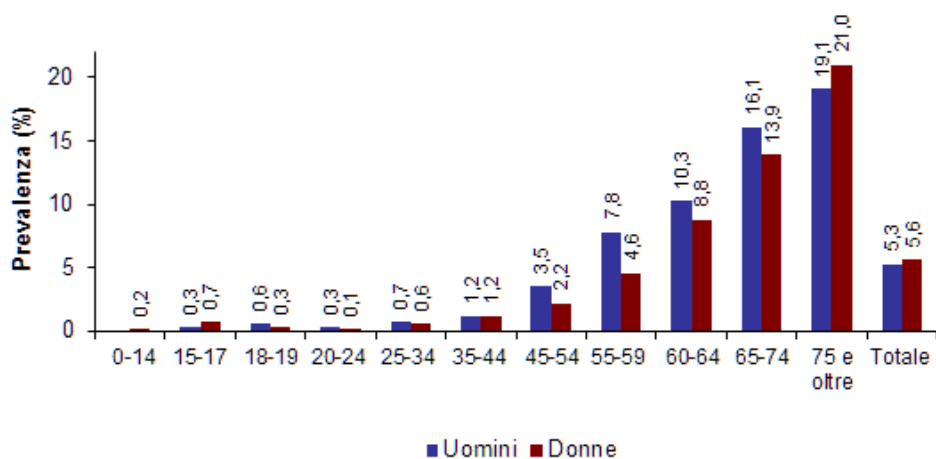
Italia (2001-2014)



Fonte ISTAT 2014, elaborazione ISS

La prevalenza del diabete aumenta con l'età fino a raggiungere il 20,3% nelle persone con età uguale o superiore ai 75 anni.

Prevalenza del diabete per sesso e fasce di età

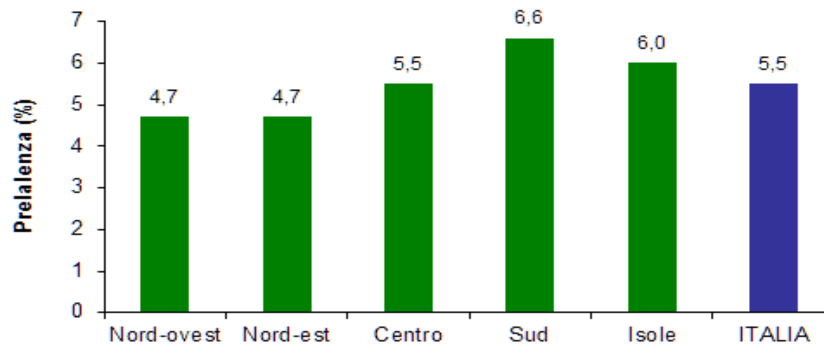


Fonte ISTAT 2014, elaborazione ISS

Per quanto riguarda la diffusione del diabete per area geografica, la prevalenza è mediamente più alta nel Sud (6,6%) e nelle Isole (6,0%), con valore massimo registrato in Basilicata, e più bassa nel Centro (5,5%) e nel Nord (4,7%) con valore minimo stimato nella provincia autonoma di Bolzano. I dati di prevalenza per area geografica e per regione non sono standardizzati, quindi le differenze osservate potrebbero dipendere

anche da una diversa composizione per età della popolazione nelle diverse aree geografiche. Tuttavia elaborazioni effettuate sui dati del 2011 mostrano che le differenze permangono anche dopo la standardizzazione.

Prevalenza del diabete per area geografica



Fonte ISTAT 2014, elaborazione ISS

Negli USA il numero di diabetici è cresciuto molto dagli anni 80 a oggi, fino ad arrivare ad una prevalenza stimata tra il 12 e il 14% negli adulti, che aumenta nelle minoranze etniche (6)

Obesità: una condizione multifattoriale

Il peso di una persona e la sua composizione corporea sono determinati dalla interazione tra il suo patrimonio genetico e fattori sociali, culturali, comportamentali e ambientali. Un maggior consumo di alimenti ad alta densità energetica e poveri di nutrienti, soprattutto se combinato con ridotta attività fisica, contribuisce sicuramente alla elevata prevalenza di obesità; tuttavia, l'esistenza di sistemi complessi che regolano il bilancio energetico richiede che questo paradigma sia considerato in un contesto più ampio (18).

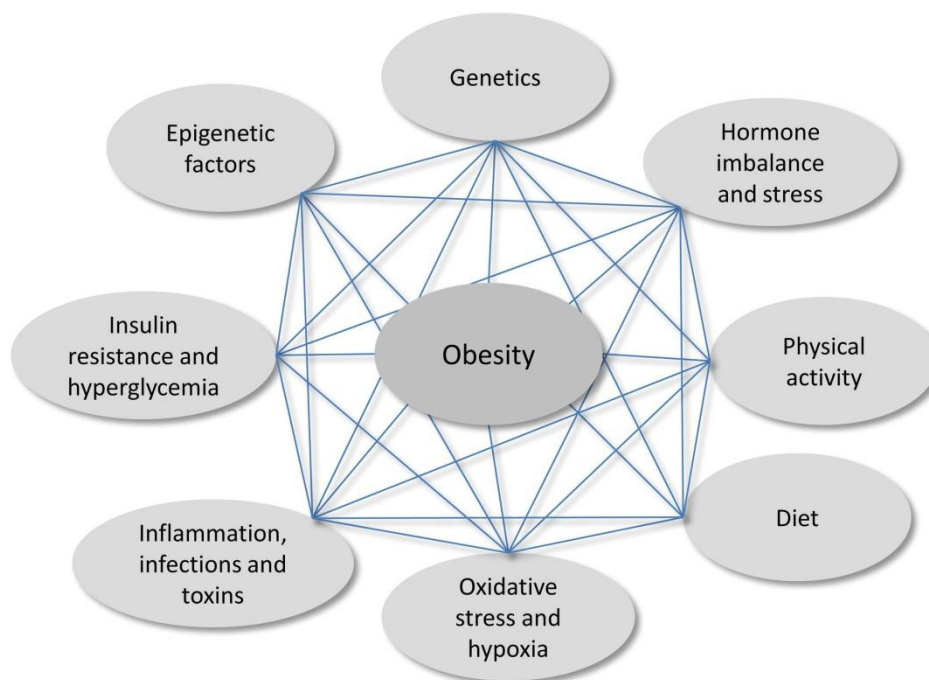


Figura 1 Mol Aspects Med. 2013 Jul-Aug;34(4):782-812.

Fattori ambientali

I fattori ambientali sono rappresentati essenzialmente dall'attività fisica e dall'alimentazione. Tuttavia stanno emergendo elementi meno conosciuti che favoriscono l'aumento di peso e non così intuitivamente correlati ad uno squilibrio calorico, ma ormai dimostrati, come poco sonno, case troppo calde, vita stressante (19, 20), i cosiddetti interferenti endocrini (ftalati, bisfenolo A, derivati organici dello stagno) (21).

Inoltre anche fattori come cessazione del tabagismo e alcuni farmaci, soprattutto psicolettici (obesità iatrogena), stanno emergendo come possibili cause (22).

Recentemente è stata ipotizzata tra le cause anche l'infezione da adenovirus (23).

I principali motivi sono ad ogni modo riferibili allo stile di vita, e dunque modificabili: alimentazione scorretta e inattività fisica costante (24); entrambe agevolano le alterazioni metaboliche fondamentali nello sviluppo di obesità e delle patologie correlate (25).

Nella società moderna occidentale, lo stile di vita è sempre più sedentario, grazie alla grande disponibilità di apparecchiature che rendono più comoda la vita e riducono il movimento quotidiano (19).

Negli adolescenti le ore passate davanti alla TV sono proporzionali al BMI (26) e l'obesità in età giovanile è altamente predittiva della stessa condizione in età adulta (27, 28), oltre ad essere per sé una condizione patologica (29).

Per quanto riguarda l'alimentazione, nello scorso secolo è stato fatto un notevole sforzo per migliorare la disponibilità e la stabilità delle forniture alimentari, con conseguente abbondanza di cibi poco costosi, più palatabili, e ad alta densità energetica. Di conseguenza, organismi adattati per una situazione di scarsità di cibo si trovano ora di fronte alla troppo facile reperibilità di tali alimenti (1).

Diversi alimenti sono stati messi in relazione con l'obesità. Il consumo di bibite gassate dolcificate (30, 31), zuccheri (32) e di prodotti industriali e raffinati sono ormai chiaramente associati ad aumento di peso (32), in particolare di grasso viscerale (33, 34) mentre una diversa distribuzione delle calorie e cibi con una bassa densità energetica riducono l'appetito e di conseguenza l'introito durante la giornata (35).

Fattori genetici

Sono stati individuati numerosi geni correlati con l'obesità. In generale si può tuttavia affermare che uno stile di vita sano può ridurre l'influenza dei fattori genetici sul BMI (36).

Le forme monogeniche di obesità coinvolgono 8 geni, tutti riguardanti la regolazione della spesa energetica. Quelle recessive omozigoti sono state trovate solamente in poche decine di persone in tutto il mondo, con alto grado di consanguineità (37), mentre le forme eterozigoti riguardano una parte molto più grande della popolazione; si stima che 426mila persone negli USA abbiano la mutazione più frequente, MC4R, che è presente in forma omozigote nel 6% degli obesi (38).

Le forme poligeniche sono invece sicuramente più diffuse con 97 loci individuati finora, ma ciascuno responsabile solo in piccola parte.

L'analisi dei loci fornisce un forte sostegno ad un ruolo del sistema nervoso centrale nella suscettibilità all'obesità e coinvolge geni e vie metaboliche non tenuti in considerazione prima, tra cui quelli relativi alla funzione sinaptica, al sistema glutammatergico, la secrezione e l'azione dell'insulina, la regolazione del metabolismo energetico, le vie metaboliche lipidiche e l'adipogenesi (39).

Uno dei geni che ha suscitato molto interesse è FTO, studiato anche nella popolazione sarda, codificante una demetilasi, la cui mutazione puntiforme appare strettamente legata con l'obesità (40, 41).

Fattori epigenetici

Lo stato dell'arte nella ricerca sull'obesità afferma che la maggior parte dei casi sono dovuti ad una combinazione tra squilibrio energetico e fattori genetici ereditari che, in associazione con altri segnali ormonali e ambientali, determina la predisposizione individuale a sviluppare l'obesità e le complicanze associate. Tuttavia, prove crescenti suggeriscono che uno dei collegamenti tra i fattori ambientali e la maggiore predisposizione a sviluppare l'obesità e la sindrome metabolica sia epigenetica, ossia dovuta alle influenze ambientali sull'espressione genica (42).

In particolare, sia l'ipernutrizione materna che la carenza di cibo durante la gravidanza regolano i circuiti ipotalamici di regolazione della spesa energetica in modo da favorire il manifestarsi dell'obesità nella prole (43).

Ad oggi, ci sono evidenze sul fatto che molti fattori nutrizionali agiscano modulando la metilazione del DNA e le modificazioni istoniche e alcuni di essi possono essere utilizzati nella terapia dell'obesità grazie, almeno in parte, ai loro meccanismi epigenetici. Questo risultato è più evidente per i donatori di metili (folato, metionina, colina e vitamine B6 e B12).

I donatori metilici sono fondamentali durante lo sviluppo fetale, quando alterano la metilazione del DNA e influenzano la proliferazione neuronale e il corretto sviluppo del cervello. Uno degli obiettivi più importanti per i prossimi anni sarà la personalizzazione delle necessità dei donatori di metile durante la gravidanza in riferimento al background genetico ed epigenetico. Gli *outcome* di salute variano anche nella popolazione adulta dove la carenza di donatori di metili è associati a steatosi epatica, insulino-resistenza ecc in alcune comuni varianti genetiche (42).

È quindi ipotizzabile un intervento che possa modificare o migliorare i profili epigenetici sfavorevoli anche nella popolazione adulta (44).

Microbiota

Il microbiota (o microbioma, se parliamo della qualità genetica), l'insieme dei batteri, in particolare intestinali, che popolano il nostro organismo, sta assumendo un'importanza crescente sulla salute.

È evidente come influenzi tantissimi aspetti della condizione fisica e che in molte malattie sia alterato, malattie neurologiche (45), cachessia, malattie autoimmuni (46, 47) diabete ecc.

Circa il 90% della flora intestinale appartiene a due *phyla* principali: *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Il più grande *phylum* è rappresentato dai *Firmicutes*, con più di 250 generi, tra cui *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Bacillus* e *Clostridium*, mentre *Bacteroidetes* comprende circa 20 generi, dei quali il genere più abbondante è *Bacteroides*.

Il restante 10% include i Gram-positivi *Actinobacteria* e i Gram-negativi *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia* (48).

Queste specie convivono in un delicato equilibrio influenzato dall'ambiente, dallo stress e dalla dieta, con un influenza reciproca (48, 49).

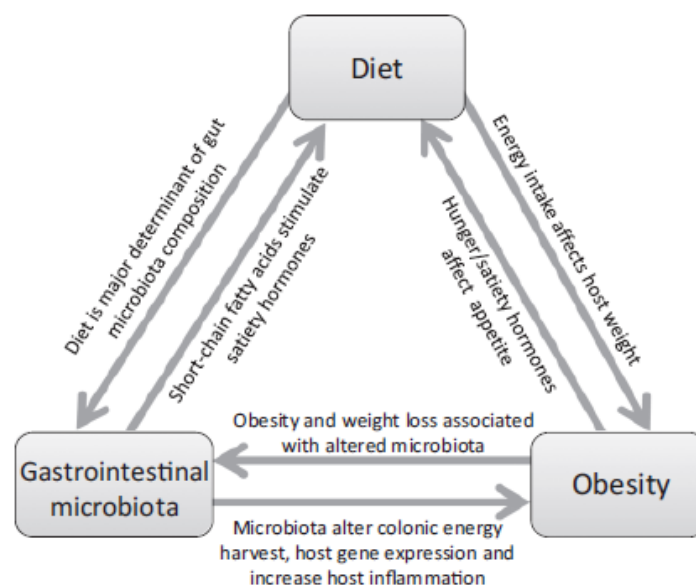


Figura 2 Nutrition Reviews Vol. 73(6):376–385 correlazioni e influenze reciproche tra microbiota intestinale e obesità

In condizioni normali, la flora intestinale è prevalentemente aerobica nel tratto superiore e in maggioranza anaerobica nel tratto inferiore. Gli studi dimostrano che questa differenza è importante per il mantenimento delle corrette funzioni gastrointestinali, digestiva e assorbitiva, e del sistema immunitario.

Recenti osservazioni hanno evidenziato la particolare composizione della flora intestinale degli obesi rispetto alle persone normopeso, anche a causa della loro dieta ricca in grassi. Generalmente nei pazienti obesi si evidenzia una concentrazione più alta di *S. aureus* e Gram-negativi (50) e una elevata quantità di *Bacteroides* e *Prevotella*, che producono più propionato (48).

È stato ipotizzato che la flora intestinale di una persona abbia una efficienza metabolica specifica e che determinate caratteristiche di composizione del microbiota possano predisporre all'obesità, influenzando probabilmente la quantità di energia ricavata dalla dieta (50).

Lo stesso microbiota e addirittura i fagi sono infatti capaci di influenzare la spesa energetica, anche a parità di introduzione: i fagi sono capaci di trasferire tra i batteri porzioni di DNA che permettono di estrarre più calorie dalla dieta, in caso di bilancio energetico negativo. Questo può essere interpretato come tentativo evolutivistico di permettere la sopravvivenza alle carestie (51).

La restrizione calorica infatti determina alterazioni della flora microbica (52).

Anche l'utilizzo metabolico degli aminoacidi subisce variazioni in base alla flora intestinale (53).

Ogni tipo di dieta influenza in maniera diversa i nostri microbi e appare sempre più importante personalizzare l'alimentazione per massimizzare la risposta individuale (54).

I batteri più interessanti dal punto di vista terapeutico sembrano essere *Akkermansia muciphila* e *Faecalibacterium prausnitzii* (55).

Composizione corporea

Il peso totale di un individuo è riferibile a diversi compartimenti, con differenti funzioni. Il modello più semplice di rappresentazione della composizione corporea, quello bicompartimentale, comprende una suddivisione tra massa grassa (FM), che comprende il grasso sottocutaneo, viscerale e essenziale, e massa magra (FFM, fat-free mass) che comprende muscolatura, viscere, organi, connettivo e scheletro.

Esistono delle tabelle di riferimento per la massa grassa, la cui percentuale sul peso corporeo è un ottimo indicatore di pericolo cardiovascolare, molto più del BMI e della circonferenza addominale più comunemente usati. Un uomo giovane e moderatamente attivo ha una massa grassa attorno al 10%, una donna circa il doppio (56).

Per stimare la composizione corporea sono utilizzati diversi metodi, in ambito ambulatoriale soprattutto l'impedenziometria e il plicometro, mentre nella ricerca se ne utilizzano di più precisi ma costosi come pesata idrostatica e DEXA (57). La FFM è il compartimento metabolicamente più attivo, e la spesa energetica è dovuta in particolare alla costante attività delle pompe ioniche che mantengono i gradienti cellulari anche a riposo ed è quindi un costo energetico importante per l'organismo e correlata col BMR (58).

Quando operiamo un taglio calorico, l'organismo sacrifica parte della massa magra per risparmiare energia. (59).

Trattamento dell'obesità e patologie correlate

Nonostante esistano delle linee guida per il trattamento dell'obesità (60), non sempre esiste tra i clinici un riconoscimento unanime per la strategia da adottare come miglior approccio, sia dal punto di vista nutrizionale che per la farmacoterapia, la prescrizione di attività fisica e la chirurgia (61).

Per quanto riguarda l'approccio alimentare, abbiamo a disposizione diete low-fat, low-carb, plant-based, paleo, chetogeniche, bilanciate ipocaloriche, iperproteiche ecc, (62); le diete low-carb stanno emergendo come interessanti rispetto al più classico approccio mediterraneo (63) ma il vero futuro è rappresentato dalla

personalizzazione della dieta in base al microbiota e alla risposta glicemica del pasto (54), e dall'aumento della spesa energetica tramite attività fisica ad alta intensità (64).

Secondo una pubblicazione Cochrane (61) il trattamento dietetico con maggiori probabilità di successo prevede una riduzione dell'indice e del carico glicemico, anche senza restrizione calorica. Inoltre un lieve aumento del carico proteico sembra importante per garantire maggiore sazietà e preservare la massa muscolare e la spesa energetica (65, 66), e quindi prevenire il *weight cycling* (67, 68, 69).

A seconda del tipo di dieta che si utilizza, si ha una riduzione della spesa energetica, sia basale che totale, che è massima con la classica dieta che prevede un semplice taglio calorico come da linee guida, mentre è minore se si utilizzano diete chetogeniche o diete a basso indice glicemico (70).

Al momento il trattamento più utilizzato per il paziente sovrappeso/obeso in sede ambulatoriale/ospedaliera prevede un gruppo multidisciplinare nel quale ognuno si occupi di una materia specifica (alimentazione, attività fisica, stato di salute, aspetti psicologici) coordinati da un medico competente (71, 72).

Tuttavia la chirurgia bariatrica dovrebbe rappresentare il gold standard per la terapia dell'obesità specie se associato a diabete di tipo II e altre comorbidità, perché molto più efficace del trattamento dietetico-comportamentale (73), pur avendo anch'essa un numero abbastanza elevato di recidive (~20%) che riporta il paziente a dover comunque ricorrere al trattamento multidisciplinare (74).

Il bilancio energetico

Come prima accennato, l'obesità è il risultato di una mancata corrispondenza tra la quantità di calorie consumate e la quantità di calorie assunte durante un periodo di tempo prolungato.

Questa relazione è descritta dall'equazione del bilancio energetico, in cui si afferma che il tasso di variazione dei depositi di stoccaggio di energia nel corpo sono pari al tasso di assunzione di energia meno il tasso di dispendio energetico.

Dovendo tenere conto della dinamicità, è stata proposta una equazione lievemente diversa rispetto a quella classica:

$$\text{Tasso di cambiamento dell'energia immagazzinata} = \text{energia assunta} - \text{energia spesa}$$

Il termine “tasso” compreso nell' equazione indica esplicitamente l'importanza fondamentale della variabile tempo (75).

Per semplificare al massimo, quando l'energia introdotta con l'alimentazione eguaglia l'energia spesa, il peso si mantiene stabile (76). Invece quando un individuo assume una quantità di energia maggiore di quella che spende in calore e lavoro, la quantità di energia immagazzinata aumenta.

Questa condizione di bilancio energetico positivo si associa ad un aumento della percentuale di massa grassa (FM%) e i nutrienti in eccesso sono immagazzinati sotto forma di grasso. Quando la quantità di energia assunta è inferiore all'energia spesa per produrre calore e lavoro, la quantità di energia immagazzinata diminuisce. Questa condizione di bilancio energetico negativo tende ad associarsi ad una diminuzione del peso corporeo, ma non sempre di FM% e quindi al miglioramento della composizione corporea (77): le molecole complesse immagazzinate vengono scisse e utilizzate per colmare il gap di energia dall'organismo (78).

L'equazione del bilancio energetico può sembrare facile da capire semplicemente basandosi sul ragionamento matematico. In realtà, una varietà di sistemi conosciuti o parzialmente incompresi influenzano le componenti del bilancio energetico (stoccaggio, assunzione, spesa dell'energia).

Se avessimo infatti una completa comprensione della regolazione del bilancio energetico, i livelli di obesità in tutto il mondo non avrebbero raggiunto proporzioni pandemiche poiché si sarebbero già attuate efficaci strategie di prevenzione e trattamento (79).

La prima limitazione dell'uso del bilancio energetico è data dal fatto che nessuno dei termini sia facile da misurare con accuratezza. Le variazioni delle riserve di energia corporea possono essere misurate basandosi sulle variazioni del peso e della composizione corporea, ma trattandosi di una metodica indiretta, vi è una limitata precisione in termini di valutazione dell'energia immagazzinata nella giornata (80).

Valore energetico globale degli alimenti

L'uomo ricava l'energia dai macronutrienti, ovvero da proteine, carboidrati, grassi e alcol, presenti negli alimenti.

Il contenuto energetico degli alimenti, o meglio di carboidrati, grassi e proteine in essi contenuti, può essere determinato misurando sperimentalmente la quantità di calore liberata nella loro ossidazione completa in presenza di ossigeno, cioè dalla loro combustione. Questo è possibile, attraverso l'utilizzo della bomba

calorimetrica, un reattore di acciaio in grado di resistere alle alte pressioni (fino a ~100 Bar), adatto a studiare le reazioni di combustione in cui l'ossigeno può essere introdotto ad alta pressione. La bomba ha una chiusura ermetica che impedisce la fuoriuscita dei prodotti di combustione. Il reattore è immerso in una grande quantità di acqua contenuta in un cestello.

All'interno della bomba si brucia una quantità nota di sostanza e il calore prodotto dalla reazione viene trasferito all'acqua determinandone un aumento della temperatura. Il calorimetro rimane completamente isolato dall'ambiente circostante per cui si può assumere che l'energia trasferita all'acqua sotto forma di calore corrisponda all'energia liberata dalla combustione nel corso della reazione (81, 82).

In ogni caso il bilancio energetico è influenzato da tanti fattori, non solo da quanto mangiamo e quanto ci muoviamo, e il corpo ha un funzionamento più complesso di una bomba calorimetrica, in cui tanta energia inseriamo, tanta energia produciamo (83).

La bomba calorimetrica infatti non tiene conto ad esempio dell'entropia, l'inevitabile aumento di caos di un sistema, e della componente anaerobica di sintesi dell'ATP; la formazione di piruvato da questa via non è infatti conteggiata dalla calorimetria diretta, un metodo di valutazione della spesa energetica illustrato più avanti. (84).

L'introito energetico è quindi costituito dalle calorie che noi introduciamo sotto forma di carboidrati, proteine e grassi. Anche l'alcol, pur non essendo considerato un nutriente vero e proprio, apporta comunque calorie.

La caloria è l'unità di misura della quantità di calore, pari a quella necessaria a portare la temperatura di un grammo d'acqua distillata da 14,5 °C a 15,5 °C, alla pressione atmosferica pari a 1 atm; non è ammessa nel Sistema Internazionale, dove la quantità di calore si misura in joule (1 cal = 4,184 J), ma si continua ad utilizzare per comodità nella pratica clinica, sotto forma del suo multiplo kilocaloria (1000 cal).

Per passare da Kcal a kJ e viceversa i fattori di conversione sono i seguenti : 1 Kcal = 4,184kJ; 1kJ= 0,239 Kcal (81).

L'energia rilasciata da un grammo di nutrienti nella bomba calorimetrica cambia per le quattro categorie di macronutrienti: carboidrati (4 kcal/g), proteine (5,6 kcal/g che nel corpo diventano 4 a causa della metabolizzazione), grassi (9 kcal/g) e di alcol (7 kcal/g) (82). Recentemente anche alla fibra è stato assegnato un contenuto calorico medio di 2,5 kcal/g (85, 86) ma esso può essere variabile in base alla flora intestinale.

Si ritiene, per questo motivo, che le fibre possano anche concorrere a favorire l'obesità in persone con una particolare flora intestinale, che favorendo la produzione di acidi grassi a catena corta, possa stimolare il processo di lipogenesi (87).

Questi valori rappresentano il contenuto calorico netto di cibo in quanto circa dal 2% al 5% del valore lordo è perso durante la digestione con le feci (88).

Termogenesi e determinanti della spesa energetica

La termogenesi è la produzione di calore. Mammiferi e uccelli, animali omeotermi, producono calore spendendo energia mediante l'ossidazione dei substrati energetici.

La spesa energetica totale, TEE, è equivalente al calore totale prodotto; di solito è misurata per 24 h. Sono state individuate quattro componenti principali della TEE: il metabolismo basale (BMR o MB), attività fisica, termogenesi indotta dal freddo (CIT), termogenesi indotta dagli alimenti (DIT). Le cause delle componenti sono illustrate in figura.

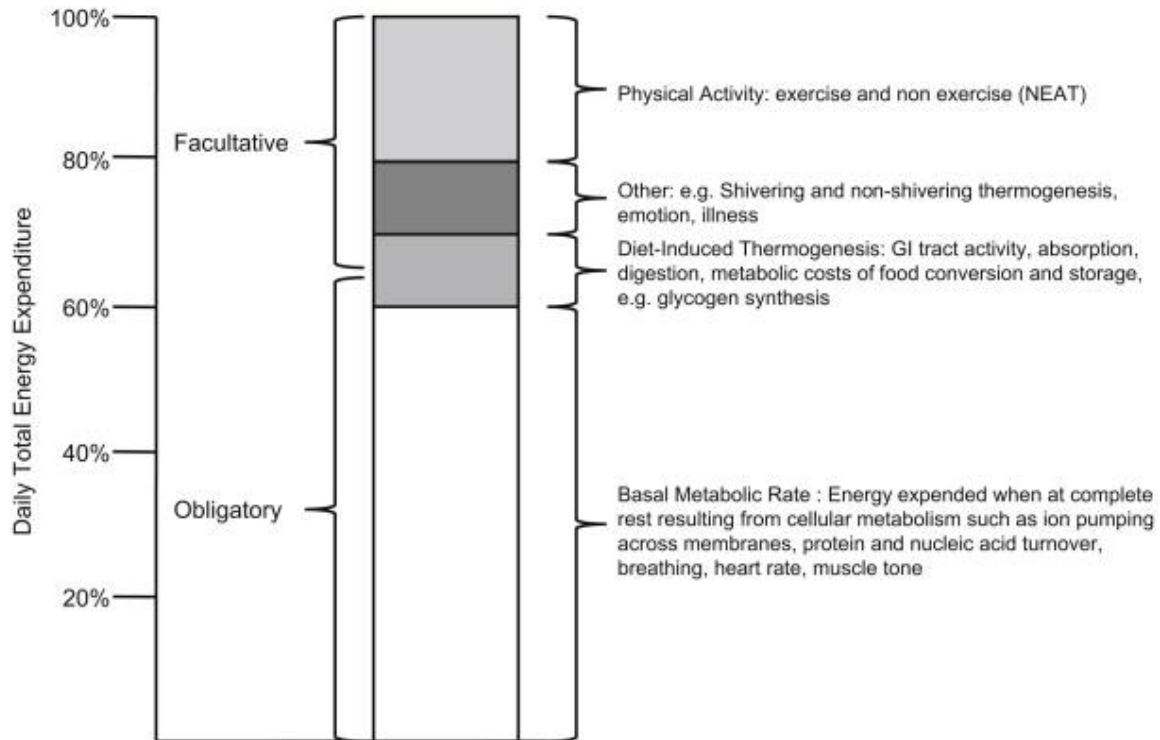


Figura 3 Invited review Central control of thermogenesis John C. Clapham

Le componenti possono essere obbligatorie, come il metabolismo basale e una percentuale di termogenesi indotta dalla dieta, o facoltative, attivate sia in acuto quando è richiesto ulteriore calore (come il riflesso dei brividi o l'attività fisica) o adattativo in risposta all'esposizione cronica a freddo. La termogenesi adattativa è ormai accertata nell'uomo (89).

La maggiore componente singola della TEE è il BMR; il BMR è altamente correlato con la massa magra, anche se la sua variabilità interindividuale è stimata al 26%, e appare correlata alla composizione corporea, all'età e alla tiroxina, ma non ai livelli di triiodotironina o di leptina. Il BMR rappresenta solitamente almeno il 60% della TEE (90).

ed è considerato predittivo di obesità e di difficoltà nel mantenere la perdita di peso (91).

Il BMR è definito come il minore livello di dispendio energetico sostenuto nella fase di digiuno e a riposo. In condizioni standard il BMR è sovrapponibile al consumo durante il sonno (92) e dev'essere misurato nelle seguenti condizioni:

- a digiuno da almeno 10-12 ore
- in posizione supina e rilassata, tale da ridurre al minimo l'attività muscolare
- con temperatura corporea normale

- a una temperatura ambiente neutrale (27-29°) per mantenere l'omeostasi termica
- in assenza di stimoli o stress psicologici e fisici.

La quantità di calore che determina BMR è la somma di tutti i processi metabolici a riposo.

Circa il 66 % del BMR è utilizzato per il mantenimento della temperatura corporea, mentre il resto è il risultato del lavoro necessario per mantenimento dell'integrità cellulare, i gradienti ionici, il turnover proteico e l'attività enzimatica (58).

Attività fisica

L'attività fisica si divide in volontaria e spontanea (NEAT, *Non-Exercise Activity Thermogenesis*), e contribuisce tra l'8 e il 15% alla TEE. (92).

In questo caso la termogenesi è dovuta a un'attività muscolare, e in particolare alla spesa energetica per la produzione di ATP necessario per lo scorrimento dei filamenti di actina e miosina e per le variazioni dei gradienti ionici cellulari. La maggior parte di essa è appunto volontaria: decidiamo se camminare o correre, prendere le scale piuttosto che l'ascensore o andare in palestra. Tuttavia c'è un sottocomponente apparentemente inconsapevole di attività fisica che contribuisce alla termogenesi, NEAT appunto (o attività fisica spontanea, SPA).

NEAT è rappresentata da tutto ciò che si fa senza rendersi conto, come movimenti inconsci, gesticolare, il mantenimento della postura e il tono di contrazione muscolare spontaneo. Le persone con un'alta NEAT appaiono resistenti all'obesità nonostante un'alimentazione abbondante; la NEAT appare correlata al CRH (58).

Per quanto riguarda la centrale di controllo della NEAT, essa è regolata da numerosi neuropeptidi che sono noti per essere coinvolti anche nell'omeostasi energetica, mentre le regioni del cervello interessate sono la regione locomotoria mesencefalica, il *locus coeruleus*, l'area ventrale tegmentale, la sostanza nera, il nucleo tubero-mammillare e il *nucleus accumbens*.

L'attività fisica sia spontanea che volontaria si riducono con l'età e in seguito a restrizione calorica (94)

Bassi livelli di attività fisica sono probabilmente attivatori di meccanismi che spingono l'organismo a mettere da parte le calorie, al di là della ridotta spesa energetica (95).

CIT

La CIT, termogenesi indotta dal freddo, può essere dovuta al tremore (*shivering*) o all'attivazione del tessuto adiposo bruno (BAT), descritto oltre (*non-shivering*) e tende a ridursi con l'età. È stimata attorno al 7% della TEE. La sua attivazione pare correlata con i recettori vanilloidi TRPV1 (96).

DIT

La spesa energetica è influenzata anche dalle risposte biologiche dovute a quanto (e quale) cibo si introduce (97).

La termogenesi indotta dalla dieta (DIT) è un aumento della produzione di calore rispetto al BMR dovuto all'azione di conversione del cibo in componenti atti ad essere utilizzati e conservati. Questo avviene tramite l'attività e il consumo di energia da parte di enzimi e trasportatori. Vi è inoltre un'attivazione del BAT in seguito a ingestione di cibo, probabilmente in seguito a stimolazione simpatica (98).

È generalmente una ridotta componente della spesa energetica complessiva, circa il 5-10 % e il determinante principale della DIT è il contenuto energetico degli alimenti (99).

I corpi chetonici che si formano durante le diete chetogeniche possono aumentare l'attivazione del BAT e concorrere al loro effetto dimagrante (100).

Gli esperimenti suggeriscono che la DIT sia regolata da circuiti neuroendocrini centrali (58).

Da tutto questo emerge così un ruolo delle componenti termogenetiche facoltative nella spesa energetica più importante di quello ritenuto nel recente passato e l'ipotalamo ne è ritenuto il *master controller* (58).

Infatti fegato, cuore e muscoli rappresentano una considerevole proporzione del peso corporeo e della sua massa metabolicamente attiva. Ma si deve considerare un altro tessuto con un alto potenziale termogenico, che invece rappresenta una percentuale molto bassa di peso corporeo. Si tratta del tessuto adiposo bruno (BAT): questo tessuto è essenziale per la *non-shivering thermogenesis* (termogenesi senza tremore) (101) e per il mantenimento omeostatico della temperatura.

L'elevata capacità termogenica di BAT è dovuta al disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa dalla produzione di ATP. L'energia generata dal consumo di ossigeno genera un potenziale di membrana che viene dissipato attraverso la produzione di calore piuttosto che quella di ATP.

Il disaccoppiamento è attivato dalla stimolazione β 3-adrenergica (102) e dall'esposizione al freddo.

L'importanza del BAT nella fisiologia umana è ancora sotto esame. Mentre nel neonato può rappresentare fino al 25% della massa grassa (103) negli adulti si pensava che contribuisse poco, appena lo 0.2%, della termogenesi (104).

Recentemente si è invece scoperto che anche gli adulti hanno quantità di tessuto adiposo bruno potenzialmente significative (105, 106). Tra i 10 e i 20 g di BAT possono avere un impatto positivo sul peso corporeo e la salute metabolica, e fare la differenza tra chi ingrassa e va incontro a malattie e chi rimane sano.

Il BAT appare meno attivo nei pazienti obesi rispetto a quelli magri (107) e l'alterazione della termogenesi e del tono ortosimpatico che la regola può essere correlate con l'obesità di un individuo (108).

Il digiuno, la scarsità di cibo, la restrizione calorica e l'infiammazione riducono l'attività tiroidea e di conseguenza l'attivazione del BAT (109) e la spesa energetica totale (110).

Anche il tessuto adiposo bianco può contribuire alla spesa energetica mediante le reazioni enzimatiche che sono coinvolte nella mobilizzazione dei lipidi (58).

Il corpo risponde alla sovralimentazione aumentando la spesa energetica, ma non si capisce esattamente variando quali componenti della spesa energetica (111).

Misurazione dell'energia spesa

Esistono diversi modi di misurare o meglio stimare la spesa energetica e pertanto la termogenesi: il gold standard è ritenuto la calorimetria (letteralmente misura del calore) diretta (112).

La calorimetria diretta misura il tasso di produzione di calore, di solito misurato come dispersione nell'atmosfera che circonda i soggetti. Circa l'80% del calore perso dal corpo umano è calore radiante mentre il calore residuo è perso per evaporazione. È utilizzata di rado e solo da strutture specializzate a causa degli alti costi.

Solitamente la calorimetria diretta viene effettuata in una camera isolata, adiabatica, dove il soggetto viene esaminato nell'arco di 24 ore in condizioni, alternativamente, di riposo, di lavoro e di attività ricreativa.

Il calore rilevato è dato per i 3/4 circa da perdite per conduzione e radiazione.

Per poter registrare la perdita di calore attraverso le componenti evaporative, occorre che l'aria in entrata nella camera metabolica sia condizionata a temperatura e umidità fisse. L'aria che esce dalla camera transita poi attraverso uno scambiatore di calore identico a quello in entrata, in modo da essere riportata nella camera alla temperatura e umidità iniziali.

Il calore estratto dall'aria in uscita rappresenta il calore perso attraverso l'evaporazione, che va sommato alla quota di calore disperso in processi non evaporativi.

La calorimetria diretta presenta dei punti di forza e dei limiti.

La misurazione della produzione totale di calore nei calorimetri diretti può essere di alta qualità, sicuramente i risultati sono riproducibili entro $\pm 1\%$ salvo la calibrazione.

È difficile dimostrare accuratamente la separazione della perdita di calore in componenti evaporative e non evaporative, parte del calore latente di vaporizzazione può essere fornito dall'ambiente piuttosto che dal soggetto.

Le difficoltà tecniche di esecuzione spiegano la riduzione dell'uso di questa tecnica in favore della calorimetria indiretta negli ultimi anni.

Esistono inoltre difficoltà operative. La dissipazione del calore all'interno del calorimetro da fonti diverse dal soggetto deve essere misurata con precisione.

Queste fonti, che comprendono gli scambi di calore radiante attraverso le finestre, il calore dissipato da pasti e bevande prima di essere consumati e il calore perso con gli escrementi, può contribuire fino al 15% del calore totale misurato (113, 114, 115).

Calorimetria indiretta

La calorimetria indiretta consiste invece nella misurazione dei gas respiratori, CO₂ prodotta e O₂ inspirato, di un determinato volume di aria espirata.

Questa metodica si basa su 2 principi:

- la prima legge della termodinamica (Legge della conservazione dell'energia), secondo la quale l'energia non può essere né creata né distrutta, ma solo trasformata. Questa legge può essere espressa con la seguente equazione:

$$\Delta E = dQ + dW + dR$$

ΔE = variazione dell'energia chimica

dQ = calore liberato dal sistema

dW = lavoro meccanico fornito

dR = altre forme di energia liberate

- l'energia prodotta dall'ossidazione dei cibi nell'organismo è uguale a quella prodotta dalla loro combustione nella bomba calorimetrica. La differenza è rappresentata dal fatto che nell'organismo l'ossidazione avviene a 37°C grazie ad una serie di enzimi che catalizzano le reazioni, mentre nella bomba calorimetrica l'ossidazione è diretta ed avviene a pressioni e temperature elevate.

In termodinamica non è tanto importante il tipo di reazione che avvengono, ma solo gli stadi iniziali e finali (reagenti e prodotti). Il nutriente ossidato viene trasformato in anidride carbonica ed acqua come nella bomba calorimetrica. Per quanto riguarda grassi e carboidrati, i prodotti finali dell'ossidazione sono CO₂ ed H₂O sia nell'organismo che nella bomba calorimetrica.

Come accennato prima, in molti studi sulla verifica del dispendio energetico la calorimetria indiretta ha rimpiazzato quella diretta poiché misura anche i tassi di ossidazione dei singoli macronutrienti.

Esistono 2 tipi di calorimetria: una "da camera" (*whole body*) e una "da campo" (*field methods*). La prima è molto simile come funzionamento alla camera per calorimetria diretta, solo che al posto del calore rilasciato

vengono misurati i gas respiratori. La camera è tipicamente arredata con un letto, una sedia, un tavolo, wc, lavabo, TV/computer, telefono, ed è presente una camera di compensazione utilizzata per il passaggio dei campioni alimentari e biologici tra soggetti e personale dello studio. Presenta difficoltà tecniche e costi simili alla calorimetria diretta.

I metodi da campo invece comprendono strumenti portatili o ambulatoriali che misurano gli scambi respiratori e quindi VO_2 e VCO_2 .

Talvolta gli strumenti ambulatoriali e da laboratorio meno evoluti fanno a meno della misurazione della CO_2 in modo da avere un solo analizzatore di gas, e funzionano ipotizzando il tasso di produzione di CO_2 ; in questo caso l'errore può essere di diversi punti percentuali, e i ricercatori ne devono tenere conto. Inoltre se è misurato solo il consumo di O_2 , non è possibile calcolare i tassi di ossidazione specifici dei macronutrienti.

La precisione dei metodi ambulatoriali e portatili è generalmente tra il +4% e il -2%. I metodi da campo rilevano l'aria espirata in un determinato periodo di tempo, in strumenti appositi come la "Douglas bag" o piccoli sistemi di analisi online collegati telemetricamente che analizzano il campione di aria ispirato ed espirato attraverso un boccaglio.

Dal VO_2 è possibile poi risalire alla TEE, conoscendo l'equivalente calorico per un litro di ossigeno (113).

Metodi non calorimetrici

Il dispendio energetico può anche essere stimato con metodi non calorimetrici; ad esempio diluizione isotopica con acqua doppiamente marcata (DLW) o misurazioni fisiologiche come il monitoraggio della frequenza cardiaca. Questi metodi sono molto utili per la stima dell'energia spesa in soggetti in ambiente aperto (116).

La DLW è considerata una delle tecniche più accurate per la stima della spesa energetica, utilizza isotopi stabili di idrogeno e ossigeno.

Essa si basa sulla quota di produzione e di escrezione urinaria di H_2O durante varie attività fisiche. La spesa energetica può essere calcolata conoscendo il valore dell'equivalente calorico per un litro di H_2O . L'acqua doppiamente marcata utilizza isotopi stabili ed è somministrata come un liquido dosato in base al peso corporeo. Tale tecnica fornisce una stima della TEE per uno specifico periodo di tempo, generalmente una o due settimane.

La DLW è tecnicamente un metodo di calorimetria indiretta anche se non si misurano gli scambi dei gas respiratori. Energia spesa, consumo di ossigeno, assunzione di acqua e produzione di acqua metabolica possono essere calcolati utilizzando le equazioni standard di calorimetria indiretta con un RMR stimato (113).

Monitoraggio della frequenza cardiaca

Il monitoraggio della frequenza cardiaca è stato impiegato per misurare la spesa energetica basandosi su una diretta relazione tra frequenza cardiaca e captazione di ossigeno durante attività tipiche. Tuttavia, non vi sono sufficienti evidenze che tale relazione sia così forte durante livelli di attività molto bassi o molto alti (117).

Temperatura corporea interna

La temperatura corporea interna è stata utilizzata in condizioni di laboratorio per stimare la spesa energetica. In condizioni controllate vi è una stretta relazione tra temperatura corporea interna e spesa energetica (118). Tuttavia, non si può considerare una efficace misura della TEE in altre condizioni (119), non potendo, quindi, essere utilizzato estensivamente in condizioni *free living*. Inoltre, a causa della sua natura invasiva, il metodo è impraticabile e sconsigliato per l'impiego su ampia scala.

Tabelle MET (Metabolic Equivalent)

Le tabelle MET specificano la spesa energetica per varie attività e classificano i livelli di attività in quattro categorie (leggera, moderata, pesante e molto pesante) (120). Una volta classificata l'attività, la spesa energetica può essere ragionevolmente stimata per specifiche attività o tipi di attività, soprattutto prendendo in considerazione il peso dell'individuo. Sebbene gli approcci che utilizzano le tabelle MET possono essere utili per la registrazione delle attività, la loro accuratezza dipende dalla attendibilità dell'auto-registrazione. Il limite più significativo nell'impiego delle tabelle MET è l'impossibilità di rilevare differenze individuali in pattern di movimento. Può anche essere problematico utilizzare le tabelle MET per stimare la spesa energetica durante attività non continue e che vengano interrotte da pause o periodi di riposo. Oltre ad essere difficile calcolare l'intensità assoluta di un'attività usando le tabelle MET, la percezione dell'intensità dello sforzo durante un'attività varia da individuo a individuo.

Equazioni di predizione del metabolismo basale

La spesa energetica basale (BMR) può essere attualmente stimata attraverso l'utilizzo di numerose formule predittive, variabili in funzione della tipologia dei soggetti presi in esame (età, sesso, antropometria ecc) (121).

Parametri individuali quali l'intake calorico e la composizione corporea (non presenti nelle formula prese in esame) influenzano in modo significativo il BMR. Tra le formule più frequentemente utilizzate nei soggetti normopeso e sani per predire la spesa energetica a riposo troviamo l'equazione di Harris-Benedict sottoposta a revisione (122), tuttavia l'equazione FAO/WHO/UNU (123) appare più accurata.

Le equazioni hanno discreta approssimazione nella popolazione generale, con una sovrastima attorno al 10% (124), tuttavia rimangono inaccurate se utilizzate nel paziente singolo, e non hanno grande valore nella popolazione anziana (125).

Holter metabolico

Esistono diversi apparecchi portatili che monitorano la spesa energetica mediante algoritmi che considerano il calore generato dal corpo e il movimento, utilizzando sensori di movimento e di temperatura.

Uno di questi è il SenseWear™ Armband (SWA), il cui uso è validato nella popolazione sana e moderatamente attiva (126).

Il SWA è uno strumento wireless, non invasivo, multisensore, che monitora l'attività fisica e la spesa energetica. Viene indossato sopra il muscolo tricipite.

L'apparecchio integra i segnali dati da cinque sensori incluso un accelerometro a due assi (la versione più recente disponibile include un accelerometro triassiale), un sensore di flusso di calore, uno di risposta galvanica della pelle, uno di temperatura cutanea e uno di temperatura ambientale.

I sensori di calore forniscono ulteriori informazioni sul costo energetico di un'attività, in quanto i periodi di maggiore lavoro sono associati ad un'incrementata produzione di calore.

Il produttore aggiorna periodicamente il software con nuovi algoritmi (127, 128).

Standardizzazione nella misura del metabolismo basale con IC

La misurazione del BMR è spesso un lavoro difficoltoso, così solitamente si preferisce misurare RMR (resting metabolic rate, spesa energetica a riposo); la sola differenza è data dal fatto che il BMR è misurato poco dopo il risveglio (circa 45 minuti), ma prima di alzarsi. (129) mentre RMR è misurato dopo che ci si alza (82).

Poiché i valori sono simili (RMR è superiore di circa il 3%), i due termini sono spesso usati in modo intercambiabile. Come detto prima solitamente BMR costituisce tra il 60 e l'80% della TEE giornaliera (79). È necessario innanzitutto che venga predisposto un ambiente in cui possano restare solo il paziente e il nutrizionista operante. Questa stanza deve essere in penombra e deve essere priva di oggetti che possano distrarre o attirare l'attenzione del paziente, in modo da limitarne l'attività mentale.

Il soggetto verrà fatto sdraiare su di un lettino in posizione supina, o seduto comodamente, in modo che si rilassi il più possibile. Quando si ritiene che il paziente sia perfettamente rilassato e a suo agio, si applicano il boccaglio respiratorio, o la mascherina, in modo che i gas espirati siano raccolti e convogliati ai rispettivi analizzatori. Solo una piccolissima quota di gas espirati viene convogliata agli analizzatori, mentre il resto viene rimandato all'esterno del calorimetro nell'aria ambientale.

Anche per questo motivo è necessario che al momento dell'esame ci siano poche persone nella stessa stanza, in quanto con la respirazione viene aumentata la CO₂ presente nell'ambiente e, dato che il calorimetro prende come riferimento le concentrazioni dei gas nell'ambiente come costante, verrebbe alterato l'esito dell'analisi. Prima di raggiungere gli analizzatori, i gas raccolti transitano in un flussimetro che misura il volume respiratorio.

Il gas espirato viene di norma analizzato ogni minuto (esistono apparecchi che possono adottare intervalli inferiori, per esempio 20 secondi), per calcolare il dispendio calorico riferito alle 24 ore.

Generalmente durante una analisi metabolica non tutti i valori misurati possono essere usati per determinare il BMR. Accade spesso che, nei primi minuti del test, il paziente non sia perfettamente rilassato, oppure che nel circuito interno vi sia ancora dell'aria proveniente dall'ambiente, quindi questi dati vengono scartati (113).

Misurazione dell'introito calorico

Valutare l'introito energetico giornaliero di un individuo è difficile se l'individuo non viene mantenuto in un ambiente controllato; per questo motivo la valutazione dell'introito energetico giornaliero in un individuo o nella popolazione viene eseguita attraverso uno studio delle abitudini alimentari; nell'effettuare questa valutazione ci si possono porre due obiettivi: quantitativi e qualitativi.

Nel primo caso si stimano l'introito energetico totale, l'energia associata ai macronutrienti e le relative percentuali, eventualmente l'introito di micronutrienti. Gli obiettivi qualitativi tendono a identificare lo stile alimentare.

La valutazione dell'energia introdotta può essere calcolata attraverso metodiche longitudinali e retrospettive: le metodiche longitudinali prevedono l'annotazione degli alimenti introdotti quando consumati, le metodiche retrospettive si basano sulla memoria degli alimenti consumati in un tempo precedente l'intervista.

Tra le metodiche longitudinali, viene tipicamente utilizzato il diario alimentare, che consiste nell'annotazione di tutti gli alimenti e bevande consumati, con quantità precise o approssimative.

Le metodiche retrospettive, includono la storia dietetica di 24 e 48 h e i questionari di frequenza.

Il diario alimentare può essere effettuato mediante registrazione simultanea dei cibi consumati, pesando quantità precise, o con l'annotazione di una stima approssimativa mediante misure domestiche (come un piatto o un cucchiaino). Sulla base della precisione osservata si ottengono obiettivi quantitativi più o meno precisi. Se viene fatta la sola registrazione del menù, gli obiettivi dovranno essere solo qualitativi.

Il diario alimentare può essere eseguito in forma aperta lasciando libertà al soggetto di indicare ciò che ha consumato, ma sempre includendo la colazione, il pranzo e la cena, oppure in forma chiusa (check list) somministrando al soggetto delle liste contenenti fonti di cibo e il soggetto indica se le ha o meno consumate. La forma chiusa può servire ad esempio per aiutare il soggetto che compila il diario, a ricordare il modo in cui ha consumato l'alimento, ma anche a fare in modo che alcuni alimenti non vengano trascurati; possono essere indicate anche le porzioni, esempio frutta più o meno 200gr, per accertarsi che il soggetto includa le quantità.

Il diario alimentare ha il vantaggio di fornire informazioni accurate dal punto di vista quantitativo e di non presentare il problema della memoria, però presenta anche alcuni svantaggi: la selezione del campione a cui sottoporlo, che deve saper scrivere ed essere motivato, e la possibile incompletezza delle informazioni fornite, che aumenta con l'aumentare dei giorni. Per questo motivo il diario non dovrebbe superare i sette giorni, si rischia altrimenti che il soggetto modifichi le proprie abitudini alimentari in vista dell'analisi e di non ricevere quindi una reale informazione sull'alimentazione abituale (130).

Le informazioni vengono poi analizzate attraverso software idonei.

Diversi studi mostrano che l'introito alimentare riportato nel diario alimentare può essere decisamente sottostimato (131); in uno studio per esempio è risultata un'assunzione di 700 Kcal inferiore rispetto alle esigenze metaboliche (132). Questa sottostima può essere il risultato sia di un'incompleta compilazione, sia dell'impatto del diario sulle scelte alimentari effettuate dai soggetti, inoltre può essere maggiore nei soggetti obesi (133) e in particolare nelle donne (134).

I metodi retrospettivi includono il recall delle 24 o 48 ore e i questionari di frequenza. Risultano più facili da attuare ma presentano il problema della memoria che dovrà avere l'intervistato, e non consentono una analisi quantitativa; il loro uso è prevalentemente epidemiologico.

La tecnica del recall consiste in un'intervista relativa all'assunzione di cibo e bevande nelle 24 o 48 ore prima dell'intervista, quello delle 24 ore è più usato per evitare errori di memoria. Il recall delle 24 ore presenta come vantaggio la rapidità di esecuzione, inoltre non c'è bisogno che l'intervistato sappia leggere o scrivere quindi può essere eseguito anche sui bambini o sulle persone di basso livello culturale. Tuttavia presenta lo svantaggio di fornire dati essenzialmente qualitativi.

Per quanto riguarda il questionario di frequenza, viene chiesta all'intervistato la frequenza del consumo di una lista di alimenti, per cui si hanno informazioni solo qualitative, adatte alle indagini epidemiologiche più

che a uno studio sul singolo individuo.

Il questionario è costituito da due sezioni: una elenca gli alimenti e l'altra chiede la frequenza di assunzione. Gli alimenti da inserire devono essere consumati spesso, e il consumo deve variare da un individuo all'altro per evidenziare le differenze all'interno della popolazione (130).

Bilancio energetico e controllo neuroendocrino del peso: l'importanza dell'ipotalamo

Negli anni 50 del secolo scorso un ricercatore, Gordon C. Kennedy, notò che in natura gli animali aggiustano il loro comportamento alimentare e la loro termogenesi perfettamente, senza aumentare sostanzialmente di peso.

Nei suoi esperimenti danneggiò l'ipotalamo dei ratti, per cui gli animali non furono più in grado di adattare il loro consumo calorico e il loro introito e diventavano iperfagici e obesi. Comprese così l'importanza dell'ipotalamo nella regolazione della spesa energetica.

Inoltre se si mettevano a restrizione calorica i ratti, fu osservato perdevano peso, ma una volta liberi di mangiare nuovamente tornavano al peso precedente. Formulò così l'ipotesi lipostatica (o del *set point*), e successivamente si comprese l'importanza di questo sistema omeostatico nell'evoluzione per superare le carestie e la penuria di cibo (135).

Infatti nonostante le variazioni quotidiane nell'intake di cibo e nel movimento quotidiano, nella maggior parte di noi l'assunzione di energia e la spesa energetica sono abbinati con grande precisione quando misurate su un lungo periodo. Questo fenomeno riflette un processo attivo di regolazione, chiamato omeostasi energetica, che promuove la stabilità nella quantità di energia immagazzinata dal corpo sotto forma di grasso, poiché l'apporto energetico complessivo e le spese sono finemente accoppiati (136).

Purtroppo per chi intende dimagrire, questo sistema omeostatico difende contro la perdita di peso con maggiore incisività rispetto a quanto faccia nei confronti dell'aumento di peso (137), verosimilmente perché si è evoluto principalmente per aiutare gli animali a sopravvivere ai periodi di carestia, piuttosto che di abbondanza.

L'efficienza del sistema di regolazione energetica vanifica la maggior parte dei tentativi di perdita di peso durevole e, finora, ha ostacolato lo sviluppo di farmaci antiobesità altamente efficaci (138).

Appetito e bilancio energetico sono regolati da numerosi e complessi circuiti neuroendocrini; quando si verifica una variazione nel bilancio energetico, la massa adiposa varia, però variano anche gli ormoni che la influenzano.

L'omeostasi energetica dipende così dal sistema nervoso simpatico, da quello melanocortinergico, ghrelina-NPY, CART e delle proteine disaccoppianti, messo in comunicazione col AT (139).

In risposta ai segnali periferici, provenienti dall'apparato digerente, si modifica il rilascio di ormoni, in particolare insulina dal pancreas e catecolamine dalla midollare del surrene (140).

Questi ormoni agiscono reciprocamente per regolare il bilancio energetico: in risposta ad una riduzione dell'introito calorico, aumenta l'*intake* di cibo e si riduce la spesa energetica per riportare il corpo in bilancio. Nel caso opposto, il corpo viene spinto a ridurre l'assunzione di cibo e aumentare il consumo (141).

Un eccesso di energia porta all'attivazione del sistema simpatico, che promuove la spesa energetica favorendo l'attività fisica e la termogenesi, incrementando la glicogenolisi e l'ossidazione degli acidi grassi nel muscolo e la lipolisi nel TA, inibendo il rilascio di insulina, l'ormone tipicamente anabolizzante che fa accumulare i grassi.

Un deficit energetico porta invece all'attivazione del sistema parasimpatico, in particolare il riflesso vagale, per promuovere l'accumulo delle calorie, aumentando l'assorbimento a livello gastrointestinale, la secrezione di insulina e la sua sensibilità a livello del TA e la ripartizione dei substrati verso il TA (141).

Regolazione

Il controllo del bilancio energetico è quindi un processo fisiologico altamente regolato da un complesso che coinvolge sia il sistema nervoso centrale che quello periferico.

Finché il sistema funziona correttamente, introito energetico e spesa sono perfettamente accoppiati, e non vi è variazione nella composizione corporea (142). se non minima, poco superiore a 0,2 kg/anno negli adulti (143).

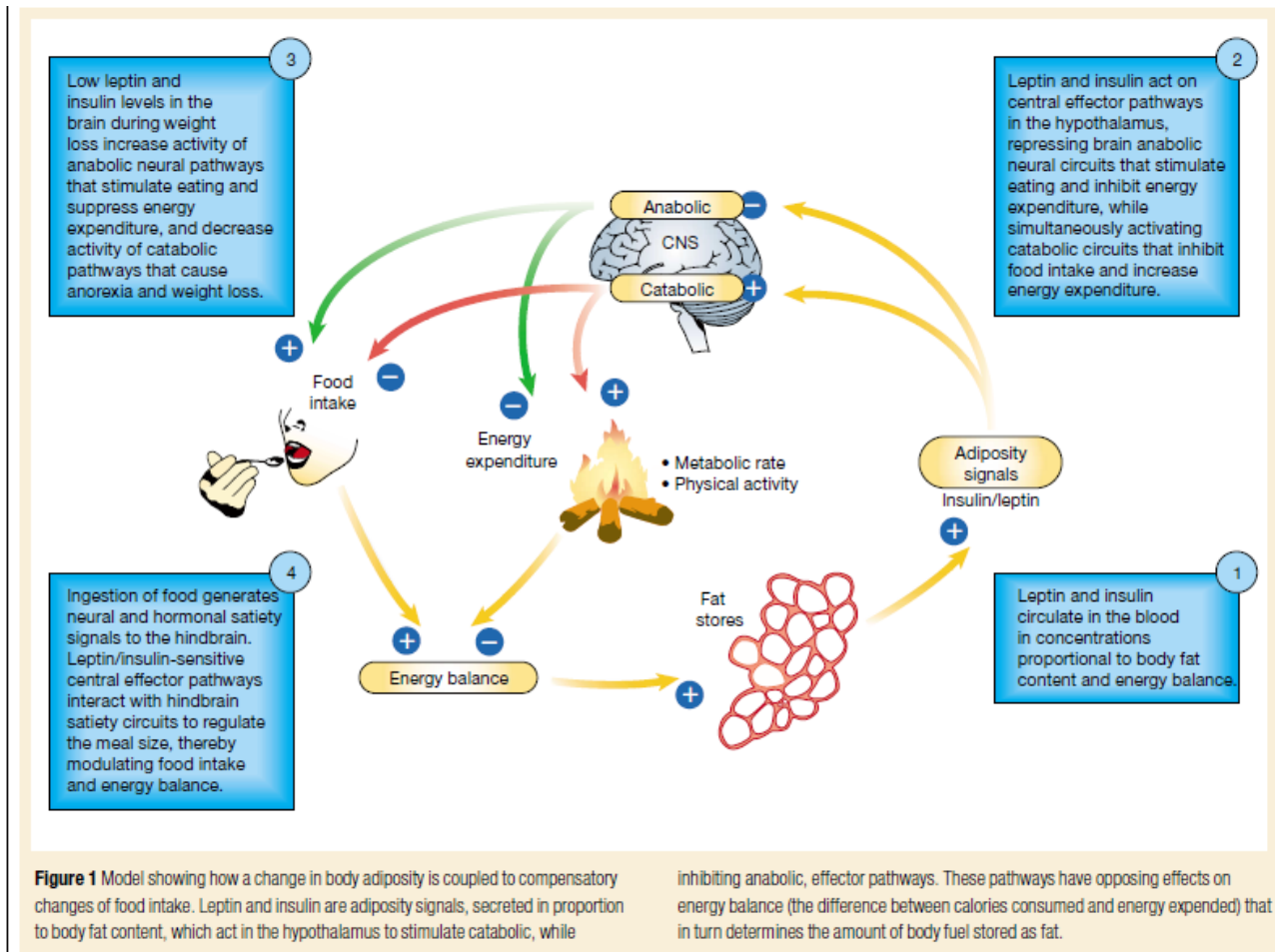


Figura 4 Nature. 2000 Apr 6;404(6778):661-71. Review.

Questo sistema è gestito da una rete neuroendocrina che influenza il destino metabolico dei nutrienti, in modo tale da stabilire quante calorie verranno estratte dal cibo, e quante calorie saranno messe da parte come riserva (accumulati negli adipociti bianchi) e quante invece ossidate.

Le complicanze metaboliche legate all'obesità non possono più essere attribuite esclusivamente all'assunzione di nutrienti in eccesso, ma molto probabilmente coinvolgono anche alterazioni di conversione, stoccaggio e utilizzo di sostanze nutritive, un processo integrato noto come *nutrient partitioning* (ripartizione, nel senso di destino metabolico, dei nutrienti) (144).

Il nucleo arcuato (ARC) dell'ipotalamo contiene diverse popolazioni di neuroni che sono appositamente posizionati vicini ad un punto di ingresso della barriera ematoencefalica, per integrare i segnali circolanti di fame e sazietà con i nutrienti.

Tra i neuroni di ARC, quelli POMC e quelli NPY/AgRP sono considerati come i due rami opposti del segnale melanocortinergico.

In particolare i neuroni NPY/AgRP attivano vie parasimpatiche che inibiscono l'ossidazione dei grassi, mentre l'attivazione simpatica ha effetti opposti (144).

Dallo studio delle varie funzioni metaboliche (lipolisi, termogenesi del tessuto adiposo, contrazione muscolare e selezione dei substrati, gluconeogenesi/lipogenesi epatiche e rilascio di insulina da parte del pancreas), è emerso che il sistema nervoso autonomo (ANS) modula l'attività degli organi efferenti, e questa è una componente fondamentale della risposta di adattamento integrato che parte dal cervello come risultato dell'integrazione di input afferenti ormonali e neurali che sono dovute anche ai nutrienti (144).

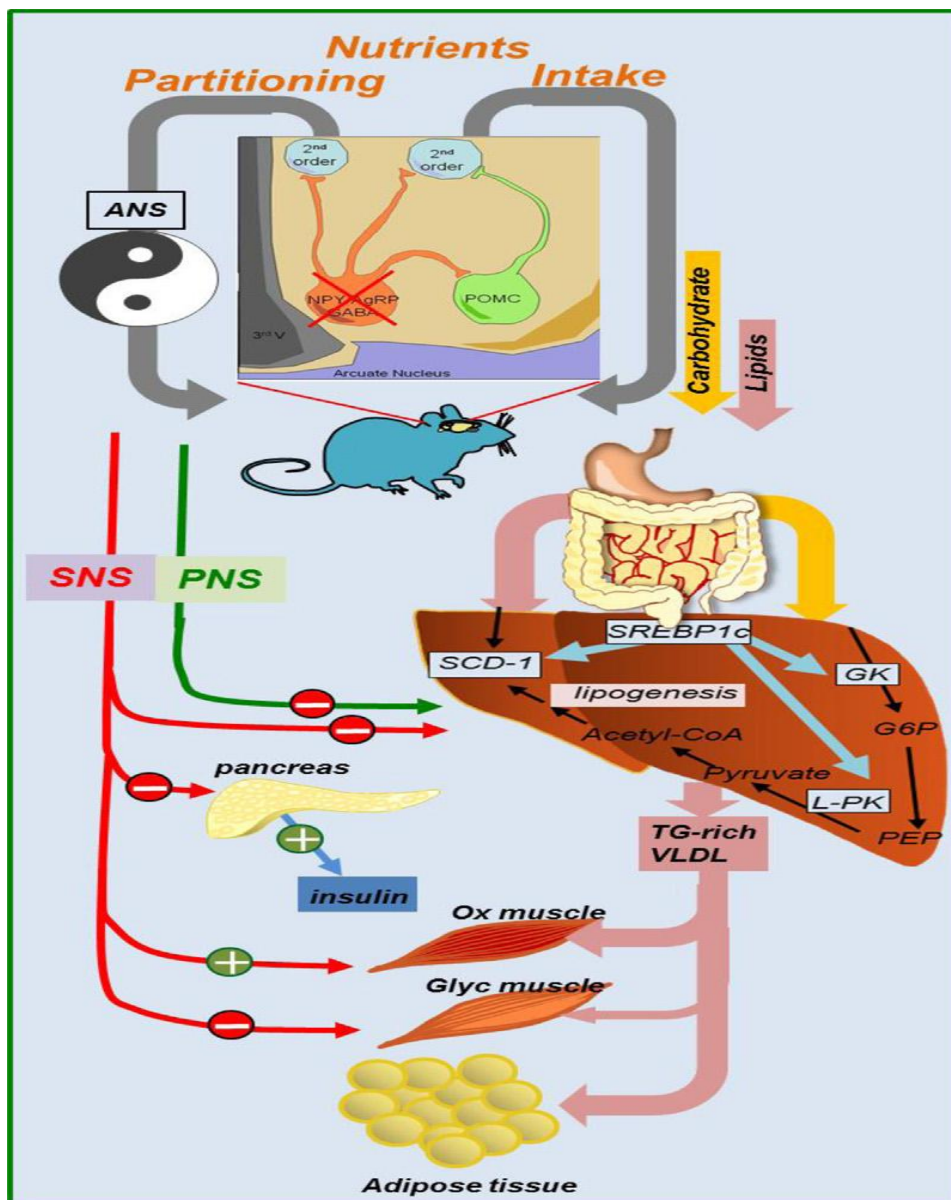


Figura 5 *Diabetes Metab.* 2014 Jun;40(3):191-7.

In particolare, è possibile individuare nel ANS tre distinte reti neuronali: ARN (appetite regulating network), EEN (energy expending network) e FAN (fat accrual network) (145).

La prima comprende una sottopopolazione di periciti del nucleo arcuato che coesprimono NPY, GABA, e agouti-related peptid (AgRP) e proiettano sia a livello locale nel ARC che dorsalmente nel PVN (nucleo paraventricolare); la seconda, EEN, è invece meno compresa a livello fisiologico, cellulare e molecolare, ma include i collegamenti neurali tra ipotalamo e BAT e l'espressione della proteina disaccoppiante UCP1.

L'interruzione di questi collegamenti in maniera chirurgica, o la riduzione della loro attività dovuta all'età o ad alimentazione scorretta, riduce il dispendio energetico e promuove la deposizione di energia non utilizzata sotto forma di grasso corporeo.

Il FAN regola invece la deposizione di grasso. Contrariamente a quanto per lungo tempo ipotizzato come paradigma, cioè che l'iperfagia da sola promuovesse l'aumento della quantità di grasso, è ora ampiamente chiaro che è l'iperinsulinemia derivante da una perdita del controllo ipotalamico della secrezione insulinica pancreatiche ad essere responsabile dell'aumento dell'appetito e della deposizione di grasso e questa è accompagnata dalla riduzione di assunzione di glucosio da parte di fegato, muscoli scheletrici e BAT, che invece aumenta nel WAT.

I segnali afferenti di feedback ormonale fanno sì che FAN colleghi gli organi periferici con l'ipotalamo per regolare la deposizione di grasso nel corpo.

Il funzionamento di queste reti avviene grazie all'integrazione dei segnali ormonali (adipostatici, anoressizzanti, oressizzanti) e nutrizionali, grazie al quale l'ipotalamo è costantemente informato sullo stato nutrizionale e delle riserve del corpo (145).

L'ipotalamo è quindi il vero centro di coordinazione dei segnali periferici, e ha una grande rilevanza sulla gestione della variazione di composizione corporea. Da questo piccolo organello infatti partono gli assi ormonali, in particolare tiroideo, somatotropo e corticotropo, che influenzano la deposizione e il mantenimento della massa magra e grassa e influenzano sia la spesa energetica che le sensazioni di appetito e sazietà (146, 147).

La malnutrizione materna, sia in senso di eccesso che di difetto, può regolare questi circuiti in modo da alterare la spesa energetica nella prole e predisporre alla futura condizione di sovrappeso/sindrome metabolica (148).

Anche lo stato psicologico di una persona influenza il bilancio energetico. Lo stress cronico può avere una risposta che è influenzata dal morfotipo, ma solitamente porta a ingrassare (149).

L'ossitocina, l'"ormone dell'amore", determina perdita di grasso (150).

La riduzione del sonno altera la spesa energetica, favorendo un bilancio positivo (151).

Infiammazione ipotalamica

L'obeso soffre di uno stato di infiammazione basale che va a alterare tutti i sistemi omeostatici (152).

L'infiammazione colpisce anche l'ipotalamo, probabilmente già prima dell'aumento di peso (153); viene meno così la sua regolazione sul mantenimento omeostatico della composizione corporea e sulle componenti del bilancio energetico. Essi vengono rapidamente e gravemente compromessi dall'eccesso di nutrienti, in particolare una dieta ricca di grassi saturi (154, 155).

Il TNF- α rilasciato da adipociti e macrofagi infiltrati nel tessuto adiposo viscerale appare giocare un ruolo importante nel determinare questa condizione. Le conseguenze sono una minore presenza di mitocondri e minore attivazione del BAT, riduzione dell'enzima desiodasi-2, con minore spesa energetica totale a parità di peso (153).

L'infiammazione ipotalamica concorre per cui ad una minore termogenesi, ma anche alla ridotta sensibilità all'insulina ed ad una alterata secrezione di questo ormone a livello pancreatico (156).

A livello molecolare è dovuta all'attivazione delle vie di IKK β /NF- κ B e JNK, originato dalla formazione di stress ossidativo, di stress nel reticolo endoplasmico e una difettosa autofagia.

In risposta all'obesità, si verifica un'ipertrofia reattiva che compromette la struttura e la funzionalità dell'ipotalamo.

L'infiammazione sistemica che insorge nell'obeso e sia causa che effetto della rottura dell'omeostasi del controllo della composizione corporea

Tutti questi processi sono interconnessi e l'infiammazione è sicuramente concausa di perdita di sensibilità all'insulina e alla leptina, che sono prerequisiti per lo sviluppo dell'obesità (153).

Il segnale di *downstream* leptinico, descritto meglio più avanti, è infatti diminuito dallo stato infiammatorio (157) e così quello insulinico (158).

Inoltre, l'ipotalamo è costituito da un tessuto altamente plastico in fase di costante rimodellamento sinaptico-neuronale in risposta ai nutrienti e agli ormoni. Gli astrociti e la microglia giocano un importante ruolo in questi processi.

L'alimentazione di tipo occidentale quindi, ricca di grassi saturi e zuccheri semplici, favorisce l'apoptosi dei neuroni anoressizzanti e riduce il senso di sazietà e la spesa energetica (159).

Anche il segnale della grelina, ormone oressizzante, non viene percepito correttamente e aumenta quindi il senso di appetito (160).

Tutte queste alterazioni del sistema provocano quindi una perdita della regolazione ipotalamica, e tendono a far mangiare più del necessario e regolare la spesa energetica al ribasso (161).

La chirurgia bariatrica agisce anche con la riduzione dell'infiammazione ipotalamica e la rimodulazione dei circuiti di questo organello in modo da favorire la spesa energetica senza necessità di alte introduzioni caloriche (162).

L'infiammazione ipotalamica indotta dall'ipernutrizione dà come conseguenza obesità, mentre paradossalmente l'infiammazione indotta dall'iponutrizione determina anoressia (161).

Controllo dell'appetito

L'ipotalamo è anche il centro di gestione dell'appetito e del comportamento di motivazione al cibo e alla sua ricerca (163).

I neuropeptidi rilasciati dai neuroni ipotalamici svolgono un ruolo importante nella regolazione dell'alimentazione, agendo sia all'interno dell'ipotalamo sia in altri centri che regolano l'appetito in tutto il cervello.

I loro segnali arrivano sia con la via classica all'interno delle sinapsi che nello spazio extrasinaptico, diffusi a distanze maggiori in modo da agire sui neuroni che esprimono i recettori presenti in aree vicine e lontane.

Oltre ad influenzare il comportamento alimentare, i neuropeptidi agiscono anche come neuromodulatori: modificano la risposta dei neuroni sia in risposta ai neurotrasmettitori che alle concentrazioni plasmatiche di nutrienti.

Diversi ormoni influenzano i meccanismi d'azione dei neuropeptidi ipotalamici implicati nel comportamento alimentare. Tra loro troviamo MCH, le orexine, l'ormone α -melanotropo (α -MSH), AgRP, neuropeptide Y (NPY), ossitocina. Tra quelli periferici che agiscono sull'ipotalamo invece i più importanti sono grelina, neuropeptide W e i peptidi galanino-simili (164).

Aspetto edonistico

L'aspetto edonistico del cibo incide sul bilancio energetico, aumentando l'appetito e la motivazione per cibosappazzatura ad alto contenuto calorico e basso livello nutrizionale (165).

Il sistema mesolimbico è adiacente all'ipotalamo e dialoga con esso per rinforzare la motivazione al cibo, in particolare nei confronti del *junk food*; spesso questo dipende dall'esperienza che il nostro corpo acquisisce assumendo tali cibi, ossia impara ad associare le sensazioni visive, olfattive e tattili alla facile reperibilità di calorie (141, 166).

Essi riducono inoltre il senso di sazietà e hanno quindi effetto deleterio sul sistema di gestione della composizione corporea e sono sicuramente implicati con la genesi dei disturbi del comportamento alimentare (167).

Tra i modulatori del sistema mesolimbico troviamo endocannabinoidi (138) e oppioidi/endorfine (168), che conferiscono il senso di benessere postprandiale tipico della *food addiction* (dipendenza da cibo). Questo avviene tramite l'attivazione di circuiti dopaminergici e serotoninergici.

Gli endocannabinoidi influenzano al ribasso anche la spesa energetica, e attivano i circuiti tipicamente anabolizzanti (adipogenesi, lipogenesi e sintesi del colesterolo) (138).

Attualmente si ritiene che i cibi industriali ad alta palatabilità riescano a modificare i circuiti ipotalamici e quelli attigui della ricompensa (sistema limbico) in modo da alterare sia l'appetito che la spesa energetica, concorrendo in modo attivo all'epidemia di obesità.

Essi agiscono aumentando la pressione edonistica, cognitiva e/o emotiva verso il segnale dell'appetito, soprattutto in persone geneticamente predisposte. Questo sistema si è evoluto per garantire un adeguato apporto di sostanze nutritive, ma in ambienti che richiedevano un elevato livello di attività fisica. In queste persone i segnali di sazietà (leptina in particolare) non sono in grado di sopprimere l'appetito "edonistico" (166, 169).

Stress, mancanza di sonno ed esposizione al cibo stimolano il sistema prefrontale ad abbandonarsi alla tentazione, e per questo sarà necessario in futuro concentrarsi anche su questo aspetto (170).

Segnali periferici ormonali e bilancio energetico

Le molecole che sono in grado di influenzare il comportamento alimentare e il dispendio energetico scoperte oggi sono più di 50, e il loro numero continua a crescere (143).

Nella sezione seguente è presente una descrizione di quelle più conosciute e rappresentative.

I due principali ormoni periferici influenzanti la regolazione del peso e l'appetito sono leptina (171) e grelina (172), rilasciati rispettivamente dal tessuto adiposo (AT) e dallo stomaco. Il primo blocca l'appetito e aumenta il metabolismo e la termogenesi, mentre il secondo ha effetti opposti. Sono dunque ormoni tra loro antagonisti.

Leptina

La leptina è un ormone che viene rilasciato in seguito ad ingestione di alimenti in proporzione alla quantità di AT. La sua funzione è dunque adipostatica: segnala all'ipotalamo che le riserve perse durante il periodo di digiuno sono state ripianate (171).

Leptina e insulina (illustrata più avanti) agiscono direttamente attraverso i loro recettori per stimolare i neuroni che producono POMC. Questa proteina precursore viene tagliata e rilascia melanocortina (α -MSH), un neuropeptide che attraverso i recettori MC4R e MC3R esercita effetti catabolici, riduzione dell'assunzione di cibo e aumento del dispendio energetico. Al contrario, la grelina stimola l'attività dei neuroni adiacenti che producono i neuropeptidi anabolizzanti NPY e AgRP. Esistono diversi tipi di interconnessione tra neuroni NPY/AgRP e cellule POMC, che coinvolgono GABA, MC3R e Y1R, in modo che l'attivazione di un tipo neuronale inibisca l'altro e viceversa (163).

La leptina per arrivare all'ipotalamo ha necessità di oltrepassare la barriera ematoencefalica (BBB) tramite un trasportatore specifico saturabile insulino-indipendente (173).

Eccessivi livelli plasmatici dell'ormone, causati da una costante ingestione di energia in eccesso, infiammazione e stress del reticolo endoplasmatico, non possono quindi giungere all'ipotalamo e/o attivare correttamente i circuiti dell'omeostasi energetica (157), e questo fenomeno sta alla base della resistenza leptinica, e per via indiretta, influisce pure su quella insulinica (174).

L'ipotalamo non riesce più a ricevere informazioni corrette sulla quantità di riserve energetiche (TA) che sono alla base del sistema omeostatico di mantenimento della composizione corporea (175).

La resistenza leptinica è ritenuta pertanto delle maggiori cause di instaurazione e mantenimento dell'obesità (173).

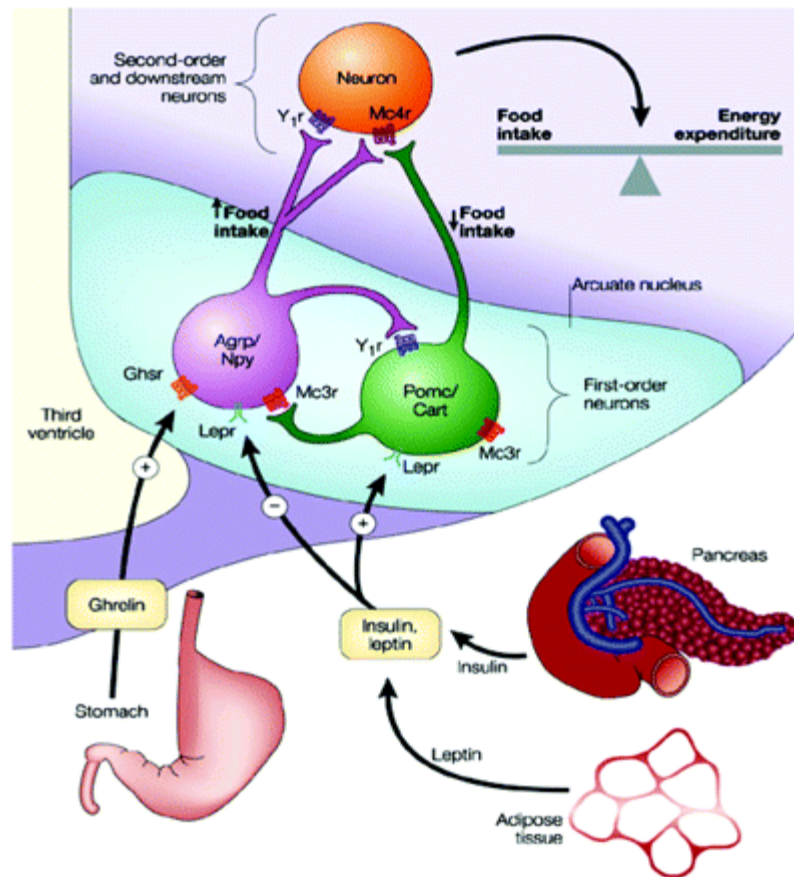


Figura 6: Target ipotalamici dei segnali di adiposità circolanti

Endocr Rev. 2006 Dec;27(7):779-93 1

L'eccesso di leptina è anche tra le cause della maggiore prevalenza di malattie autoimmuni (176) e di ipertensione che spesso si manifestano nei pazienti obesi (177).

Quest'ultima è causata anche dal rilascio di angiotensinogeno da parte del AT (178).

Lo stato di una persona weight-reduced (che abbia affrontato un periodo di restrizione calorica) è quello di un relativo deficit di leptina e quindi di riduzione del metabolismo (143).

Grelina

La grelina, ormone prodotto principalmente nello stomaco, rappresenta il principale ormone gastrointestinale con azione oressigena che è stato identificato sino ad ora (179). Questa si lega al recettore GHSR (growth hormone secretagogue receptor) che è altamente espresso nell'ipotalamo e nel tronco encefalico.

La somministrazione centrale di grelina aumenta la trascrizione dei neuropeptidi oressigeni NPY e AgRP e inoltre aumenta la attività dei neuroni AgRP.

La grelina stimola l'appetito sia negli individui magri che in quelli obesi e l'infusione intravenosa in individui sani in concentrazioni simili a quelle osservate dopo 24 ore di digiuno, ha mostrato un aumento dell'assunzione di cibo di circa il 30% (179).

Questo avviene anche mediante un'interazione col sistema endocannabinoide (180). Inoltre, l'infusione di grelina o degli agonisti del GHSR aumenta il peso corporeo attraverso delle azioni proressigene e/o causando una diminuzione del dispendio energetico. La grelina inoltre influenza il peso corporeo riducendo la metabolizzazione dei grassi e stimolando la formazione di nuove scorte (179)

La grelina aumenta l'adipogenesi e riduce termogenesi e lipolisi, attraverso la riduzione del tono simpatico (181).

Altri ormoni implicati

L'insulina è un ormone rilasciato dalle β -cellule pancreatiche in seguito all'ingestione di nutrienti e in particolare glucosio. È in pratica l'unico ormone ipoglicemizzante e anabolizzante dell'organismo, ossia che stimola l'immagazzinamento dei nutrienti sotto forma di glicogeno, proteine e grasso.

La resistenza insulinica, spinta dallo stato infiammatorio, è un fattore che altera la composizione corporea favorendo l'accumulo di grasso (182, 183).

Il polipeptide pancreatico (PP) è sintetizzato dal pancreas endocrino e in misura minore dal colon e dal retto; i suoi livelli nel sangue sono bassi in condizioni di digiuno e aumentano in proporzione all'introito calorico (184).

La somministrazione periferica nei roditori determina una riduzione dell'espressione dell' mRNA di NPY nell'ipotalamo, causando un aumento del dispendio energetico e una riduzione del peso corporeo; le vie metaboliche nell'uomo non sono ancora stati del tutto chiarite (184).

Un altro peptide gastrointestinale con azioni simili è il peptide YY (PYY) rilasciato dalle cellule L intestinali. I suoi livelli circolanti sono influenzati dalla composizione del pasto e dal suo contenuto calorico. Come per il PP, la somministrazione periferica inibisce l'assunzione di cibo (184).

Un altro ormone con azione anoressizzante è il glucagon-like peptide 1 (GLP-1) che insieme al gastric inhibitory polypeptide (GIP) fa parte degli ormoni incretinici, rilasciati dall'intestino in seguito all'ingestione di glucosio o di nutrienti per stimolare la secrezione di insulina da parte delle cellule β pancreatiche. In particolare la sua concentrazione è proporzionale ai nutrienti e alle fibre ingerite (185).

Il GIP and il GLP1 esercitano i loro effetti legandosi a specifici recettori: il GIP receptor (GIPR) e il GLP1 receptor (GLP1R), che appartengono alla famiglia dei recettori associati a proteina G (186).

Sia la somministrazione centrale che quella periferica degli agonisti del GLP-1 hanno determinato un aumento della sazietà e della termogenesi, una riduzione dell'assunzione di cibo e del peso corporeo nei roditori e nell'uomo (184).

Il GIPR è espresso nel nucleo arcuato e in altre regioni ipotalamiche coinvolte nella regolazione dell'assunzione di cibo, e la distruzione del nucleo arcuato abolisce gli effetti inibitori del GLP-1 sull'assunzione di cibo (187).

Il GIP è prodotto dalle cellule K del digiuno e del duodeno, e nel cervello regola appetito e sazietà.

Come nel caso del GLP-1, può determinare una riduzione dell'assunzione di cibo, probabilmente attraverso l'inibizione dei neuroni orexigeni che esprimono NPY (186).

Il tessuto adiposo è classificabile in 2 categorie: bianco (WAT), e bruno (BAT). Esistono anche altri tipi di adipociti (rosa e beige), individuati recentemente, con caratteristiche intermedie (190, 191).

Entrambi hanno la possibilità di immagazzinare grandi quantità di energia, ma il secondo ha una capacità ossidativa molto maggiore sotto controllo endocrino e nervoso, contribuendo alla termogenesi nel neonato ma, anche se in misura minore, pure nell'adulto, come indicato precedentemente (58).

Un fattore conosciuto che stimola la trasformazione degli adipociti bianchi in bruni (quindi con maggiore capacità ossidativa) è l'irisina, una miochina rilasciata dai muscoli in seguito all'esercizio fisico. Essa protegge anche dal diabete perché stimola la rigenerazione delle β -cellule pancreatiche (193, 194), ed agisce positivamente sulla massa ossea (195).

Inoltre è possibile individuare, come accennato prima, 2 tipi di grasso in base alla localizzazione: sottocutaneo e viscerale. Il secondo è notoriamente associato ad infiammazione a causa dell'infiltrazione linfocitaria e al rilascio di numerosi fattori proflogogeni, tuttavia anche il sottocutaneo è stato recentemente associato al rischio metabolico a causa del maggiore rilascio di leptina e al probabile legame con la resistenza leptinica (196).

Cronobiologia e bilancio energetico

La cronobiologia si riferisce al cambiamento di una funzione biologica in relazione all'orario della giornata o di un altro lasso di tempo.

I ritmi circadiani (riferiti alle 24 ore) sono dipendenti dalla regolazione del nucleo soprachiasmatico, nel cosiddetto *master clock*.

Molti modificatori molecolari del bilancio energetico agiscono sotto il controllo dei cosiddetti *clock genes*. Luce e cibo sono potenti modulatori di questi geni.

L'assunzione regolare di cibo, senza lunghi periodi di digiuno sembra associato ad un miglior controllo del bilancio energetico (141), anche se la pratica del digiuno intermittente sta emergendo come potenzialmente benefica (197, 198).

Anche se non vi è consenso unanime tra i ricercatori, sta emergendo il ruolo fondamentale della colazione nel tenere alto il metabolismo. Questo perché, a causa dei ritmi circadiani del rilascio di ormoni, le calorie assunte nella prima parte della giornata contribuiscono all'innalzamento della spesa energetica e alla sazietà durante il resto del giorno (83, 199, 200).

Dividere le stesse calorie in più pasti appare ugualmente vantaggioso per tenere alta la spesa energetica, mentre saltare i pasti potrebbe avere effetti sfavorevoli (83); una metanalisi non ritiene però questo fatto dimostrato (201).

Altri ormoni e sistemi alterati nell'obesità

L'instaurarsi dell'obesità ha come conseguenze l'alterazione dell'asse dell'ormone della crescita (202), di quello surrenalico (145), di quello riproduttivo (203).

Inoltre risultano alterati il sistema endocannabinoide (204) e delle endorfine (168) con una costante propensione alla ricerca e al consumo di cibo.

L'obesità è associata anche con una costante inattivazione della AMPK, una proteina altamente conservata negli organismi eucarioti, ritenuta una *switch* del metabolismo che favorisce l'ossidazione dei substrati e blocca la proliferazione cellulare e la sintesi proteica (205), e con una alterata microflora intestinale e quindi del suo sistema immunitario e endocrino (206).

Critiche al metodo del conteggio calorico

La caloria non era in origine l'unità di misura del calore del primo sistema metrico, e il primo ad utilizzarla in nutrizione fu Atwater nel 1887 (207).

Il criterio che mette al centro le calorie è sotto critica (23, 208, 209, 210).

Questo è dovuto in particolare allo scarso successo delle diete ipocaloriche sul lungo periodo (211), ai molti parametri che influenzano il *nutrient partitioning* e alla problematica quantità di calorie nella fase dinamica necessaria per continuare a perdere peso (97, 212).

Qualunque dieta sembra funzionare nei primi mesi, ma nel lungo periodo quello che sembra più importante per mantenere il peso perso e la salute cardiometabolica è privilegiare il cibo sano e saziante, cioè cereali integrali, frutta fresca e oleosa, verdura, pesce, yogurt, legumi, ed evitare cibi processati e raffinati (213, 214).

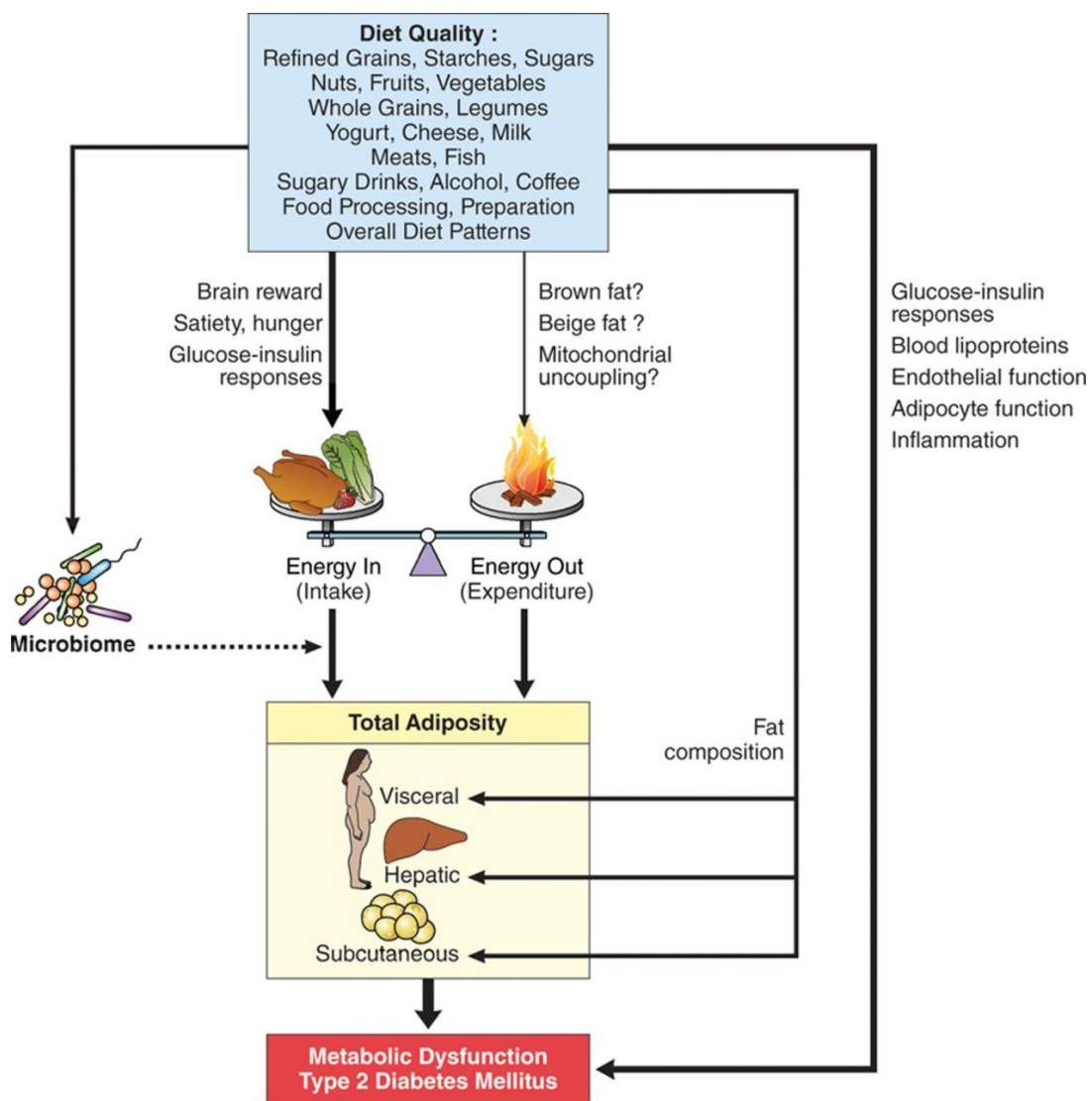


Figura 8 <http://circ.ahajournals.org/content/133/2/187/F4.large.jpg>

Molti lavori dimostrano che è possibile mangiare con più bassa densità energetica ma con una miglior qualità, quindi con cibi più ricchi di nutrienti e sazianti, in modo da avere migliore outcome (35, 61, 215, 216).

Potrebbe essere quindi più efficace l'aumento dell'attività fisica rispetto al taglio calorico, e in particolare un'attività breve ma intensa piuttosto che una leggera e continuativa (217).

L'insieme degli errori, anche se modesti, nel calcolo del bilancio energetico possono influire in maniera determinante, dato che la somma può facilmente arrivare alle 1000 kcal/die, e ridurre l'utilità degli sforzi fatti per ridurre il peso (218).

La frase una "una caloria è una caloria " (o "tutte le calorie sono uguali") è ormai messa in dubbio anche dal punto di vista termodinamico (219, 220), in quanto, biologicamente parlando, gli effetti delle calorie sono diversi a seconda del macronutriente di provenienza (219).

Ad esempio a seconda dei macronutrienti ingeriti cambiano le risposte ormonali e quindi di spesa energetica successiva al pasto (221).

Anche l'ingestione di cibi industriali processati ha determinato un calo nella spesa energetica post-prandiale in un piccolo studio, rispetto al cibo non processato (222).

Il fruttosio industriale ha un effetto di inibizione dell'ossidazione lipidica e quindi favorisce l'accumulo di grasso (223).

Gli organismi viventi sono dei sistemi aperti, non certo in equilibrio termodinamico, e l'efficienza termodinamica e quindi il rilascio di calore dipende in parte dalla via metabolica utilizzata e dal macronutriente.

La seconda legge della termodinamica considera il parametro dell'entropia, ossia dell'inevitabile aumento del caos in un sistema: mentre l'energia è conservata, l'entropia deve inevitabilmente aumentare. La misura in cui energia e materia sono distribuiti tra calore, legami chimici, lavoro e prodotti escreti è condizionata così dalla via metabolica specifica utilizzata (224).

Stanno così emergendo nuovi criteri da prendere in considerazione contestualmente o alternativamente al calcolo calorico, in quanto l'ossidazione degli alimenti nella bomba calorimetrica non fornisce una riproduzione esatta di quanto avviene nel corpo (225).

La risposta insulinica di un pasto sembra più predittiva delle calorie nei confronti dell'aumento di peso (226) e l'iperinsulinemia si instaura prima dell'obesità, in modo da favorire l'aumento di peso e la riduzione della spesa energetica, essendo quindi una causa e non necessariamente una conseguenza (227).

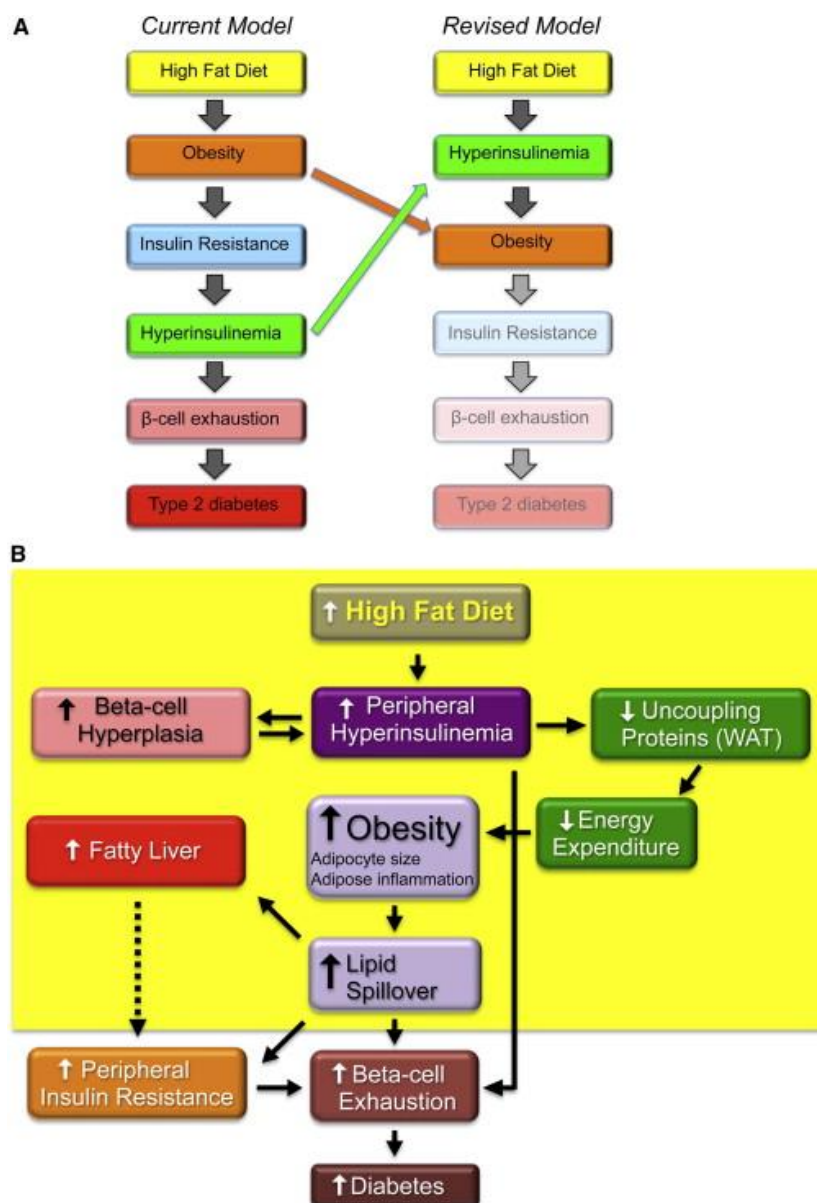


Figura 9 Cell Metab. 2012 Dec 5;16(6):723-37

È quindi consigliabile puntare sulla qualità del pasto più che sulla quantità, non trascurando indice e carico glicemico e qualità dei grassi (228), insomma concentrarsi più sui cibi che sulle percentuali di nutrienti (229, 230) o ancora meglio sui cibi ad alta densità nutrizionale piuttosto che sulle calorie (231).

Un semplice surplus calorico aumenta il grasso corporeo, mentre un surplus proteico sembra associato ad un aumento non solo di peso ma anche della massa magra (232).

Notoriamente l'uso di zuccheri aggiunti è correlato con aumento di peso e mortalità (233), anche se una metanalisi non chiarisce se sia dovuto all'eccesso calorico o all'alimento in sé (234).

In alcuni casi l'uso dei carboidrati è associato ad un maggiore aumento di peso rispetto ai grassi, a parità di calorie (235).

Consigliare di variare spesso gli alimenti e mangiare un po' di tutto non sembra coincidere con una buona qualità della dieta e un miglior risultato di salute (236).

Anche il tipo di microbiota influenza l'estrazione delle calorie dalla dieta (237).

Un alimento tipicamente ipercalorico come la frutta oleosa non è associato ad aumento di peso (32, 238), probabilmente perché l'organismo non riesce ad estrarre tutte le calorie che possiede (239).

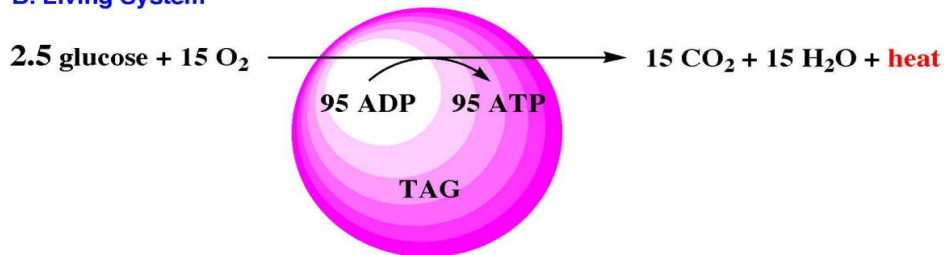
Dimagrimento, weight cycling e difficoltà a mantenere il peso perso

Seguendo la regola del bilancio energetico, il dimagrimento è provocato da una riduzione delle entrate rispetto alle uscite, ossia il bilancio deve diventare negativo. In questo modo l'organismo deve ricorrere al consumo delle riserve interne per far fronte alla riduzione dell'energia in entrata.

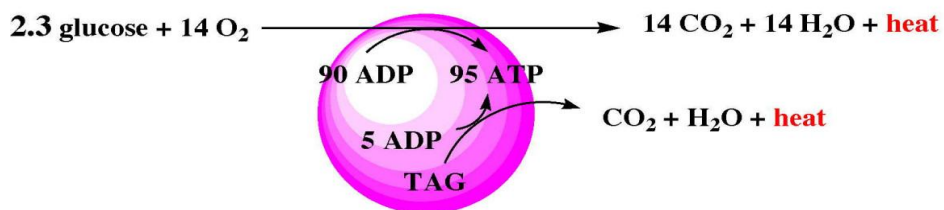
A. Calorimeter



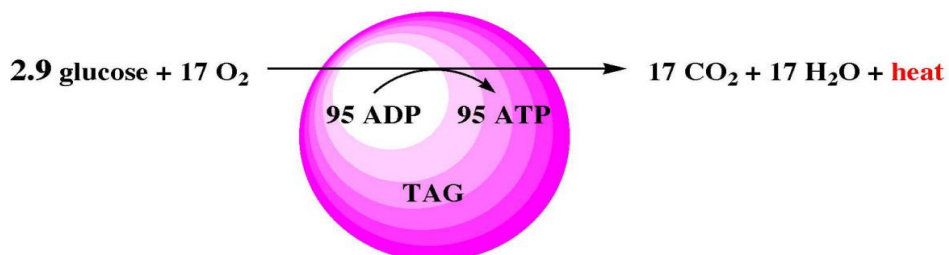
B. Living System



C. Eat less, lose weight



D. Reduced Efficiency: eat more, maintain weight



E. Reduced Efficiency: eat same amount, lose weight

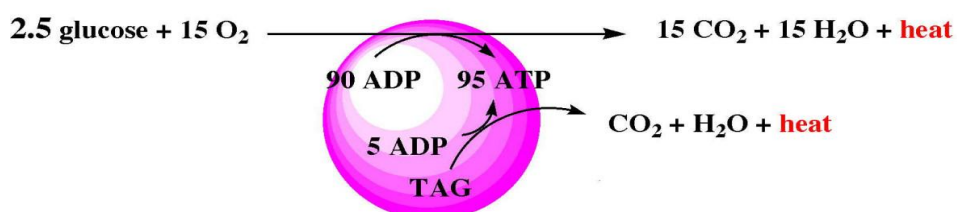


Figura 10 Nutrition & Metabolism 2004, 1:15

Chi si mette che dieta per perdere peso raramente riesce e mantenere il peso perso nel lungo termine. Però spesso recupera il peso e tenta di nuovo. Questo modello di andamento "a yo-yo" è chiamato più correttamente "*weight cycling*", e si riferisce allo schema ripetitivo di perdita e riacquisto di peso (240, 241). Un articolo segnala la carenza di studi sul bilancio energetico in questo particolare sottogruppo di obesi (218).

Dopo l'inizio di una dieta ipocalorica, accade solitamente che il dimagrimento si blocchi dopo alcuni mesi.

Questo accade per ragioni di risposta biologica che influenzano la termodinamica, e in particolare perché la dieta ipocalorica diventa nel tempo isocalorica, e il dimagrimento tende ad assestarsi ad un peso attorno al quale oscilla di poco; la spesa energetica va ad eguagliare l'introito che inizialmente era invece inferiore al consumo.

Quando il bilancio energetico non è in equilibrio la regolazione dell'espressione genica cambia drasticamente e così il destino delle calorie introdotte (242).

L'attività fisica costante è fondamentale per prolungare il mantenimento del risultato ottenuto (243).

Secondo il modello dei punti convergenti (*settling point*) che integra quella più semplice del *set point*, si è formato un nuovo equilibrio che è mantenuto finché non intervengono nuovi fattori ambientali a cambiarlo (244, 245, 246), come ad esempio l'abbandono della dieta e/o dell'attività fisica.

Il dimagrimento è sempre inferiore a quello previsto nei modelli matematici statici, per gli adattamenti metabolici che sorraggiungono che non sono considerati (247, 248).

Dagli esperimenti di Ancel Keys nel dopoguerra (Minnesota Experiment) sappiamo che il corpo reagisce ad una condizione di restrizione calorica abbassando la spesa energetica, e nel momento della rialimentazione essa rimane ribassata fino a quando non si è raggiunto il peso precedente, e qualche volta anche di più.

Questo rispecchia il modello lipostatico di Kennedy, ed è dovuto al fatto che la massa grassa si recupera più velocemente di quella magra, che è quella metabolicamente attiva. Ogni volta che si applica una restrizione calorica si tende quindi ad avere una diminuzione della spesa energetica sul lungo periodo.

Per questo si è coniato l'espressione "più si sta a dieta e più si ingrassa" ("*repeated overshoot theory*") (240, 249, 250, 251).

Negli anni successivi le persone sottoposte alla restrizione nel Minnesota Experiment ebbero problemi psichici che sfociarono in disordini del comportamento alimentare per arrivare sino all'automutilazione (252, 253).

Il maggiore ostacolo al trattamento dell'obesità ottenuto inducendo una restrizione calorica è il recupero del peso (259); questo si verifica perché l'organismo entra in uno stato fisiologico (*weight regain mode*) che lo spinge a recuperare il peso perso.

Si riduce il metabolismo basale (255) la termogenesi e l'ossidazione dei grassi (256).

Il muscolo consuma meno energia a parità di movimento (è più efficiente), e ha una minore performance atletica (255, 257, 258) e un minore turnover proteico (259); il metabolismo passa da ossidativo a glicolitico, si riduce il potenziale ossidativo mitocondriale, con un rialzo del quoziente respiratorio (155, 260).

Si riducono i cicli futili inoltre i cicli futili (261, 262).

Questo avviene perché vengono stimolati i nostri sistemi omeostatici che puntano al recupero del peso perso, meccanismi che permettevano ai nostri antenati di sopravvivere alle carestie (263).

Vengono così stimolate tutte le vie metaboliche che facilitano il recupero del peso: riduzione degli ormoni della sazietà e della spesa energetica (leptina, CCK, PYY), aumento di quelli dell'appetito e del risparmio energetico (grelina), aumento del numero degli adipociti, della sintesi di trigliceridi, del sistema dopaminergico della motivazione per i cibi ipercalorici, riduzione della lipolisi, perdita della massa magra superiore a quella della grassa (peggioramento della composizione corporea) e quindi riduzione dell'ossidazione dei grassi e del quoziente respiratorio. Gli adipociti nella fase di recupero del peso arrivano ad un volume critico oltre il quale non crescono più, ma rilasciano dei fattori che stimolano l'iperplasia e di conseguenza la maturazione dei preadipociti in cellule mature e pronte ad accumulare i trigliceridi (264, 265).

Un altro ormone che rende difficile il dimagrimento è la miostatina, ormone che limita l'anabolismo muscolare (266); anche in questo caso l'ormone aumenta dopo il dimagrimento in modo da ridurre la spesa energetica dovuto al muscolo, ossia una massa metabolicamente attiva (267): il tutto è finalizzato a recuperare il peso fino a quello precedente.

Questo declino nella spesa energetica potrebbe essere prevenuto dalla somministrazione di piccole dosi di leptina (268).

L'approccio "*eat less, move more*" (mangia meno, muoviti di più) non ha insomma alte probabilità di riuscita, statisticamente la perdita di peso si mantiene tra il 10 e il 20% dei soggetti a 5 anni di distanza (269, 270, 271) e anzi in alcuni individui geneticamente predisposti sembra stimolare il recupero dei kg persi in più (272), e questo è stimato in fino a 2/3 delle persone (240,273).

Sembra quindi più opportuno puntare sul muoversi di più, senza mangiare meno. In particolare il resistance training (lavoro ad alta intensità) ha migliore *outcome* (217, 274).

L'abbandono della dieta avviene per motivi psicologici, insoddisfazione del risultato, aumento dell'appetito e quindi possibile alimentazione compulsiva, col risultato di tornare al peso precedente alla dieta (273).

Il risultato netto è quindi un recupero del peso sino al "setpoint" indicato dal peso massimo raggiunto prima della dieta. Se la perdita di peso persiste per almeno 5 anni, vi è invece una migliore possibilità di mantenere il peso perso, questo a causa di un *reupset* (rimodulazione) degli equilibri tra ormoni, neurotrasmettitori, recettori e *downstream* del segnale intracellulare (257).

Il mettersi a dieta più volte sembra implicato anche con un peggioramento nella qualità del microbiota intestinale (52) e con un aumento del pericolo di infiammazione e necrosi del tessuto adiposo (276), e quindi di sindrome metabolica e cardiovascolare (276, 277).

È stato ipotizzato un aumento di patologie cardiache e renali negli anni futuri proprio a causa del fenomeno del weight cycling (240).

Scopo del lavoro

Come illustrato nell'introduzione, l'obesità è un grave problema sociale che predispone a numerose complicazioni di salute. Le persone obese rispondono in maniera diversa al trattamento, e spesso non hanno risultati apprezzabili nel lungo periodo. In particolare alcune persone che si sono messe a dieta ripetutamente possono avere alterazioni tali della spesa energetica che non riescono più a dimagrire ma anzi tendono ad aumentare sempre più di peso.

Un *consensus statement* segnala la carenza di studi sul bilancio energetico in questo particolare sottogruppo di obesi soggetti al cosiddetto *weight cycling* (218).

In questo contesto abbiamo svolto un'analisi del bilancio energetico e della spesa energetica basale di alcuni pazienti del Centro Obesità dell'AOU di Cagliari coi mezzi a nostra disposizione.

Il lavoro di dottorato si è quindi diviso in più fasi

1. verifica dell'introito e della spesa energetica e sua risultante sulla variazione di composizione corporea
2. verifica della validità della metodologia utilizzata
3. comparazione e revisione sistematica dei lavori che hanno utilizzato l'Armband confrontato con la calorimetria indiretta come nel nostro caso.

Lo scopo del lavoro è stato quindi quello di verificare le differenze metaboliche tra persone che non hanno sostenuto diete con quelle che invece si sono sottoposte più volte a regimi restrittivi.

Materiali e metodi

Valutazione Antropometrica

La valutazione dell'antropometria corporea prevede la misurazione dell'altezza (attraverso l'utilizzo di uno statimetro a parete) e del peso con il calcolo del relativo BMI, della circonferenza addominale (CA), secondo le raccomandazioni AIRLIE (misurata nella porzione superiore della cresta iliaca) (57), effettuati mediante strumenti Seca, e l'analisi della composizione corporea tramite bilancia impedenziometrica Tanita BC 420 MA, uno strumento validato medicalmente e già utilizzato in altri studi (278).

I parametri forniti dalla bilancia sono il peso corporeo, il BMI, le quantità di massa grassa (FM), di massa magra (FFM), di massa muscolare e l'acqua totale corporea, che vengono espresse sia in quantità totali in kg sia in percentuale, e il metabolismo basale.

Valutazione dell'introito energetico

La valutazione dell'introito alimentare è stata effettuata mese per mese mediante la compilazione da parte dei soggetti esaminati di un diario alimentare per 7 giorni.

A tutti i partecipanti allo studio è stato fornito un diario alimentare preimpostato, comprendente la suddivisione nei tre pasti principali e negli spuntini, e la colonna delle quantità assunte.

L'analisi quantitativa e qualitativa è stata eseguita attraverso l'utilizzo del software "Winfood" © Medimatica da cui sono stati ricavati i dati sull'introduzione calorica.

Valutazione del dispendio energetico

Il dispendio energetico è stato valutato attraverso la compilazione di un diario dell'attività fisica di 3 giorni iniziata, anche in questo caso, il giorno successivo alle valutazioni antropometriche, alternato all'impiego dell'Armband da indossare per un tempo uguale.

Ai soggetti esaminati è stato richiesto di mantenere un comportamento, nei giorni dello studio, che rispecchiasse il più possibile quello abituale. A ognuno è stato spiegato come procedere alla compilazione, e l'importanza di riportare non solo le attività sportive praticate, ma anche tutte le altre attività svolte nell'arco della giornata, tra cui quelle lavorative e quelle riservate allo svago e al riposo, a partire dalla sveglia sino all'ora di dormire.

L'elaborazione dei dati così ottenuti è stata eseguita attribuendo alle diverse attività un valore numerico espresso in METs o Unità Metabolico-Equivalente (Metabolic Equivalent) secondo gli standard di riferimento (120); la somma dei valori corrispondenti alla totalità delle attività è stata divisa per 24 ore in modo da ottenere il Quoziente dell'Attività Fisica (QAF) che è stato a sua volta, moltiplicato per il valore del metabolismo basale del soggetto espresso in Kcal, al fine di ottenere il dispendio energetico totale giornaliero medio.

Il bracciale SenseWear® Armband (Bodymedia Inc., Pittsburgh, PA, USA) viene indossato sul braccio padrone sopra il tricipite brachiale e analizzato col software Innerview Research Software 6.1; BodyMedia, Inc.

Ai volontari è stato chiesto di rimuovere il bracciale solo per la doccia o eventuale attività in acqua. È stato indossato dai soggetti ugualmente per 3 giorni consecutivi, corrispondenti a quelli in cui è stato compilato il diario. I dati forniti dallo strumento, nel momento in cui lo si collega al computer, sono i seguenti:

- Total Energy Expenditure (TEE) o spesa energetica complessiva;
- Active Energy Expenditure (AEE) o spesa energetica in “attività fisica”, considerando come attività tutti i periodi con METS (equivalente metabolico) superiore a 2,5;
- METs giornalieri medi
- Durata attività fisica in ore: tempo in cui l'attività è superiore a 2,5 METS;
- Numero di passi;
- Tempo speso “sdraiati”;
- Tempo speso a dormire

Dopo aver calcolato la media dei 3 giorni, tale media è stata moltiplicata per 30 per ottenere la spesa mensile. I 2 metodi sono risultati sovrapponibili da nostre osservazioni non pubblicate e in altri studi, un gruppo di ragazzi attivi (279) e di adulti (280).

Valutazione dell'RMR (o REE)

Questa metodica è stata utilizzata nella seconda fase.

I dati si riferiscono a quelli rilevati con l'Armband indossato per più giorni (consumo a riposo durante la notte) e a quelli rilevati con un calorimetro Cosmed Fitmate Pro la mattina presto (orario indicativo 8 del mattino).

Le misure sono quindi prese in condizioni lievemente diverse, ma questo non ha influito negativamente sulle rilevazioni, in quanto si è cercato di operare in condizioni standard.

L'Armband ha dato valori tendenzialmente più alti, ma notoriamente il consumo calorico durante la notte può scendere anche al di sotto del BMR, quindi l'eventuale errore sarebbe per difetto e non per eccesso (92).

La calorimetria è stata effettuata dopo la notte di digiuno, in condizioni di tranquillità e termoneutrali, in modo da non inficiare la misura, come previsto dai protocolli.

Campionamento

Al fine di raggiungere l'obiettivo del presente lavoro, sono stati studiati diversi gruppi di individui nelle varie fasi, che vengono descritti negli schemi seguenti:

1^a fase di studio del bilancio energetico

Gruppo WC n= 8

età	bmi	%fm
60,62	32,84	39,13
±7,70	±6,62	±6,26

Gruppo controllo n= 15

età	bmi	%fm
46,87	21,5	21,7
±10,07	±1,9	±6

Un gruppo di 8 donne post o perimenopausa in weight cycling (WC), nostre pazienti da alcuni anni e quindi sottoposti a schema alimentare e attività fisica guidata da laureati in scienze motorie, in fase di anamnesi

hanno riferito di aver affrontato in $3,37 \pm 1,18$ diete ipocaloriche (minimo 2 massimo 5), confrontati con 15 individui normopeso (13 femmine e 2 maschi), apparentemente sani, di età compresa tra i 25 e i 59 anni (età media di 46,9 anni $\pm 10,1$), moderatamente attivi, mai stati in restrizione calorica e non appartenenti a particolari gruppi. Il reclutamento è avvenuto in maniera volontaria, previo colloquio informativo.

La differenza di età non è statisticamente significativa ($p = 0,36$ nel T-test per dati non appaiati).

Nel gruppo di controllo tutti i soggetti considerati si trovavano al momento del reclutamento, in uno stato generale di buona salute, mentre hanno rappresentato criteri di esclusione oltre che la presenza di stati patologici a carico dei diversi organi e apparati, una storia di sovrappeso o obesità o aver praticato diete ipocaloriche e la pratica di attività fisica agonistica.

A tutti i partecipanti è stato richiesto di non modificare in alcun modo le loro abitudini alimentari e il loro stile di vita durante il periodo di osservazione.

2^ fase Confronto degli RMR Armband vs calorimetro

Gruppo WC 2 n= 12

età	bmi	%fm
62,75	33,872	40,833
$\pm 7,64$	$\pm 6,67$	$\pm 6,26$

In questa fase abbiamo messo a confronto il gruppo WC1 al quale sono state aggiunte 4 persone con caratteristiche simili (differenze non statisticamente significative). I dati sul consumo a riposo (RMR) ottenuti con l'Armband sono stati confrontati con quelli del calorimetro.

In questo caso le diete affrontate sono state $3,33 \pm 0,99$.

Protocolli eseguiti

Per la valutazione del bilancio energetico, i pazienti di entrambi i gruppi hanno seguito il medesimo protocollo: ogni mese sono stati valutati i valori antropometrici e il bilancio energetico. Il gruppo di controllo ha eseguito il protocollo solo al basale e dopo un mese (T_0 e T_1 a 30 giorni), il gruppo WC1 per 9 mesi. Tuttavia quando hanno mancato una visita o quando non hanno compilato i diari sono stati utilizzati i dati mediati degli altri mesi. Questo è stato ritenuto accettabile in quanto sono persone seguite in un'attività fisica guidata e sotto schema alimentare, e per questo si presume che non abbiano grosse variazioni nei loro comportamenti quotidiani.

Partendo da un tempo 0, preso come basale, si è osservato ogni mese la variazione di composizione corporea, e si è assegnato un valore di 7000kcal alla variazione di un kg di FM, e 1400 a un kg di FFM (281).

Contemporaneamente si è messa in relazione la modificazione di composizione corporea con il bilancio energetico, e si è verificata l'eventuale gap presente.

Revisione sistematica dei confronti tra Armband e calorimetria indiretta

Questa fase è stata fatta in collaborazione col dott. Paolo Mura, dell'Unità di Rianimazione del Policlinico Universitario di Cagliari. Abbiamo cercato sul motore di ricerca scientifico Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) nel giorno 20/1/2016 la seguente stringa:

armband AND (SWA OR "indirect calorimetry ")

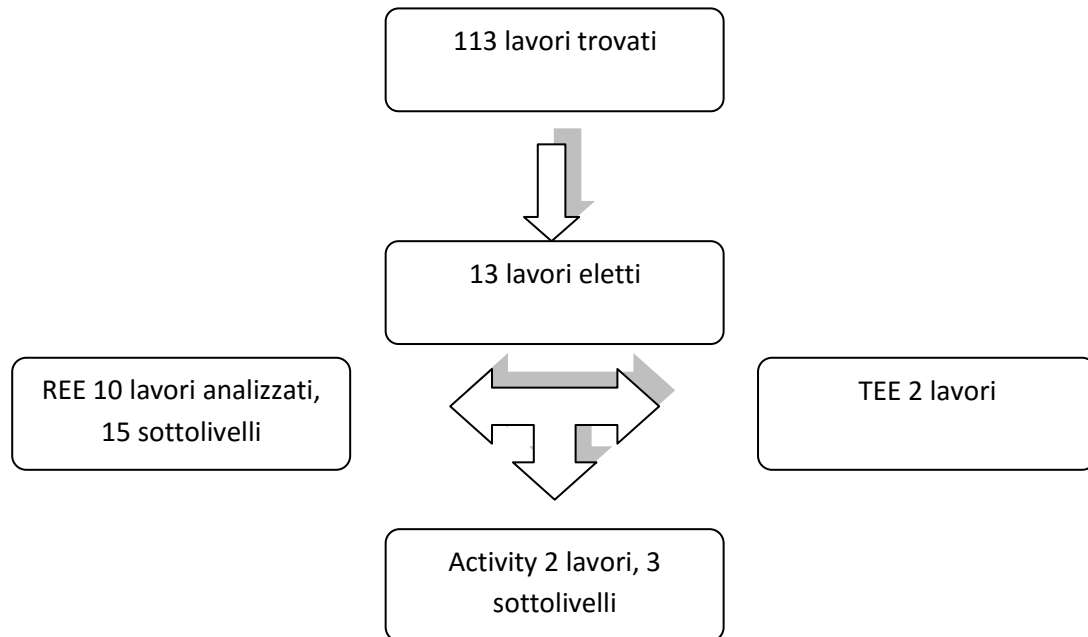
I risultati sono stati 113.

Sono stati scartati per dati incompleti, disomogeneità nelle metodiche di rilevazione, lingua non inglese, 100 articoli, e divisi in 3 sottogruppi: REE, TEE, activity.

Nel REE sono stati considerati eleggibili 10 lavori, con alcuni divisi ulteriormente in sottogruppi, quindi in tutto 15 lavori analizzati.

Nel sottogruppo TEE sono stati individuati 2 lavori, di cui uno con dati ricavati, quindi insufficienti per un'analisi obiettiva che richiede almeno 3 lavori.

Nel sottogruppo activity sono stati individuati 2 lavori eleggibili, di cui uno con 2 sottogruppi, quindi in tutto 3 dati da inserire.



Statistica e calcoli

I risultati sono espressi come valore medio \pm Deviazione Standard (M \pm DS).

L'elaborazione dei grafici e i calcoli sul bilancio energetico sono stati eseguiti con i software Microsoft© Excel e Powerpoint e il programma GraphPad Prism 5 .

L'analisi statistica della corrispondenza tra holter metabolico e calorimetria è stata effettuata mediante il test t di Student per dati appaiati; il limite di significatività è stato fissato per una $p \leq 0.05$.

È stata inoltre effettuata la comparazione mediante il test di Bland ed Altman (282).

Entrambe le analisi sono state eseguite tramite il programma GraphPad Prism 5.

Per la revisione sistematica dei lavori sull'Armband è stato utilizzato il programma Review Manager 5.3, lo stesso utilizzato ufficialmente dalla Cochrane Collaboration.

Risultati

Nel gruppo WC1 la differenza tra risultato atteso e osservato è di $-868\text{kcal} \pm 332,6$ DS, mentre nel gruppo di controllo la differenza è di -355kcal (non vi è DS tra i mesi perché effettuato per un mese solo). Prendiamo quindi quest'ultima cifra come errore base della metodica, visto che il gruppo di normopeso, come previsto, ha avuto variazioni minime nella composizione corporea.

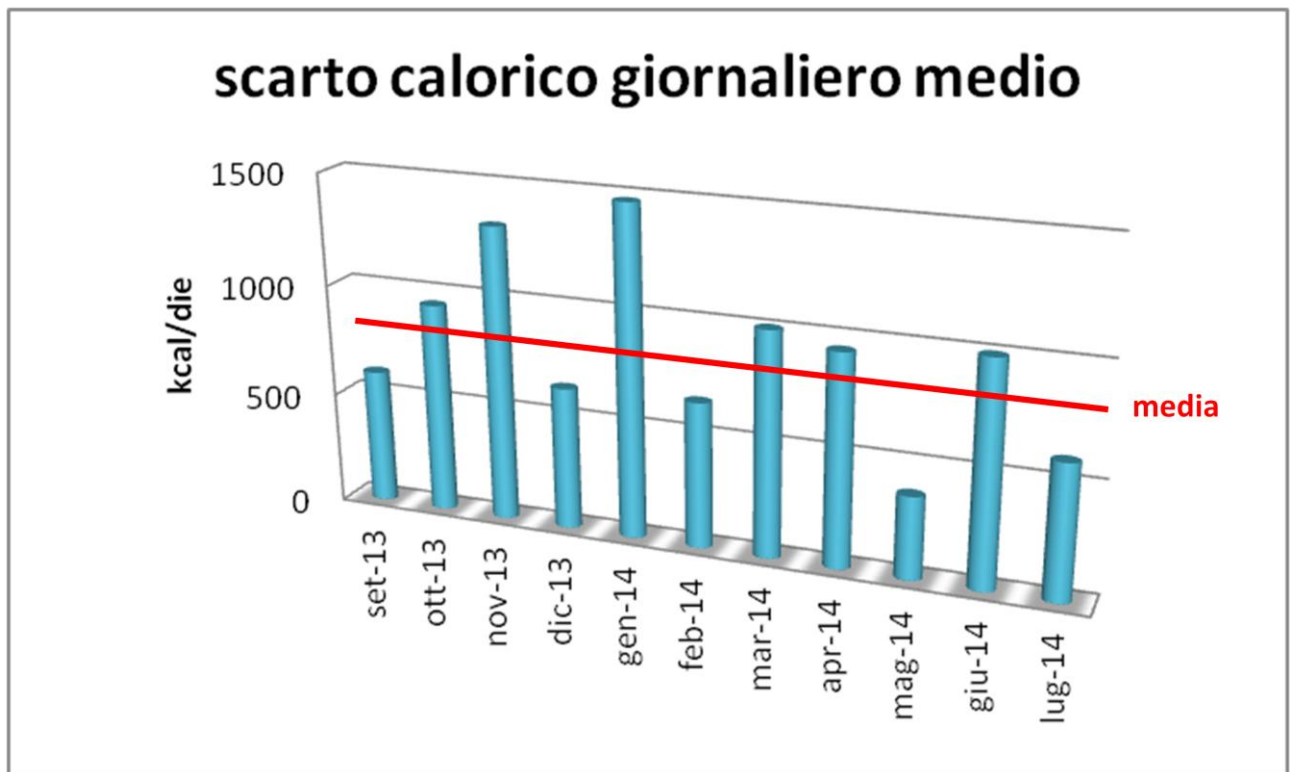
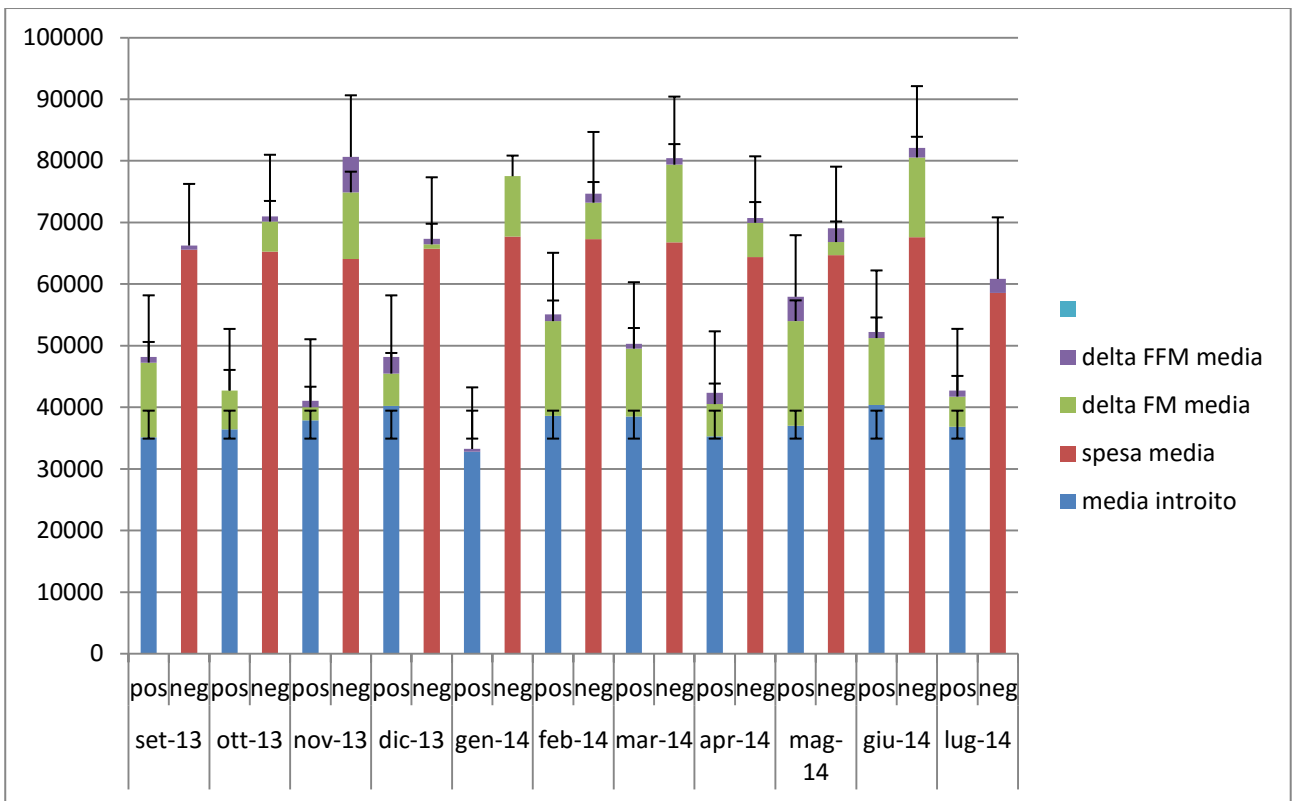
Sono state considerate le componenti positive (introito calorico, aumento dei depositi di FM e di FFM) e negative (dispendio calorico e riduzione dei depositi di FM e FFM) e confrontate tra loro.

Nelle tabelle sono indicati tra le componenti positive la media ponderata dell'introito mensile e l'eventuale acquisto di FM e/o FFM, mentre nelle componenti negative sono indicate la media ponderata della spesa energetica media e l'eventuale perdita di FM e/o FFM. I valori sono stimati dall'introito settimanale/trigiornaliero e poi adeguati per un mese.

componenti bilancio energetico gruppo WC1

	set-13		ott-13		nov-13		dic-13		gen-14		feb-14	
	pos	neg	pos	neg	pos	neg	pos	neg	pos	neg	pos	neg
media introito	35131,6		36425		37900		40228,11		32818,5		38591,35	
spesa media		65555		65250		64050		65748,07		67710		67270
delta FM media	12133,33		6300	4900	2100	10850	5250	700		9800	15400	5950
delta FFM media	910	700	0	840	1050	5740	2695	886,6667	420		1085	1470

	mar-14		apr-14		mag-14		giu-14		lug-14	
	pos	neg	pos	neg	pos	neg	pos	neg	pos	neg
media introito	38505,33		35266,58		36982,98		40387,41		36853,33	
spesa media		66777,5		64367,5		64716,29		67615		58590,33
delta FM media	11025	12600	5250	5600	17033,33	2100	10850	12950	4900	
delta FFM media	770	1050	1820	770	3920	2240	980	1563,333	980	2240



Componenti bilancio energetico gruppo di controllo, dati espressi in kcal

	pos	neg	scarto mensile	scarto giornaliero
media introito	44645,4		44645,4	
spesa media		56474,00	-56474,0	
delta FM media	5300	4720	580,0	
delta FFM media	2566,67	1975,56	591,1	
totale	52512,1	63169,6	-10657,5	-355,2

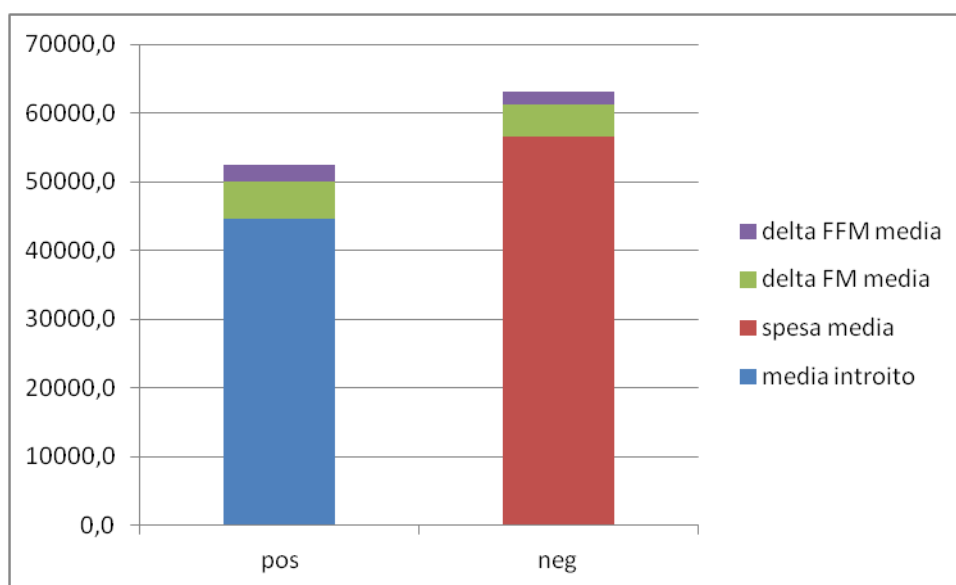


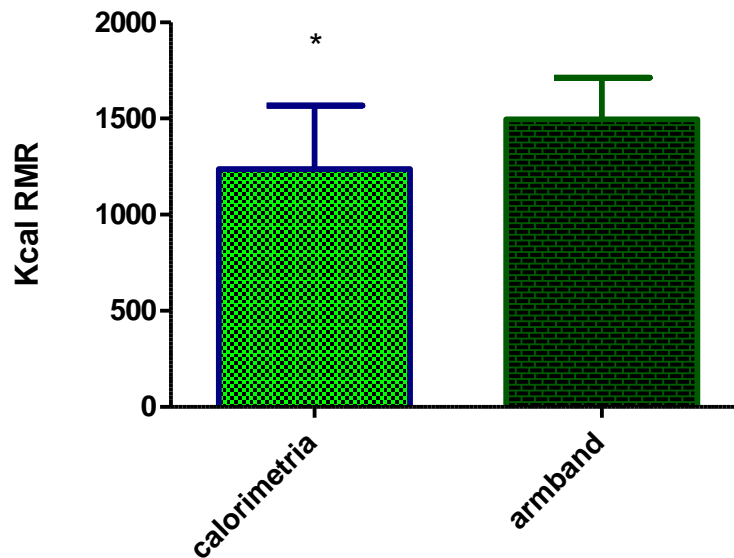
Figura 11 gruppo di controllo componenti bilancio energetico

scarto calorico giornaliero medio



Risultati fase 2

	Metabolimetria	Armband	Tanita	Harris-Benedict	Schoefield
media	1236,8	1496,0	1448,1	1324,0	1444,2
DS	±330,1	±217,1	±218,6	±186,6	±170,6



In questo paragrafo si confrontano i dati raccolti sul BMR/RMR calcolati con diverse metodiche. La Tanita (bilancia impedenziometrica) fornisce anche un valore si stima del metabolismo basale in base alla composizione corporea, mentre le ultime 2 sono equazioni di comune utilizzo, basate sempre su misure antropometriche e in particolare il peso.

I dati di maggiore interesse che verranno commentati sono quelli riferiti al confronto tra calorimetria (metabolimetro) e Armband, utilizzato nella fase precedente.

Le rilevazioni evidenziano una differenza statisticamente significativa con il T-test per dati appaiati ($p=0,0393 < 0,05$), e in generale l'Armband ha una sovrastima del 20% rispetto alla calorimetria indiretta.

Utilizzando la metodica di Bland-Altman i metodi appaiono discretamente sovrapponibili, con una moderata concordanza, ma una tendenza al bias (-259) di sovrastima da parte dell'Armband.

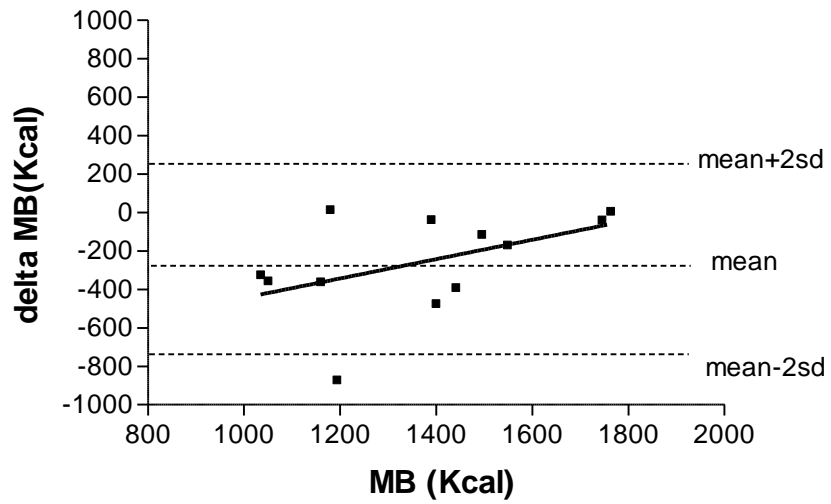


Figura 12 Test di Bland-Altman confronto calorimetria vs Armband

Bland-Altman Bias & agreement	
Bias	-259.167
SD of bias	258.172
95% Limits of Agreement	
From	-765.184
To	246.851

Figura 13 Bias del confronto Calorimetria-Armband

La differenza tra Armband e calorimetro è stata messa in relazione con diversi parametri.

differenza arm-metab	insulina	HOMA	bmi	tg	CA	%fm	numero diete	numero mesi a dieta	glicemia
391	10	2,84	40,44	61	108	46,1	5	20	115
-15	23,3	8,11	26,84	129	91	33,2	3	90	141
473	10	3,16	34,45	60	113	41,7	4	20	128
37	nd	nd	27,30	93	97	37,1	2	23	122
361	8,02	1,90	26,41	67	90	34,5	2	24	96
114	3	0,63	27,55	122	85	30	3	25	85
870	9,85	2,38	42,32	111	115	45,8	5	109	98
-6	4,8	1,24	37,47	148	114	44,7	3	19	105
356	nd	nd	27,53	78	92	40,7	4	90	86
323	8,4	2,47	32,29	111	112	43,3	3	61	119
38	14,5	3,54	41,06	94	131	50	3	53	99
168	nd	nd	42,79	83	120	42,9	3	88	111

Figura 14 dati riferiti alle pazienti del gruppo WC 2

Tuttavia l'unico risultato degno di nota è stata la regressione con il numero di diete effettuate, che ha restituito un R^2 di 0,47

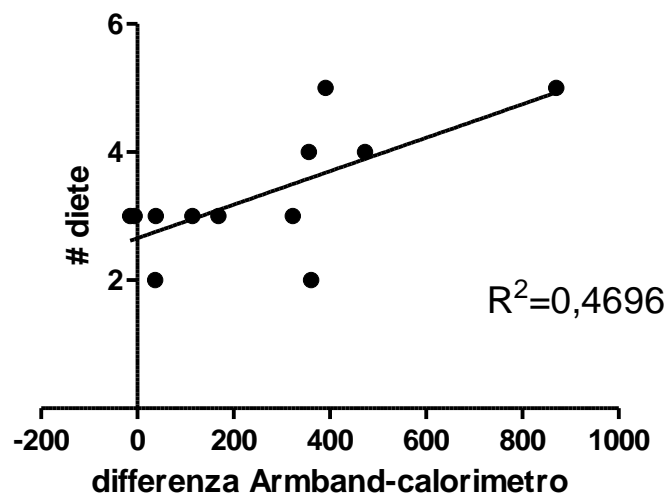


Figura 15 retta di regressione tra differenza Armband-calorimetro vs numero di diete effettuate

La revisione sistematica ha dato i risultati seguenti:

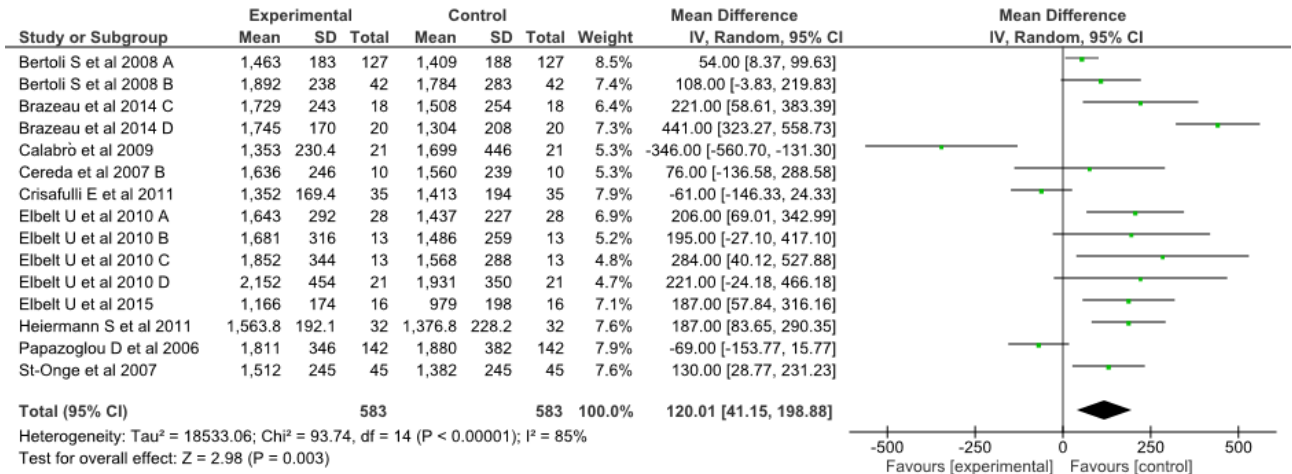


Figura 16 risultati revisione REE

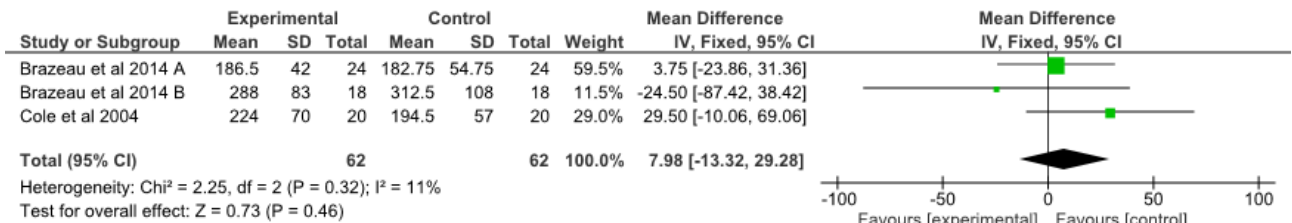


Figura 17 risultati revisione sistematica Activity

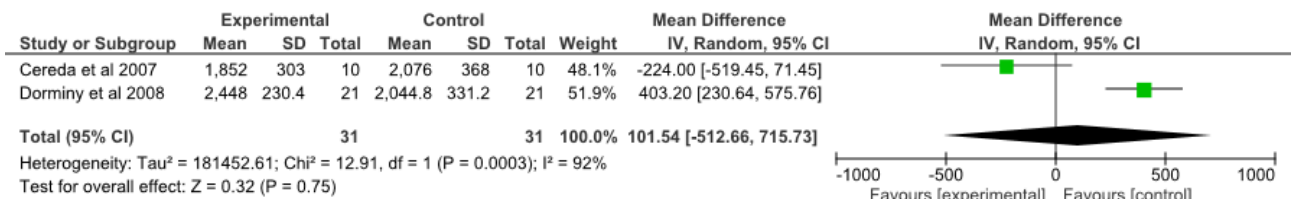


Figura 18 risultati revisione sistematica TEE

Essi sono interpretabili come una tendenza alla sovrastima nel confronto tra IC e Armband soprattutto per quanto riguarda la stima del metabolismo a riposo (120 kcal in media, circa il 7% in più); per l'attività fisica, la sovrastima è praticamente nulla (8kcal in media), mentre per la spesa totale la sovrastima media è di 101,5 kcal, ma essendo presenti solo 2 lavori, in conflitto tra loro, e di cui uno con risultato calcolato e non misurato, il confronto non è considerato attendibile.

Discussione

La determinazione del bilancio energetico nell'uomo, e in particolare in chi ha necessità di dimagrire per problemi di salute o anche semplicemente estetici, è sempre stata un problema, a causa delle approssimazioni delle misure e degli errori che vanno a sommarsi in ogni misurazione (281).

Una dichiarazione di consenso pubblicata sull'importante rivista *AJCN* indica la carenza di studi sul bilancio energetico nell'ambito del *weight cycling* (218) ossia di persone che si siano messe ripetutamente a dieta, con la possibilità di alterare il proprio metabolismo a causa delle risposte biologiche stimolate.

Nella prima fase del nostro lavoro, abbiamo determinato approssimativamente il bilancio energetico in persone che si fossero già diverse volte sottoposte a dieta, con tutte le implicazioni evidenziate nell'introduzione.

I mezzi a nostra disposizione, diario alimentare da una parte, per verificare l'introito energetico, e Armband e diario dell'attività fisica dall'altra, per verificare la spesa energetica, hanno un errore intrinseco come qualunque altra metodica strumentale. Essi hanno messo in evidenza, al netto della variazione di composizione corporea considerata, e intese come prevede la definizione di bilancio energetico (riserve di energia), che vi è un gap medio rispetto a quanto previsto di 868 kcal giornalieri.

Questo gap è invece di sole 355 kcal circa nel gruppo di controllo composto da persone normopeso mai messi a dieta. Prendendo quindi come errore base della metodica ~350, dove sono finite le altre 500 circa? Questo corrisponderebbe, in termini di depositi energetici, ad un kg di adipe perso in media ogni 11,5 giorni, cosa che evidentemente non si è verificata.

Le possibili spiegazioni sono: i pazienti mentono nell'introito registrato, come riportato nell'introduzione, oppure c'è un errore nella valutazione del dispendio energetico.

Più precisamente tale discrepanza può essere dovuta ad una sottovalutazione delle pazienti di quanto mangiano, ad una falsificazione, più o meno volontaria, di quanto riportato, ad una variazione del comportamento alimentare durante il periodo di *recording* rispetto a quello di libertà, o vi è un errore nella valutazione da parte degli strumenti di monitoraggio della spesa energetica (diario e holter metabolico).

Abbiamo quindi deciso di verificare con il metodo a nostra disposizione che risultasse più preciso rispetto all'Armband per l'accertamento della spesa energetica, ossia la calorimetria indiretta.

Purtroppo in questo caso, non avendo a disposizione un calorimetro portatile da usare sul campo o una camera calorimetrica indiretta, è possibile confrontare solo il metabolismo a riposo (RMR), che è però proporzionale alla spesa energetica totale ed indicativo del dispendio anche durante l'attività fisica; come illustrato nell'introduzione infatti nelle persone in *weight cycling* (WC) il muscolo diventa più efficiente, e la spesa energetica, anche a parità di movimento, è ridotta. Durante l'attività fisica insomma il muscolo di una persona WC tende a spendere di meno, anche a parità di gesto atletico (283).

È inoltre indicativa di un errore di base dell'holter metabolico.

Uno studio (284) ha considerato applicabile un fattore di correzione (120%) per persone sedentarie per il confronto tra RMR e TEE, ma questo non pare applicabile al nostro caso, in quanto non si tratta di persone sedentarie, ma con vari livelli di attività fisica.

Questa è anche l'indicazione che emerge dai dati da noi rilevati, e dalla revisione sistematica, in cui la metodica Armband ha un eccesso di stima del 20% rispetto al calorimetro.

Il test di Bland-Altman ha dato una moderata concordanza, con un bias verso la sovrastima, ma utilizzabile con riserva in quanto le 2 deviazioni standard di inclusione del grafico appaiono troppo elevate per una metodica di precisione a noi necessaria (285).

Infatti questa metodica si presta ad una interpretazione informale, e, se i limiti appaiono troppo larghi, la interscambiabilità dei metodi può essere messa in discussione.

Il bias è di -259 con limiti di accordo del 95% compresi tra -765 e 246, molto alti per una metodica che richiede un minimo errore, e in cui 20 kcal/die determinano un aumento di peso di 1kg in un anno. In questo caso, essendo necessaria una maggiore precisione, si ritiene il risultato del test non utilizzabile e ammissibile (286).

I dati trovati sono coerenti con altri riportati in letteratura, che indicano una riduzione nella spesa energetica di 3-400 kcal/die rispetto alla perdita prevista considerando la variazione di composizione corporea (ossia la perdita di FFM, la massa metabolicamente più attiva) (287).

Il gap tra metodiche (Armband-calorimetria) è stato messo in relazione con alcuni parametri, considerando come l'errore dell'Armband riflettesse una situazione di alterata spesa energetica rispetto ad un normopeso sul quale lo strumento è tarato: in realtà l'unico parametro col quale appare una piccola correlazione ($R^2 = 0,47$) è il numero di diete, a conferma di come mettersi a dieta più volte possa influire negativamente sulla spesa energetica.

Non si è invece trovata correlazione con glicemia, trigliceridi, circonferenza addominale, FM%, insulinemia, HOMA.

Quest'ultimo parametro è stato invece associato in un altro studio al weight cycling (288).

La revisione sistematica dei dati ha evidenziato un trend di sovrastima nel rilevamento del REE da parte dell'Armband, in linea con i nostri dati.

La sovrastima media è attorno al 7%, i nostri dati sono superiori probabilmente a causa di un'ulteriore sovrastima dello strumento dovuta all'alterazione metabolica dei nostri soggetti.

La verifica della misurazione in attività ha dato invece una differenza praticamente trascurabile (8kcal) che ci porta a pensare che lo strumento misuri in maniera affidabile questo aspetto; inoltre in questo caso la misurazione avviene per limitati periodi di tempo (solitamente pochi minuti, e non per tutto il giorno come negli altri casi) così da limitare l'errore.

La misurazione della spesa energetica totale è stata confrontata solo su 2 lavori, di cui uno ottenuto tramite un coefficiente di correzione. Il numero minimo di lavori per avere una revisione sistematica affidabile è 3, per cui si riportano i dati per pura scrupolosità. L'unico lavoro ottenuto confrontando l'Armband con una camera calorimetrica indiretta ha comunque evidenziato una sovrastima dell'holter metabolico del 10% circa. Tutti le revisioni hanno evidenziato un'alta eterogeneità di risultati, suggerendo la necessità di protocolli adeguati e uniformi nel confronto tra calorimetria indiretta e Armband.

Conclusioni

Il gap riscontrato alle previsioni sulla variazione di composizione corporea è probabilmente dovuto sia a errori nella compilazione del diario alimentare che a sopravvalutazione del dispendio energetico.

All'inizio dello studio si era convinti che, potendo conoscere almeno 2 fattori su 3 (introito, spesa e variazione di composizione corporea) si potesse conoscere di conseguenza l'ultimo. In realtà questo non si è verificato, e il modello matematico lineare applicato al bilancio energetico non è più ritenuto applicabile (289).

La revisione sistematica, in linea coi nostri risultati, ha evidenziato una tendenziale sovrastima dell'Armband, che è più alta nei dati da noi raccolti.

Il bilancio energetico, per come viene comunemente inteso, appare un modello troppo approssimativo e semplificante per spiegare le variazioni di peso in individui alterati metabolicamente come i soggetti in weight cycling; appaiono più importanti elementi difficilmente osservabili e controllabili quali fattori ormonali che influiscono sulla sorte metabolica delle calorie introdotte e di conseguenza su quelle spese.

Facendo un calcolo termodinamico perfetto, 20kcal di troppo al giorno sono sufficienti per determinare un aumento di un kg di grasso in un anno, ma questo valore è al di sotto della sensibilità di qualsiasi strumento odierno a nostra disposizione

L'Armband può essere un buono strumento per rilevare approssimativamente la quantità di moto di una persona e spingerla a trovare la motivazione per aumentare l'attività fisica, ma non rileva in maniera sufficientemente precisa la spesa energetica nella nostra popolazione, in modo tale da poterne indicare esattamente il bilancio energetico (290).

Un altro dei possibili errori sembra dovuto al fatto che lo strumento non percepisca la pendenza del terreno e quindi non rilevi correttamente lo sforzo più intenso di una camminata in salita rispetto a una in piano (285).

Dobbiamo concordare con Tam e Ravussin (291) secondo cui non è possibile verificare il bilancio energetico in persone in cui il peso varia.

Il dispositivo può tuttavia essere utilizzabile come misura indiretta nello stesso paziente di un andamento di un trend verso un bilanciamento energetico che ovviamente sottende l'aderenza al cambiamento dello stile di vita, dando al clinico uno strumento di rilevazione *free living* prezioso e stimolante.

L'introduzione di prossimi apparecchi da polso determinerà una ulteriore utilizzazione dello strumento senza il fastidioso senso di compressione e di "controllo" che l'attuale Armband possiede intrinsecamente.

Limitazioni dello studio

Le misure di Armband e calorimetria non sono state prese nelle stesse condizioni; non è stato possibile tenere conto dei valori calorici riferibili alla deposizione di muscolo e di grasso e anche alla loro mobilizzazione che hanno un costo in termini energetici, ma non verificabile se non giorno per giorno; il numero di pazienti presi in esame non è alto, anche se in linea con alcuni riscontrati in letteratura; non sempre è stato possibile compiere le misurazioni e ci si è dovuti affidare ad una stima mediante media delle misurazioni. Abbiamo ritenuto accettabile la metodica in quanto i soggetti sono persone sotto attività fisica guidata e sotto schema alimentare.

Abstract:

Energetic metabolism analysis of a group of weight-cyclers obese women

Background: Obesity, a major health problem, is usually ascribed to energy imbalance. In obese people, this might be due to hypothalamic alterations in the control of body composition, thermogenesis and energy expenditure (EE), especially in “weight cyclers” (WC).

Aim of the study: To verify energy balance and accuracy of the procedure.

Materials and methods: In a group of 8 obese WC women (BMI=32.8) energy balance was assessed throughout a period of 9 months. Energy expenditure was estimated through a SenseWear Armband © (AB) alternate to a physical activity recording, whereas caloric intake through food consumption diaries compiled by subjects. A control group of 15 normal weight women (BMI=21.5) underwent the same procedures and was monitored for 1 month. We confirm validity of the procedure through a comparison by an indirect calorimeter in a group of 12 WC obese women (BMI 33.9). A systematic revision of the comparison between AB and indirect calorimetry (IC) was performed to verify the objectivity of the method.

Results: In the analysis of data, energy balance was 869kcal negative than predicted contemplating body composition shifting. This gap was only 350kcal in the control group.

Resting metabolic rate (RMR) measured via IC was 20% less than estimated with Armband, the difference was statistically significant with T-test ($p < 0.05$). Bland-Altman test showed a weak compatibility between methods. Systematic revision confirmed an overestimation trend, particularly in RMR.

Discussion: AB overestimates EE in our sample and this trend was confirmed by systematic revision of the data literature. Methods are not interchangeable because Bland-Altman test has a too large bias.

Conclusions: Although it's likely present an underestimation in food recording, AB overestimates EE in this small group of WC women. Estimating energy balance in dynamic conditions is a very hard task.

Limitations of the study: Measures were not taken in the same experimental conditions. Sample is small.

Bibliografia

1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Mar;97(3):745-55.. Epub 2012 Jan 11. **Clinical review: Regulation of food intake, energy balance, and body fat mass: implications for the pathogenesis and treatment of obesity.** Guyenet SJ, Schwartz MW.
2. *Nat Rev Endocrinol.* 2013 Jan;9(1):13-27. **Global obesity: trends, risk factors and policy implications.** Malik VS, Willett WC, Hu FB.
3. *Obes Rev.* 2011 May;12(5):e64-72. **Globalization and modernization: an obesogenic combination.** Huneault L, Mathieu MÈ, Tremblay A.
4. *Lancet.* 2011 Feb 12;377(9765):557-67. **National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9·1 million participants.** Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, Singh GM, Gutierrez HR, Lu Y, Bahalim AN, Farzadfar F, Riley LM, Ezzati M; Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index)
5. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Jun;10(6):364-76. **The pathophysiology of hypertension in patients with obesity.** DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR.
6. *JAMA.* 2015 Sep 8;314(10):1021-9. doi: 10.1001/jama.2015.10029. **Prevalence of and Trends in Diabetes Among Adults in the United States, 1988-2012.**Menke A, Casagrande S, Geiss L, Cowie CC.
7. *JAMA.* 2015;314(24):2607 **Obesity-Related Medical Care Costs Medicaid \$8 Billion a Year** Jacob JA.
8. *JAMA* Infographic **Cardiovascular Disease Worldwide, 1990-2013** O'Rourke K, VanderZanden A, Shepard D, Leach-Kemon K,; for the Institute for Health Metrics and Evaluation
9. *Lancet.* 2015 Aug 22;386(9995):743-800. **Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013.** Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators.
10. WHO, Copenhagen 2007 **The challenge of obesity in the European region and the strategies for response.** Branca F, Nikogosian H, Lobstein T.
11. *Epidemiol Prev.* 2011 Mar-Apr;35(2):111-7. **[Obesity among the adult population in Italy].** [Article in Italian] Pinnelli A, Fiori F.
12. *J Biosoc Sci.* 2010 Mar;42(2):201-11. **Prevalence and trend of overweight and obesity among Sardinian conscripts (Italy) of 1969 and 1998.** Loviselli A, Ghiani ME, Velluzzi F, Piras IS, Minerba L, Vona G, Calò CM.

13. *Eat Weight Disord.* 2007 Jun;12(2):e44-50. **Prevalence of overweight and obesity in Sardinian adolescents.** Velluzzi F, Lai A, Secci G, Mastinu R, Pilleri A, Cabula R, Rizzolo E, Cocco PL, Fadda D, Binaghi F, Mariotti S, Loviselli A.
14. *Lancet.* 2014 Jun 7;383(9933):1947-8. **The global implications of diabetes and cancer.** Shi Y, Hu FB.
15. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2013 Feb;27(1):73-83. **Diabetes, obesity and gut microbiota.** Everard A, Cani PD.
16. *Nutrition.* 2008 Sep;24(9):820-6. **Disruption in the leptin-NPY link underlies the pandemic of diabetes and metabolic syndrome: new therapeutic approaches.** Kalra SP
17. <http://www.epicentro.iss.it/igea/diabete/prevalenza.asp> accessed 3/1/2016
18. *Nature.* 2006 Sep 21;443(7109):289-95. **Central nervous system control of food intake and body weight.** Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW.
19. *Ann Fam Med.* 2007 Nov-Dec;5(6):547-56. **Obesity and diabetes in vulnerable populations: reflection on proximal and distal causes.** Candib LM
20. *J Res Med Sci.* 2011 Jun;16(6):801-6. **Association between sleep duration and metabolic syndrome in a population-based study: Isfahan Healthy Heart Program.** Najafian J, Toghianifar N, Mohammadifard N, Nouri F.
21. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Nov;11(11):653-61. **Endocrine disruptors and obesity.** Heindel JJ, Newbold R, Schug TT
22. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2014 Aug;28(4):533-44. **The aetiology of obesity beyond eating more and exercising less.** Dhurandhar EJ, Keith SW
23. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Oct;30(10):1656-64. **Obesity--a disease with many aetiologies disguised in the same oversized phenotype: has the overeating theory failed?** Stenvinkel P
24. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012 Jan;120(1):1-6. **Lifestyle and genetics in obesity and type 2 diabetes.** Temelkova-Kurktschiev T, Stefanov T.
25. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011 Jul;14(4):374-8. **Lack of regular physical exercise or too much inactivity.** Thyfault JP, Booth FW.
26. *Obesity (Silver Spring).* 2012 Jul;20(7):1338-54. **Systematic review of effective strategies for reducing screen time among young children.** Schmidt ME, Haines J, O'Brien A, McDonald J, Price S, Sherry B, Taveras EM.
27. *Am J Clin Nutr.* 1999 Jul;70(1 Part 2):145S-148S. **Tracking of body mass index in children in relation to overweight in adulthood.** Guo SS, Chumlea WC.
28. *Pediatrics.* 2005 Jan;115(1):22-7. **The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study.**
Freedman DS, Khan LK, Serdula MK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS.
29. *Int J Hypertens.* 2011 Feb 22;2011:257168. **Metabolic syndrome in italian obese children and adolescents: stronger association with central fat depot than**

- with insulin sensitivity and birth weight.** Brufani C, Fintini D, Giordano U, Tozzi AE, Barbetti F, Cappa M.
30. *Obes Rev.* 2013 Aug;14(8):606-19 **Resolved: there is sufficient scientific evidence that decreasing sugar-sweetened beverage consumption will reduce the prevalence of obesity and obesity-related diseases.** Hu FB
 31. *Curr Opin Lipidol.* 2010 Feb;21(1):51-7. **Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose.** Bray GA
 32. *N Engl J Med.* 2011 Jun 23;364(25):2392-404. **Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men.** Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB.
 33. *Am J Clin Nutr.* 2010 Nov;92(5):1165-71 **Whole- and refined-grain intakes are differentially associated with abdominal visceral and subcutaneous adiposity in healthy adults: the Framingham Heart Study.** McKeown NM, Troy LM, Jacques PF, Hoffmann U, O'Donnell CJ, Fox CS.
 34. *Circulation.* 2016 Jan 26;133(4):370-7.. Epub 2016 Jan 11. **Sugar-Sweetened Beverage Consumption Is Associated With Change of Visceral Adipose Tissue Over 6 Years of Follow-Up.** Ma J, McKeown NM, Hwang SJ, Hoffmann U, Jacques PF, Fox CS.
 35. *Obes Res.* 2005 Jun;13(6):1052-60. **Provision of foods differing in energy density affects long-term weight loss.** Rolls BJ, Roe LS, Beach AM, Kris-Etherton PM.
 36. *Int J Obes (Lond).* 2009 Jan;33(1):29-36. **Physical activity reduces the influence of genetic effects on BMI and waist circumference: a study in young adult twins.** Mustelin L, Silventoinen K, Pietiläinen K, Rissanen A, Kaprio J.
 37. *Curr Genomics.* 2011 May;12(3):154-68. **Molecular basis of obesity: current status and future prospects.** Choquet H, Meyre D.
 38. *Eur J Pharmacol.* 2011 Jun 11;660(1):156-64. **The genetic epidemiology of melanocortin 4 receptor variants.** Loos RJ
 39. *Nature.* 2015 Feb 12;518(7538):197-206. **Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology.** Locke AE and collaborators
 40. *PLoS Genet.* 2007 Jul;3(7):e115. **Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits .** Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, *et al*
 41. *Science.* 2007 May 11;316(5826):889-94. **A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity.** Frayling TM¹, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, *et al*
 42. *Mol Aspects Med.* 2013 Jul-Aug;34(4):782-812 **Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives.** Milagro FI, Mansego ML, De Miguel C, Martínez JA.
 43. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Apr;10(4):190. **Metabolism: Altered neuronal circuits control metabolic fate.** Heath V.

44. *Int J Obes (Lond)*. 2015 Jan;39(1):85-97. **Epigenetics and human obesity**. van Dijk SJ¹, Molloy PL, Varinli H, Morrison JL, Muhlhausler BS; Members of EpiSCOPE.
45. *JAMA*. 2015 May 5;313(17):1699-701. **Unraveling the influence of gut microbes on the mind**. Friedrich MJ.
46. *Gut Microbes*. 2013 Jul-Aug;4(4):325-39. **Bifidobacterium infantis 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut**. Groeger D1, O'Mahony L, Murphy EF, Bourke JF, Dinan TG, Kiely B, Shanahan F, Quigley EM.
47. *Nutr Clin Pract*. 2015 Dec;30(6):787-97. **Role of the Gut Microbiome in Obesity and Diabetes Mellitus**. Barlow GM, Yu A, Mathur R
48. *Nutr Rev*. 2015 Jun;73(6):376-85. **Obesity and the gastrointestinal microbiota: a review of associations and mechanisms**. Graham C, Mullen A, Whelan K
49. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug;8(6):583-5.. Epub 2014 May 31. **Does stress induce bowel dysfunction?** Chang YM, El-Zaatari M, Kao JY.
50. *Mayo Clin Proc*. 2008 Apr;83(4):460-9.. **Gut microbiota and its possible relationship with obesity**. DiBaise JK¹, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE.
51. *Nature*. 2013 Jul 11;499(7457):219-22. **Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome**. Modi SR¹, Lee HH, Spina CS, Collins JJ
52. *Clin Nutr*. 2015 Jun;34(3):341-9. **Alterations of gut barrier and gut microbiota in food restriction, food deprivation and protein-energy wasting**. Genton L, Cani PD, Schrenzel J.
53. *Br J Nutr*. 2012 Aug;108 Suppl 2:S238-46. **Determination of protein and amino acid digestibility in foods including implications of gut microbial amino acid synthesis**. Fuller M
54. *Cell*. 2015 Nov 19;163(5):1079-94. **Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses**. Zeevi D¹, Korem T¹, Zmora N², Israeli D³, Rothschild D¹, Weinberger A *et al*
55. *Gut*. 2014 Sep;63(9):1513-21. **Microbiota and diabetes: an evolving relationship**. Tilg H¹, Moschen AR
56. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009 Sep;19(7):462-8. **Obesity markers and estimated 10-year fatal cardiovascular risk in Switzerland**. Marques-Vidal P¹, Bochud M, Mooser V, Paccaud F, Waeber G, Vollenweider P.
57. Human Kinetics. Champaign, IL 1988 **Anthropometric standardization reference manual**. Lohman TG
58. *Neuropharmacology*. 2012 Jul;63(1):111-23. **Central control of thermogenesis** Clapham JC
59. *Obes Rev*. 2011 May;12(5):e348-61. **Voluntary weight loss: systematic review of early phase body composition changes**. Heymsfield SB¹, Thomas D, Nguyen AM, Peng JZ, Martin C, Shen W, Strauss B, Bosy-Westphal A, Muller MJ.
60. *Obes Facts*. 2015;8(6):402-24. **European Guidelines for Obesity Management in Adults**. Yumuk V¹, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, Toplak H; Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity.

61. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Jul 18;(3):CD005105. **Low glycaemic index or low glycaemic load diets for overweight and obesity.** Thomas DE, Elliott EJ, Baur L.
62. *Annu Rev Public Health.* 2014;35:83-103. **Can we say what diet is best for health?** Katz DL¹, Meller S
63. *Nutrition.* 2015 Jan;31(1):1-13. **Dietary carbohydrate restriction as the first approach in diabetes management: critical review and evidence base.** Feinman RD¹, Pogozelski WK², Astrup A³, Bernstein RK⁴, Fine EJ *et al*
64. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014 Jan-Feb;56(4):441-7. **The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance.** Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS
65. *Br J Nutr.* 2012 Aug;108 Suppl 2:S105-12. **Dietary protein - its role in satiety, energetics, weight loss and health.** Westerterp-Plantenga MS¹, Lemmens SG, Westerterp KR.
66. *Am J Clin Nutr.* 2015 Apr 29. [Epub ahead of print] **The role of protein in weight loss and maintenance.** Leidy HJ¹, Clifton PM¹, Astrup A, Wycherley TP, Westerterp-Plantenga MS¹, Luscombe-Marsh ND¹, Woods SC¹, Mattes RD
67. *N Engl J Med.* 2010 Nov 25;363(22):2102-13. **Diets with high or low protein content and glycemic index for weight-loss maintenance.** Larsen TM¹, Dalskov SM, van Baak M, Jebb SA *et al*
68. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Dec;10(12):749-60. **Personalized weight loss strategies-the role of macronutrient distribution.** Martinez JA¹, Navas-Carretero S¹, Saris WH², Astrup A
69. *Clin Nutr.* 2013 Apr;32(2):157-61. **Body composition changes after weight-loss interventions for overweight and obesity.** Santarpia L¹, Contaldo F, Pasanisi F
70. *JAMA.* 2012 Jun 27;307(24):2627-34. **Effects of dietary composition on energy expenditure during weight-loss maintenance.** Ebbeling CB, Swain JF, Feldman HA, Wong WW, Hachey DL, Garcia-Lago E, Ludwig DS.
71. *Circulation.* 2012 Mar 6;125(9):1157-70. **Lifestyle modification for obesity: new developments in diet, physical activity, and behavior therapy.** Wadden TA, Webb VL, Moran CH, Bailer BA.
72. Multidisciplinary Approach to Obesity 2015 Lenzi A Migliaccio S Donini L Springer Ed
73. *Lancet.* 2015 Sep 5;386(9997):964-73. **Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial.** Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C *et al*
74. *Diabetes Metab.* 2009 Dec;35(6 Pt 2):558-61. **Medical management of diabetes after bariatric surgery.** Schlienger JL, Pradignac A, Luca F, Meyer L, Rohr S
75. *Am J Clin Nutr.* 1990 Nov;52(5):784-92. **Growth, thermogenesis, and hyperphagia.** Alpert SS
76. *Int J Obes (Lond).* 2008 Dec;32 Suppl 7:S109-19. **Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation.** Galgani J, Ravussin E
77. *Clin Nutr.* 2013 Apr;32(2):157-61. **Body composition changes after weight-loss interventions for overweight and obesity.** Santarpia L, Contaldo F, Pasanisi F.

78. **Fisiologia**, quarta edizione 2011. Edises. 21 : 604-608 Stanfield CL
79. *Res Q Exerc Sport*. 2014 Mar;85(1):49-58. **Top 10 research questions related to energy balance**. Shook RP, Hand GA, Blair SN.
80. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Jan;26(1):97-101. **Determinants of the energy costs of light activities: inferences for interpreting doubly labeled water data**. Schoeller DA, Jefford G.
81. **Fisiologia dalle molecole ai sistemi integrati**. 2009.50 756-3 Carbone E, Cicirata F, Aicardi G
82. *Med Clin North Am*. 2000 Mar;84(2):347-62. **Energy metabolism and obesity**. Goran MI
83. *Obes Rev*. 2011 Jan;12(1):14-25. **Chronobiological aspects of food intake and metabolism and their relevance on energy balance and weight regulation**. Ekmekcioglu C, Touitou Y.
84. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:37504 **Glucose and fat oxidation: bomb calorimeter be damned**. Scott CB
85. *Br J Nutr*. 2001 Mar;85(3):271-87. **A perspective on food energy standards for nutrition labelling**. Livesey G
86. *Mayo Clin Proc*. 2008 Apr;83(4):460-9. **Gut microbiota and its possible relationship with obesity**. DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE.
87. *Nature*. 2006 Dec 21;444(7122):1027-31. **An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest**. Turnbaugh PJ¹, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI.
88. *N Engl J Med*. 1995 Mar 9;332(10):621-8. **Changes in energy expenditure resulting from altered body weight**. Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J.
89. *Int J Obes (Lond)*. 2010 Oct;34 Suppl 1:S47-55. **Adaptive thermogenesis in humans**. Rosenbaum M¹, Leibel RL.
90. *Am J Clin Nutr*. 2005 Nov;82(5):941-8. **Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine**. Johnstone AM¹, Murison SD, Duncan JS, Rance KA, Speakman JR
91. *Am J Clin Nutr*. 1999 Jun;69(6):1117-22. **Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects**. Astrup A, Gøtzsche PC, van de Werken K, Ranneries C, Toubro S, Raben A, Buemann B.
92. *Obes Rev*. 2012 Jul;13(7):565-77. **Short sleep duration and its association with energy metabolism**. Klingenberg L, Sjödin A, Holmbäck U, Astrup A, Chaput JP.
93. *ISRN Obes*. 2012 Dec 13;2012:675285. **Physical activity: an important adaptative mechanism for body-weight control**. Finelli C¹, Gioia S¹, La Sala N
94. *Physiol Behav*. 2008 Mar 18;93(4-5):1039-43. **Physical activity as determinant of daily energy expenditure** Westerterp KR
95. *Am J Clin Nutr*. 2015 Dec;102(6):1332-8. **Low levels of physical activity are associated with dysregulation of energy intake and fat mass gain over 1 year**. Shook RP, Hand GA, Drenowatz C, Hebert JR, Paluch AE, Blundell JE, Hill JO, Katzmarzyk PT, Church TS, Blair SN.

96. *Adv Food Nutr Res.* 2015;76:1-28. **Capsaicin and Related Food Ingredients Reducing Body Fat Through the Activation of TRP and Brown Fat Thermogenesis.**Saito M
97. *Eur J Clin Nutr.* 2013 May;67(5):443-5. **Metabolic adaptations to over--and underfeeding--still a matter of debate?** Westerterp KR
98. *Cell Metab.* 2014 May 6;19(5):741-56. **Central neural regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy expenditure.** Morrison SF, Madden CJ, Tupone D
99. *Nutr Metab (Lond).* 2004 Aug 18;1(1):5. **Diet induced thermogenesis.** Westerterp KR
100. *IUBMB Life.* 2013 Jan;65(1):58-66. **A ketogenic diet increases brown adipose tissue mitochondrial proteins and UCP1 levels in mice** Srivastava S¹, Baxa U, Niu G, Chen X, Veech RL.
101. *Physiol Rev.* 2004 Jan;84(1):277-359. **Brown adipose tissue: function and physiological significance.** Cannon B, Nedergaard J
102. *Ther Adv Endocrinol Metab.* **Challenges in $\beta(3)$ -Adrenoceptor Agonist Drug Development** Arch JR.
103. *Proc Nutr Soc.* 1989 Jul;48(2):243-56. **Brown adipose tissue in humans.** Lean ME
104. *Health Bull (Edinb).* 1988 Jan;46(1):55-62. **Energy expenditure in normal and diabetic man: the role of brown adipose tissue.** Jung RT, Leslie P, Nicholls DG, Cunningham S, Isles TE.
105. *N Engl J Med.* 2009 Apr 9;360(15):1509-17. **Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans.** Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, Kolodny GM, Kahn CR.
106. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007 Aug;293(2):E444-52. **Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans.** Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B.
107. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014 Jun;34(6):1018-23. **Brown adipose tissue function is accompanied by cerebral activation in lean but not in obese humans.** Orava J, Nummenmaa L, Noponen T, Viljanen T, Parkkola R, Nuutila P, Virtanen KA
108. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1992 Dec;16(12):959-67. **Sympathoadrenal activity in human obesity: heterogeneity of findings since 1980.** Young JB, Macdonald IA
109. *Am J Physiol.* 1999 Oct;277(4 Pt 1):E668-77. **Sympathetic inhibition, leptin, and uncoupling protein subtype expression in normal fasting rats.** Sivitz WI, Fink BD, Morgan DA, Fox JM, Donohoue PA, Haynes WG.
110. *Eur J Endocrinol.* 2014 Nov;171(5):R197-208. **Beyond the fixed setpoint of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis.** Fliers E, Kalsbeek A, Boelen A
111. *Nutr Metab (Lond).* 2006 Jul 12;3:25. **Energy expenditure during overfeeding.** Joosen AM, Westerterp KR
112. *Nutr Hosp.* 2011 May-Jun;26(3):430-40. **Energy expenditure: components and evaluation methods.** Pinheiro Volp AC, Esteves de Oliveira FC, Duarte Moreira Alves R, Esteves EA, Bressan J.

113. **Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)** 2013 Academic Press ISBN: 978-0-12-384885-7 Editor-in-Chief: Benjamin Caballero
114. **Stato e valutazione del metabolismo nell'obesità**, Edra Medical Publishing & New Media Morini P Severi S http://www.obesita.it/public/monografia_02_obesita_metabolismo.pdf
115. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1993 Oct;17(10):549-68. **Techniques for the measurement of human energy expenditure: a practical guide.** Murgatroyd PR, Shetty PS, Prentice AM.
116. *Nutr Res Pract.* 2014 Jun;8(3):241-8. **Estimating free-living human energy expenditure: Practical aspects of the doubly labeled water method and its applications.** Park J, Kazuko IT, Kim E, Kim J, Yoon J
117. *Sports Med.* 1997 Oct;24(4):258-72. **Measurement of physical activity in children with particular reference to the use of heart rate and pedometry.** Rowlands AV¹, Eston RG, Ingledew DK.
118. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1998 Jun;78(1):38-42. **Rectal and esophageal temperatures during upper- and lower-body exercise.** Gass EM¹, Gass GC.
119. *Physiol Behav.* 2001 May;73(1-2):235-42. **Individual variation in the relation between body temperature and energy expenditure in response to elevated ambient temperature.** van Marken Lichtenbelt WD, Westerterp-Plantenga MS, van Hoydonck P.
120. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 Aug;43(8):1575-81. **2011 Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values.** Ainsworth BE, Haskell WL, Herrmann SD, Meckes N, Bassett DR Jr, Tudor-Locke C, Greer JL, Vezina J, Whitt-Glover MC, Leon AS.
121. *Clin Nutr.* 2008 Feb;27(1):150-7. **Validation of predictive equations for resting energy expenditure in adult outpatients and inpatients.** Weijs PJ, Kruizenga HM, van Dijk AE, van der Meij BS, Langius JA, Knol DL, Strack van Schijndel RJ, van Bokhorst-de van der Schueren MA.
122. *Am J Clin Nutr.* 1984 Jul;40(1):168-82. **The Harris Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass.** Roza AM, Shizgal HM.
123. **Energy and protein requirements.** 1985 WHO technical report series. Geneva.
124. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007 Jun;17(5):338-43. **A new device for measuring resting energy expenditure (REE) in healthy subjects.** Malavolti M, Pietrobelli A, Dugoni M, Poli M, Romagnoli E, De Cristofaro P, Battistini NC.
125. *J Hum Nutr Diet.* 2015 Feb;28(1):72-84. **Resting metabolic rate and anthropometry in older people: a comparison of measured and calculated values.** Reidlinger DP, Willis JM, Whelan K
126. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2011 Jun;36(3):339-43. **Test-retest reliability of a portable monitor to assess energy expenditure.** Brazeau AS, Karelis AD, Mignault D, Lacroix MJ, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R.

127. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 Jul;43(7):1328-33. **Assessing energy expenditure in male endurance athletes: validity of the SenseWear Armband.** Koehler K, Braun H, de Marées M, Fusch G, Fusch C, Schaenzer W.
128. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Sep;41(9):1714-20. **Validation of the SenseWear Pro Armband algorithms in children.** Calabro MA, Welk GJ, Eisenmann JC.
129. *J Clin Invest.* 1986 Dec;78(6):1568-78 **Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber.** Ravussin E, Lillioja S, Anderson TE, Christin L, Bogardus C.
130. *J Nutr.* 1994 Nov;124(11 Suppl):2245S-2317S. **Dietary assessment resource manual.** Thompson FE¹, Byers T.
131. *BMJ.* 1990 Mar 17;300(6726):708-12. **Accuracy of weighed dietary records in studies of diet and health.** Livingstone MB, Prentice AM, Strain JJ, Coward WA, Black AE, Barker ME, McKenna PG, Whitehead RG.
132. *Am J Clin Nutr.* 1991 Aug;54(2):291-5. **What are people really eating? The relation between energy intake derived from estimated diet records and intake determined to maintain body weight.** Mertz W, Tsui JC, Judd JT, Reiser S, Hallfrisch J, Morris ER, Steele PD, Lashley E.
133. *N Engl J Med.* 1992 Dec 31;327(27):1893-8. **Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects.** Lichtman SW, Pisarska K, Berman ER, Pestone M, Dowling H, Offenbacher E, Weisel H, Heshka S, Matthews DE, Heymsfield SB.
134. *Am J Clin Nutr.* 1994 Jun;59(6):1286-90. **Correlates of over- and underreporting of energy intake in healthy older men and women.** Johnson RK, Goran MI, Poehlman ET.
135. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1953 Jan 15;140(901):578-96. **The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat.** Kennedy GC.
136. *Nature.* 2006 Sep 21;443(7109):289-95. **Central nervous system control of food intake and body weight.** Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW.
137. *Diabetes.* 2003 Feb;52(2):232-8. **Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain?** Schwartz MW¹, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL.
138. *Endocr Rev.* 2006 Dec;27(7):779-93. **Emerging therapeutic strategies for obesity.** Foster-Schubert KE, Cummings DE
139. *J Gastrointest Liver Dis.* 2008 Jun;17(2):193-8. **Neuroendocrine deregulation of food intake, adipose tissue and the gastrointestinal system in obesity and metabolic syndrome.** Garruti G, Cotecchia S, Giampetruzzi F, Giorgino F, Giorgino R.
140. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 Feb 5;299(1):129-36. **Endocrine alterations in response to calorie restriction in humans.** Redman LM¹, Ravussin E.
141. **Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition, 3rd Edition** 2013 Elsevier ISBN: 978-1-4377-0959-9 Ch 22 Stipanuk M, Caudhill M.

142. *Nature*. 2000 Apr 6;404(6778):661-71. **Central nervous system control of food intake.** Schwartz MW¹, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG.
143. *Brain Res*. 2010 Sep 2;1350:95-102. **Energy intake in weight-reduced humans.** Rosenbaum M, Kissileff HR, Mayer LE, Hirsch J, Leibel RL.
144. *Diabetes Metab*. 2014 Jun;40(3):191-7. **Central orchestration of peripheral nutrient partitioning and substrate utilization: implications for the metabolic syndrome.** Denis RG¹, Joly-Amado A¹, Cansell C¹, Castel J, Martinez S, Delbes AS, Luquet S³.
145. *Prog Brain Res*. 2010;181:17-33. **Neuroendocrine control of energy homeostasis: update on new insights.** Kalra SP, Kalra PS.
146. *Physiology (Bethesda)*. 2008 Apr;23:75-83. **Neural systems controlling the drive to eat: mind versus metabolism.** Zheng H¹, Berthoud HR.
147. *Obes Rev*. 2012 Mar;13(3):234-57. **Role of the hypothalamus in the neuroendocrine regulation of body weight and composition during energy deficit.** Sainsbury A, Zhang L.
148. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Apr;10(4):190. **Metabolism: Altered neuronal circuits control metabolic fate.** Heath V
149. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015 Feb 15;308(4):R250-65. **Chronic and acute effects of stress on energy balance: are there appropriate animal models?** Harris RB
150. *Rev Endocr Metab Disord*. 2013 Dec;14(4):311-29. **Role of oxytocin signaling in the regulation of body weight.** Blevins JE¹, Ho JM
151. *J Acad Nutr Diet*. 2012 Nov;112(11):1785-97. **Partial sleep deprivation and energy balance in adults: an emerging issue for consideration by dietetics practitioners.** Shlisky JD¹, Hartman TJ, Kris-Etherton PM, Rogers CJ, Sharkey NA, Nickols-Richardson SM.
152. *Obes Res Clin Pract*. 2015 Nov 21. [Epub ahead of print] **Metaflammatory responses during obesity: Pathomechanism and treatment.** Debnath M, Agrawal S, Agrawal A, Dubey GP
153. *J Bioenerg Biomembr*. 2011 Feb;43(1):53-8. **Hypothalamic inflammation and thermogenesis: the brown adipose tissue connection.** Arruda AP¹, Milanski M, Velloso LA.
154. *Int J Obes (Lond)*. 2011 Dec;35(12):1455-65. **Altered hypothalamic function in diet-induced obesity.** Velloso LA¹, Schwartz MW.
155. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007 Nov;10(6):664-70. **Mitochondrial thermogenesis and obesity.** Gambert S, Ricquier D.
156. *Endocrinology*. 2011 Apr;152(4):1314-26. **Low-grade hypothalamic inflammation leads to defective thermogenesis, insulin resistance, and impaired insulin secretion.** Arruda AP, Milanski M, Coope A, Torsoni AS, Ropelle E, Carvalho DP, Carvalheira JB, Velloso LA.
157. *Nat Rev Drug Discov*. 2012 Sep;11(9):692-708. **Leptin revisited: its mechanism of action and potential for treating diabetes.** Coppari R, Bjørnbæk C.
158. *Mol Aspects Med*. 2012 Feb;33(1):26-34. **Immunity as a link between obesity and insulin resistance.** Kalupahana NS¹, Moustaid-Moussa N, Claycombe KJ.

159. *Vitam Horm.* 2010;82:129-43. **Hypothalamic inflammation and obesity.** Araújo EP, Torsoni MA, Velloso LA.
160. *J Endocrinol.* 2015 Jul;226(1):81-92. **Diet-induced obesity causes peripheral and central ghrelin resistance by promoting inflammation.** Naznin F, Toshinai K, Waise TM¹, NamKoong C, Md Moin AS¹, Sakoda H, Nakazato M
161. *Proc Nutr Soc.* 2012 Nov;71(4):521-33. **Hypothalamic dysfunction in obesity.** Williams LM
162. *Curr Atheroscler Rep.* 2015 Oct;17(10):57. **The Obese Brain—Effects of Bariatric Surgery on Energy Balance Neurocircuitry.** de Lima-Júnior JC¹, Velloso LA, Geloneze B
163. *Nat Rev Neurosci.* 2014 Jun;15(6):367-78. **Neurobiology of food intake in health and disease.** Morton GJ, Meek TH, Schwartz MW
164. *Neuropharmacology.* 2012 Jul;63(1):18-30. **Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite.** Parker JA, Bloom SR.
165. *Appetite.* 2008 Nov;51(3):452-5. **Endocrine links between food reward and caloric homeostasis.** Lattemann DF
166. *Int J Obes (Lond).* 2009 Jun;33 Suppl 2:S8-13 **Appetite control and energy balance regulation in the modern world: reward-driven brain overrides repletion signals.** Zheng H¹, Lenard NR, Shin AC, Berthoud HR.
167. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010 Nov;97(1):15-24. **Energy regulatory signals and food reward.** Figlewicz DP¹, Sipols AJ.
168. *Eur J Pharmacol.* 2011 Jun 11;660(1):213-9. **Hypothalamic proopiomelanocortin processing and the regulation of energy balance.** Wardlaw SL
169. *Cell Metab.* 2012 Feb 8;15(2):137-49. **Central nervous system mechanisms linking the consumption of palatable high-fat diets to the defense of greater adiposity.** Ryan KK¹, Woods SC, Seeley RJ.
170. *Appetite.* 2016 Jan 1;96:268-79. **Managing temptation in obesity treatment: A neurobehavioral model of intervention strategies.** Appelhans BM¹, French SA, Pagoto SL, Sherwood NE
171. *Yale J Biol Med.* 2011 Mar;84(1):1-7. **Leptin and beyond: an odyssey to the central control of body weight.** Li MD
172. *Peptides.* 2011 Nov;32(11):2248-55. **Central mechanisms involved in the orexigenic actions of ghrelin.** Andrews ZB
173. *Physiol Behav.* 2006 Jun 30;88(3):244-8. **The effects of high fat diets on the blood-brain barrier transport of leptin: failure or adaptation?** Banks WA¹, Farr SA, Morley JE
174. *Nutrition.* 2008 Sep;24(9):820-6. **Disruption in the leptin-NPY link underlies the pandemic of diabetes and metabolic syndrome: new therapeutic approaches.** Kalra SP

175. *J Clin Invest.* 2011 Jun;121(6):2152-5. **Neuroanatomy of body weight control: lessons learned from leptin.** Williams DL¹, Schwartz MW.
176. *Endocr Regul.* 2009 Oct;43(4):157-68. **Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity.** Stofkova A
177. *Curr Hypertens Rev.* 2010 May 1;6(2):104-209. **Leptin-Induced Sympathetic Nerve Activation: Signaling Mechanisms and Cardiovascular Consequences in Obesity.** Rahmouni K
178. *Obesity (Silver Spring).* 2012 Jan;20(1):48-56. **Overproduction of angiotensinogen from adipose tissue induces adipose inflammation, glucose intolerance, and insulin resistance.** Kalupahana NS¹, Massiera F, Quignard-Boulangé A, Ailhaud G, Voy BH, Wasserman DH, Moustaid-Moussa N.
179. *Mol Metab.* 2015 Mar 21;4(6):437-60. eCollection 2015. **Ghrelin.** Müller TD¹, Nogueiras R², Andermann ML³, Andrews ZB *et al*
180. *Trends Endocrinol Metab.* 2015 Oct;26(10):524-37. **The Endocannabinoid System: Pivotal Orchestrator of Obesity and Metabolic Disease.** Mazier W¹, Saucisse N¹, Gatta-Cherifi B², Cota D
181. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013 Nov;16(6):619-24. **Ghrelin: much more than a hunger hormone.** Pradhan G¹, Samson SL, Sun Y.
182. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 May;9(5):367-77. **Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes.** Guilherme A¹, Virbasius JV, Puri V, Czech MP.
183. *Cell Metab.* 2012 Dec 5;16(6):723-37. **Hyperinsulinemia drives diet-induced obesity independently of brain insulin production.** Mehran AE¹, Templeman NM, Brigidi GS,
184. *Oral Dis.* 2009 Jan;15(1):18-26. **Gut hormones and appetite control.** Hameed S¹, Dhillon WS, Bloom SR.
185. *Metabolism.* 2014 Jan;63(1):9-19. **Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells.** Lee YS, Jun HS.
186. *Curr Med Res Opin.* 2010 May;26(5):1013-22. **Efficacy and safety of the once-daily human GLP-1 analogue, liraglutide, vs glibenclamide monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes.** Seino Y, Rasmussen MF, Nishida T, Kaku K.
187. *Diabetes.* 1998 Apr;47(4):530-7. **Glucagon-like peptide 1(7-36) amide's central inhibition of feeding and peripheral inhibition of drinking are abolished by neonatal monosodium glutamate treatment.** Tang-Christensen M¹, Vrang N, Larsen PJ.
188. *Obes Rev.* 2015 Feb;16 Suppl 1:45-54. **The role for adipose tissue in weight regain after weight loss.** MacLean PS, Higgins JA, Giles ED, Sherk VD, Jackman MR.
189. *Nature.* 2006 Dec 14;444(7121):847-53. **Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis.** Rosen ED, Spiegelman BM.
190. *Mol Cell Endocrinol.* 2015 Dec 15;418 Pt 1:66-73. **Fibroblast growth factor-21, energy balance and obesity.** Giralt M, Gavaldà-Navarro A, Villarroya F

191. *Eur J Endocrinol*. 2014 Apr 10;170(5):R159-71. **White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ.** Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S.
192. *Nutr Metab (Lond)*. 2011 Oct 26;8(1):74. **Utilization of dietary glucose in the metabolic syndrome.** Alemany M
193. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016 Jan;32(1):51-9. **Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review.** Chen N, Li Q, Liu J, Jia S
194. *Cell Metab*. 2012 Mar 7;15(3):277-8. **Irisin, turning up the heat.** Villarroya F
195. *Nat Rev Endocrinol*. 2015 Dec;11(12):689. **Bone: Irisin boosts bone mass.** Holmes D.
196. *Circulation*. 2015 Oct 27;132(17):1639-47. **Association between visceral and subcutaneous adipose depots and incident cardiovascular disease risk factors.** Abraham TM, Pedley A, Massaro JM, Hoffmann U, Fox CS
197. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Dec 15;418 Pt 2:153-72. **Do intermittent diets provide physiological benefits over continuous diets for weight loss? A systematic review of clinical trials.** Seimon RV¹, Roekenes JA¹, Zibellini J¹, Zhu B *et al*
198. *Cell Metab*. 2014 Feb 4;19(2):181-92. **Fasting: molecular mechanisms and clinical applications.** Longo VD, Mattson MP
199. *Int J Obes (Lond)*. 2015 Dec;39(12):1689-95. **Is the timing of caloric intake associated with variation in diet-induced thermogenesis and in the metabolic pattern? A randomized cross-over study.** Bo S, Fadda M², Castiglione A, Ciccone G *et al*
200. *Steroids*. 2012 Mar 10;77(4):323-31. **Meal timing and composition influence ghrelin levels, appetite scores and weight loss maintenance in overweight and obese adults.** Jakubowicz D¹, Froy O, Wainstein J, Boaz M.
201. *Front Nutr*. 2015 Dec 18;2:38. **Eating Frequency, Food Intake, and Weight: A Systematic Review of Human and Animal Experimental Studies.** Raynor HA¹, Goff MR¹, Poole SA², Chen G
202. *Horm Res Paediatr*. 2010;73(3):153-60. **GH/IGF-I regulation in obesity--mechanisms and practical consequences in children and adults.** Kreitschmann-Andermahr I, Suarez P, Jennings R, Evers N, Brabant G.
203. *Semin Reprod Med*. 2013 Jul;31(4):251-7. **Big enough for an aromatase inhibitor? How adiposity affects male fertility.** Stephens SM¹, Polotsky AJ.
204. *Endokrynol Pol*. 2010 Mar-Apr;61(2):194-206. **Neuroendocrine body weight regulation: integration between fat tissue, gastrointestinal tract, and the brain.** Boguszewski CL¹, Paz-Filho G, Velloso LA.
205. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Sep;32 Suppl 4:S7-12. **AMPK: a key regulator of energy balance in the single cell and the whole organism.** Hardie DG

206. *J Clin Gastroenterol.* 2011 Nov;45 Suppl:S128-32. **Obesity and the gut microbiota.** Flint HJ
207. *J Nutr.* 2006 Dec;136(12):2957-61. **History of the calorie in nutrition.** Hargrove JL
208. *Public Health Nutr.* 2015 Mar;18(4):571-81. **How calorie-focused thinking about obesity and related diseases may mislead and harm public health. An alternative.** Lucan SC, DiNicolantonio JJ
209. *JAMA.* 2010 Jan 6;303(1):65-6. **Extra calories cause weight gain--but how much?** Katan MB, Ludwig DS
210. *Nature.* 2012 Dec 13;492(7428):155. **Treat obesity as physiology, not physics.** Taubes G
211. *Int J Obes (Lond).* 2010 Nov;34(11):1644-54. **Long-term weight loss maintenance in the United States.** Kraschnewski JL, Boan J, Esposito J
212. *Int J Obes (Lond).* 2012 Nov;36(11):1418-20. **Explaining the failures of obesity therapy: willpower attenuation, target miscalculation or metabolic compensation?** Dulloo AG.
213. *Circulation.* 2016 Jan 8. [Epub ahead of print] **Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review.** Mozaffarian D
214. *Eat Behav.* 2011 Apr;12(2):119-25. **Dietary energy density and successful weight loss maintenance.** Raynor HA¹, Van Walleghe EL, Bachman JL, Looney SM, Phelan S, Wing RR
215. *Am J Clin Nutr.* 2005 Jul;82(1 Suppl):236S-241S. **The influence of food portion size and energy density on energy intake: implications for weight management.** Ello-Martin JA, Ledikwe JH, Rolls BJ.
216. *Int J Obes (Lond).* 2014 Jul;38 Suppl 1:S1-8. **What is the role of portion control in weight management?** Rolls BJ
217. *Obes Res Clin Pract.* 2015 Nov-Dec;9(6):592-602. **Differences in correlates of energy balance in normal weight, overweight and obese adults.** Drenowatz C, Jakicic JM², Blair SN³, Hand GA
218. *Am J Clin Nutr.* 2012 Apr;95(4):989-94. **Energy balance and its components: implications for body weight regulation.** Hall KD¹, Heymsfield SB, Kemnitz JW, Klein S, Schoeller DA, Speakman JR.
219. *Am J Clin Nutr.* 2004 May;79(5):899S-906S. **Is a calorie a calorie?** Buchholz AC¹, Schoeller DA.
220. *Public Health Nutr.* 2015 Mar;18(4):569-70. **Calories do not add up.** Monteiro CA¹, Cannon G
221. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):91-100 **Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake.** Raben A¹, Agerholm-Larsen L, Flint A, Holst JJ, Astrup A.

222. *Food Nutr Res.* 2010 Jul 2;54. **Postprandial energy expenditure in whole-food and processed-food meals: implications for daily energy expenditure.** Barr SB¹, Wright JC.
223. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011 Nov;301(5):F919-31. **The Western-style diet: a major risk factor for impaired kidney function and chronic kidney disease.** Odermatt A
224. *Metab Syndr Relat Disord.* 2003 Sep;1(3):209-19. **Thermodynamics and metabolic advantage of weight loss diets.** Feinman RD, Fine EJ.
225. **Le basi molecolari della nutrizione IV edizione** Ed Piccin Arienti G
226. *Am J Clin Nutr.* 2008 Feb;87(2):303-9. **A novel interaction between dietary composition and insulin secretion: effects on weight gain in the Quebec Family Study.** Chaput JP¹, Tremblay A, Rimm EB, Bouchard C, Ludwig DS.
227. *Cell Metab.* 2012 Dec 5;16(6):723-37. **Hyperinsulinemia drives diet-induced obesity independently of brain insulin production.** Mehran AE¹, Templeman NM, Brigidi GS *et al*
228. *Am J Clin Nutr.* 2015 Jun;101(6):1216-24. **Changes in intake of protein foods, carbohydrate amount and quality, and long-term weight change: results from 3 prospective cohorts.** Smith JD¹, Hou T², Ludwig DS², Rimm EB², Willett W², Hu FB², Mozaffarian D
229. *N Engl J Med.* 2011 Oct 27;365(17):1563-5. **The 2010 Dietary Guidelines--the best recipe for health?** Willett WC, Ludwig DS.
230. *Am J Clin Nutr.* 2013 Sep;98(3):641-7. **Effects of dietary glycemic index on brain regions related to reward and craving in men.** Lennerz BS, Alsop DC, Holsen LM, Stern E, Rojas R, Ebbeling CB, Goldstein JM, Ludwig DS.
231. *Public Health Nutr.* 2014 Dec;17(12):2626-36. **The nutrient density approach to healthy eating: challenges and opportunities.** Nicklas TA¹, Drewnowski A, O'Neil CE
232. *JAMA.* 2012 Jan 4;307(1):86-7. **Overeating and overweight: extra calories increase fat mass while protein increases lean mass.** Li Z, Heber D.
233. *JAMA Intern Med.* 2014 Apr;174(4):516-24. **Added sugar intake and cardiovascular diseases mortality among US adults.** Yang Q, Zhang Z, Gregg EW, Flanders WD, Merritt R, Hu FB
234. *BMJ.* 2012 Jan 15;346:e7492. **Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies.** Te Morenga L, Mallard S, Mann J.
235. *Econ Hum Biol.* 2014 Jul;14:33-49. **Macronutrients and obesity: revisiting the calories in, calories out framework.** Riera-Crichton D, Tefft N.
236. *PLoS One.* 2015 Oct 30;10(10):e0141341. **Everything in Moderation--Dietary Diversity and Quality, Central Obesity and Risk of Diabetes.** Otto MC, Padhye NS, Bertoni AG, Jacobs DR Jr, Mozaffarian D
237. *Nature.* 2012 Sep 13;489(7415):242-9. **Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism.** Tremaroli V¹, Bäckhed F.

238. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010;19(1):137-41. **Nuts and healthy body weight maintenance mechanisms.** Mattes RD, Dreher ML.
239. *Mayo Clin Health Lett.* 2014 May;32(5):8. **I keep reading that nuts are good for health, but I also know they are high in fat and calories. If I'm watching my weight, should I be eating nuts?** [No authors listed]
240. *Obes Rev.* 2015 Feb;16 Suppl 1:7-18 **Dieting and weight cycling as risk factors for cardiometabolic diseases: who is really at risk?** Montani JP¹, Schutz Y, Dulloo AG.
241. *Clin Nutr.* 2013 Apr;32(2):157-61. **Body composition changes after weight-loss interventions for overweight and obesity.** Santarpia L¹, Contaldo F, Pasanisi F.
242. *Nat Rev Genet.* 2015 Nov;16(11):665-81 **Exploring the emerging complexity in transcriptional regulation of energy homeostasis** Lempradl A¹, Pospisilik JA¹, Penninger JM.
243. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008 Apr;294(4):R1117-29. **Weight regain after sustained weight reduction is accompanied by suppressed oxidation of dietary fat and adipocyte hyperplasia.** Jackman MR¹, Steig A, Higgins JA, Johnson GC, Fleming-Elder BK, Bessesen DH, MacLean PS.
244. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Sep;301(3):R581-600. **Biology's response to dieting: the impetus for weight regain.** Maclean PS¹, Bergouignan A, Cornier MA, Jackman MR.
245. *Diabetes Care.* 2011 Jun;34(6):1424-30. **Obesity and type 2 diabetes: what can be unified and what needs to be individualized?** Eckel RH¹, Kahn SE, Ferrannini E, Goldfine AB, Nathan DM, Schwartz MW, Smith RJ, Smith SR; Endocrine Society; American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes.
246. *Dis Model Mech.* 2011 Nov;4(6):733-45. **Set points, settling points and some alternative models: theoretical options to understand how genes and environments combine to regulate body adiposity.** Speakman JR¹, Levitsky DA, Allison DB, *et al*
247. *Lancet.* 2011 Aug 27;378(9793):826-37. **Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight.** Hall KD¹, Sacks G, Chandramohan D, Chow CC, Wang YC, Gortmaker SL, Swinburn BA.
248. *Am J Clin Nutr.* 2007 Feb;85(2):346-54 **Why do obese patients not lose more weight when treated with low-calorie diets? A mechanistic perspective.** Heymsfield SB¹, Harp JB, Reitman ML, Beetsch JW, Schoeller DA, Erondy N, Pietrobelli A.
249. *Proc Nutr Soc.* 2012 Aug;71(3):379-89. **How dieting makes some fatter: from a perspective of human body composition autoregulation.** Dulloo AG¹, Jacquet J, Montani JP.
250. *Obes Rev.* 2015 Feb;16 Suppl 1:25-35. **How dieting makes the lean fatter: from a perspective of body composition autoregulation through adipostats and proteinstats awaiting discovery.** Dulloo AG¹, Jacquet J, Montani JP, Schutz Y.

251. *Int J Obes (Lond)*. 2012 Mar;36(3):456-64. **Does dieting make you fat? A twin study.** Pietiläinen KH¹, Saarni SE, Kaprio J, Rissanen A.
252. *J Nutr*. 2005 Jun;135(6):1347-52. **They starved so that others be better fed: remembering Ancel Keys and the Minnesota experiment.** Kalm LM, Semba RD.
253. <http://www.rebeccashouse.org/articles/why-diets-or-restricting-food-results-eating-disorders-keys-semi-starvation-experiment-1950> accessed 10/1/2016
254. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015 Apr;3(4):232-4. **Treating obesity seriously:when recommendations for lifestyle change confront biological adaptations.** Ochner CN, Tsai AG, Kushner RF, Wadden TA
255. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Dec;32 Suppl 7:S98-108. **Molecular physiology of weight regulation in mice and humans.** Leibel RL
256. *Pharmacol Ther*. 2011 Sep;131(3):295-308. **Targeting thermogenesis and related pathways in anti-obesity drug discovery.** Clapham JC, Arch JR.
257. Nestle Nutr Inst Workshop Ser. 2012;73:1-20. **Brain reorganization following weight loss.** Rosenbaum M¹, Leibel RL
258. *Adv Nutr*. 2012 Mar 1;3(2):119-26. **Skeletal muscle responses to negative energy balance: effects of dietary protein** Carbone JW¹, McClung JP, Pasiakos SM.
259. *J Exp Biol*. 2016 Jan;219(Pt 2):214-25. **Effects of skeletal muscle energy availability on protein turnover responses to exercise.** Smiles WJ¹, Hawley JA², Camera DM¹.
260. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 Nov;301(5):R1259-66. **Effects of weight loss and leptin on skeletal muscle in human subjects.** Baldwin KM¹, Joannisse DR, Haddad F, *et al*
261. *Cell Metab*. 2007 Sep;6(3):155-6 **Leucing weight with a futile cycle.** Fried SK, Watford M.
262. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Dec;287(6):R1306-15. **Enhanced metabolic efficiency contributes to weight regain after weight loss in obesity-prone rats.** MacLean PS, Higgins JA, Johnson GC, Fleming-Elder BK, Donahoo WT, Melanson EL, Hill JO.
263. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Nov;32(11):1607-10. **Evolutionary origins of the obesity epidemic: natural selection of thrifty genes or genetic drift following predation release?** Prentice AM, Hennig BJ, Fulford AJ.
264. *Physiol Behav*. 2013 Aug 15;120:106-13. **Biological mechanisms that promote weight regain following weight loss in obese humans.** Ochner CN¹, Barrios DM, Lee CD, Pi-Sunyer FX.
265. *Clin Nutr*. 2013 Apr;32(2):157-61. **Body composition changes after weight-loss interventions for overweight and obesity.** Santarpia L¹, Contaldo F, Pisanisi F.
266. *Nutr Res Rev*. 2012 Dec;25(2):223-48. **Peripheral signalling involved in energy homeostasis control.** Lancha A¹, Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J.
267. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2724-7. **Changes in muscle myostatin expression in obese subjects after weight loss.** Milan G¹, Dalla Nora E, Pilon C, Pagano C, Granzotto M, Manco M, Mingrone G, Vettor R.

268. *J Clin Invest.* 2005 Dec;115(12):3579-86. **Low-dose leptin reverses skeletal muscle, autonomic, and neuroendocrine adaptations to maintenance of reduced weight.** Rosenbaum M¹, Goldsmith R, Bloomfield D, Magnano A, *et al*
269. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000 Jan;24(1):116-25. **A descriptive study of weight loss maintenance: 6 and 15 year follow-up of initially overweight adults.** Sarlio-Lähteenkorva S¹, Rissanen A, Kaprio J.
270. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Nov 1;36(5):1565-71. **Weight cycling and high-density lipoprotein cholesterol in women: evidence of an adverse effect: a report from the NHLBI-sponsored WISE study. Women's Ischemia Syndrome Evaluation Study Group.** Olson MB, Kelsey SF, Bittner V, Reis SE, Reichek N, Handberg EM, Merz CN.
271. *Int J Obes (Lond).* 2010 Nov;34(11):1644-54. **Long-term weight loss maintenance in the United States.** Kraschnewski JL¹, Boan J, Esposito J, Sherwood NE, Lehman EB, Kephart DK, Sciamanna CN.
272. *Obes Rev.* 2015 Feb;16 Suppl 1:19-24. **Dieting: proxy or cause of future weight gain?** Lowe MR
273. *J Health Psychol.* 2015 Dec 16. [Epub ahead of print] **Why do diets fail? : An exploration of dieters' experiences using thematic analysis.** Buchanan K¹, Sheffield J
274. *Med Sci Sports Exerc.* 2015 Dec;47(12):2535-41. **The Prospective Association between Different Types of Exercise and Body Composition.** Drenowatz C¹, Hand GA, Sagner M, Shook RP, Burgess S, Blair SN.
275. *Front Biosci (Elite Ed).* 2010 Jan 1;2:98-104. **Influence of obesity, physical inactivity, and weight cycling on chronic inflammation.** Strohacker K¹, McFarlin BK.
276. *Obes Rev.* 2015 Feb;16 Suppl 1:1-6. **Pathways from dieting to weight regain, to obesity and to the metabolic syndrome: an overview.**Dulloo AG¹, Montani JP.
277. *Obes Rev.* 2014 Nov;15(11):870-81. **Impact of weight cycling on risk of morbidity and mortality.** Mehta T, Smith DL Jr, Muhammad J, Casazza K.
278. *Nutr Hosp.* 2014 May 1;29(5):1013-9. **Super obese behave different from simple and morbid obese patients in the changes of body composition after tailored one anastomosis gastric bypass (BAGUA).** García-Caballero M, Reyes-Ortiz A, García M, Martínez-Moreno JM, Toval-Mata JA
279. *J Sports Sci Med.* 2011 Jun 1;10(2):362-8. **Energy expenditure and habitual physical activities in adolescent sprint athletes.** Aerenhouts D¹, Zinzen E, Clarys P.
280. *Eur J Clin Nutr.* 2015 Jul;69(7):850-5. **Objective and subjective measurement of energy expenditure in older adults: a doubly labeled water study.** Calabro MA, Kim Y, Franke WD¹, Stewart JM², Welk GJ.
281. *Int J Obes (Lond).* 2008 Mar;32(3):573-6. **What is the required energy deficit per unit weight loss?** Hall KD

282. *Lancet*. 1986 Feb 8;1(8476):307-10 **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement**. Bland JM, Altman DG.
283. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Jan;298(1):R79-88. **Effects of experimental weight perturbation on skeletal muscle work efficiency, fuel utilization, and biochemistry in human subjects**. Goldsmith R¹, Joannisse DR, Gallagher D, Pavlovich K, Shamoan E, Leibel RL, Rosenbaum M.
284. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2007 Nov-Dec;31(6):502-7. **Assessing energy expenditure in cancer patients: a pilot validation of a new wearable device**. Cereda E¹, Turrini M, Ciapanna D, Marbello L, Pietrobelli A, Corradi E.
285. *J Phys Act Health*. 2015 Feb;12(2):178-83. **Validity of the SenseWear Armband to assess energy expenditure in graded walking**. Vernillo G¹, Savoldelli A, Pellegrini B, Schena F.
286. http://www.graphpad.com/guides/prism/6/statistics/index.htm?bland-altman_results.htm
287. *Am J Clin Nutr*. 2008 Oct;88(4):906-12. **Long-term persistence of adaptive thermogenesis in subjects who have maintained a reduced body weight**. Rosenbaum M, Hirsch J, Gallagher DA, Leibel RL.
288. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Apr;27(4):478-83. **Association between weight fluctuation and fasting insulin concentration in Japanese men**. Yatsuya H¹, Tamakoshi K, Yoshida T, Hori Y, Zhang H, Ishikawa M, Zhu S, Kondo T, Toyoshima H.
289. *Am Fam Physician*. 2015 May 1;91(9):634-8. **Nutrition myths and healthy dietary advice in clinical practice**. Lesser LI¹, Mazza MC², Lucan SC
290. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2011 Feb 4;4:67-77. **Using a technology-based intervention to promote weight loss in sedentary overweight or obese adults: a randomized controlled trial study design**. Barry VW, McClain AC, Shuger S, Sui X, Hardin JW, Hand GA, Wilcox S, Blair SN.
291. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 Jan;58(1):154-8. **Energy balance: an overview with emphasis on children**. Tam CS, Ravussin E.