

La dieta chetogenica a bassissimo contenuto di carboidrati con un integratore di aminoacidi in contrapposizione alla dieta ipocalorica fortemente ristretta, per il mantenimento della massa muscolare nel corso della perdita di peso: studio pilota

G. MERRA¹, R. MIRANDA^{2,3}, S. BARRUCCO², P. GUALTIERI², M. MAZZA², E. MORICONI^{2,4}, M. MARCHETTI⁵, A. DE LORENZO^{2,4}, L. DI RENZO

¹ Dipartimento di Emergenza, Fondazione Ospedale Generale "A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

² Sezione di Nutrizione Clinica e Nutrigenomica, Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione, Università Tor Vergata, Roma, Italia

³ Fondazione CAPES, Ministero della Pubblica Istruzione, Brasilia, Brasile, Borsa di Studio CAPES (Proc N° BE X 13264/13 -3)

⁴ Clinica "Nuova Annunziata", Roma, Italia

⁵ Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Ospedale Generale "Umberto I", "La Sapienza", Roma, Italia

Abstract

SCOPO: L'obesità ha un ruolo fisiopatologico rilevante per i problemi di salute che si presentano a seguito dell'interazione complessa di fattori genetici, nutrizionali e metabolici. Abbiamo condotto una sperimentazione di un intervento dietetico caso-controllo randomizzato per confrontare l'efficacia di due protocolli nutrizionali sulla composizione corporea: una dieta chetogenica a bassissimo contenuto di carboidrati (VLCKD), integrata con un integratore di aminoacidi con proteine del siero e una dieta ipocalorica fortemente ristretta (VLCD).

PAZIENTI E METODI:

Lo studio clinico è stato condotto con un caso-controllo randomizzato in cui venticinque soggetti sani hanno dato il consenso informato per partecipare allo studio interventistico e sono stati esaminati per lo stato di salute e nutrizione attraverso la valutazione antropometrica e l'analisi della composizione corporea.

DISCUSSIONE:

Molti studi hanno dimostrato l'efficacia della dieta chetogenica per la perdita di peso; anche se non è noto come agisca effettivamente poiché alcuni ricercatori ritengono che la perdita del peso sia dovuta all'apporto ridotto di calorie e anche che la sazietà sia indotta dall'effetto delle proteine, piuttosto che dal basso contenuto di carboidrati.

RISULTATI:

I risultati di questo studio pilota dimostrano che una dieta povera di carboidrati, associata a un apporto calorico ridotto, è efficace nella perdita di peso. Dopo la VLCKD, in contrapposizione alla VLCD, non sono state osservate differenze significative nella massa magra del tronco, nella distribuzione della massa magra (androide e ginoide) e nella massa magra corporea totale ($p > 0,05$). Inoltre la frequenza di sarcopenia all'inizio era, secondo ASMMI, del 20% nel gruppo X; dopo la VLCKD, non è stato rilevato nessun soggetto sarcopenico.

CONCLUSIONI:

Il nostro studio pilota ha mostrato che una VLCKD era altamente efficace per la riduzione del peso senza provocare la perdita di massa corporea magra e prevenendo il rischio di sarcopenia. Saranno necessari

ulteriori studi clinici su una popolazione più ampia e sul mantenimento del peso corporeo a lungo termine e sugli effetti della VLCKD nella gestione dei fattori di rischio.

Non vi è dubbio, tuttavia, che un approccio nutrizionale corretto avrebbe un impatto significativo sulla riduzione dei costi della spesa pubblica, in vista dei dati prospettici sull'aumento della percentuale di persone obese nel nostro territorio.

Parole chiave:

obesità, dieta, chetogenico, carboidrati, peso corporeo, Sarcopenia.

Introduzione

L'obesità viene definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come "una condizione in cui la percentuale del grasso corporeo (PBF) è aumentata in misura tale che la salute e il benessere risultano compromessi."

A causa dell'allarmante aumento di diffusione, l'obesità è stata dichiarata "epidemia globale". L'obesità può essere considerata principalmente come una malattia multifattoriale in base a fattori ambientali, come l'alimentazione e la scarsa attività fisica e a fattori genetici e metabolici.²

Un cross-talk tra il muscolo scheletrico e il tessuto adiposo è stato proposto e associato al controllo del peso corporeo, sia dei depositi di grasso sia della massa muscolare. La sarcopenia ha conseguenze fisiologiche e cliniche profonde, incluse ma non limitate a turnover proteico alterato, perdita di mobilità, osteoporosi, aumento del rischio di fratture, dislipidemia, insulino-resistenza, fragilità in generale, e aumento del tasso di mortalità. La combinazione di sarcopenia e obesità, definita come obesità sarcopenica, è un problema importante di salute pubblica che comporta fragilità negli anziani ed è associata a limitazioni funzionali e aumento di mortalità^{3,4}.

Gli effetti della dieta sul diabete collegato alle vie metaboliche, malattie cardiovascolari e altre malattie croniche non contagiose (CNCD) sono attualmente oggetto di studio.

L'obesità, le malattie cardiovascolari, il diabete, la malattia cronica renale, l'osteoporosi, la sarcopenia, il morbo di Alzheimer e molti tumori possono essere catalogati come malattie croniche non trasmissibili, CNCD.

Cambiamenti terapeutici di stile di vita a favore del benessere e dello stato di salute, che comprendono le abitudini alimentari e l'attività fisica, rappresentano un approccio importante per la prevenzione e la cura dello squilibrio metabolico.

Secondo la posizione dell'Accademia di Nutrizione e Dietologia, il trattamento dell'obesità che risulti efficace richiede l'attuazione e il mantenimento di modifiche terapeutiche dello stile di vita, in termini di consumo alimentare e attività fisica.⁵

La principale determinante della perdita di peso è il deficit energetico. Il medico che ha un paziente in condizione di insulino-resistenza, rigidità metabolica e infiammazione, deve essere in grado di scegliere tra le diverse opzioni del regime terapeutico. La dieta migliore per perdere peso e mantenere una buona salute è la dieta mediterranea, ma nel sistema del dimagrimento vi sono varie strategie di dieta a disposizione, divise in diete con poche calorie (LCD, 800 kcal al giorno-l) e diete a contenuto di calorie molto povero (VLCD, <800 kcal al giorno-l). Inoltre il medico dovrebbe basare la sua scelta sull'efficacia di perdita della massa grassa e sulla sicurezza del paziente durante l'intervento dietetico.

Le VLCD sono in genere utilizzate come parte di un intervento globale che comprende la sorveglianza medica e un programma per il cambiamento dello stile di vita, e sono considerate sicure ed efficaci quando vengono utilizzate da individui selezionati in modo appropriato, sotto stretto controllo medico.⁹

Poiché è importante conservare la massa magra del corpo, la VLCD si basa sull'assunzione di 70 a 100 g / giorno di proteine oppure 0,8 a 1,5 g di proteine / kg del peso corporeo ideale.

Inoltre, le VLCD che comprendono una dieta a bassissimo contenuto di carboidrati (VLCKD), possono portare a uno stato di chetosi, in cui la concentrazione dei chetoni nel sangue (acetoacetato, 3-beta-idrossibutirrato e acetone) aumenta a causa di una maggiore decomposizione degli acidi grassi e dell'attività degli enzimi chetogenici.

È stato dimostrato che una dieta chetogenica a bassissimo contenuto di carboidrati (VLCKD) è stata più efficace della dieta mediterranea nella diminuzione consistente di accumuli di biossido di carbonio nel corpo, cosa che in teoria può essere benefica per i pazienti che hanno una pressione arteriosa parziale di anidride carbonica aumentata a causa di una mancanza o di una insufficienza respiratoria. Tuttavia, le VLCD sono considerate appropriate solo per i pazienti con un indice di massa corporea (BMI) > 30 kg / h² che sono a rischio di malattie cardio-metaboliche e che hanno bisogno di una rapida perdita di peso. Poiché il tessuto adiposo e il muscolo scheletrico hanno un ruolo nel metabolismo lipidico e del glucosio, a causa della grande quantità di proteine bioattive che sono secrete da quei fattori tissutali e connesse ad alcuni fattori di rischio cardiovascolare, il limite si baserebbe solo sul peso e sull'indice di massa corporea senza prendere in considerazione la composizione corporea, in termini di rapporto tra massa grassa e magra, perché c'è un aumento di morbosità e mortalità connesso con la percentuale dell'adiposità¹².

Dal momento che è possibile identificare i soggetti obesi in base alla quantità di massa grassa anche nelle classi di peso normale e sovrappeso secondo il BMI¹³, risulta importante utilizzare la percentuale di grasso corporeo (PBF) per la diagnosi dell'obesità, e scegliere un intervento dietetico personalizzato con l'obiettivo di ridurre la massa di grasso corporeo totale (TBFat) e allo stesso tempo mantenere la massa magra (TBLearn).

Considerato che il ruolo della VLCKD per il mantenimento della massa magra corporea non è ben determinato, abbiamo condotto una sperimentazione di intervento dietetico caso-controllo randomizzato per confrontare l'efficacia di due protocolli nutrizionali sulla composizione corporea: una VLCKD, in cui il 50% di proteine è integrato da un integratore amminoacidico, e una dieta ipocalorica fortemente ristretta (VLCD). Abbiamo ipotizzato che la VLCKD può preservare la massa magra meglio durante la perdita di peso e può salvare dalla sarcopenia indotta dalla dieta.

Data l'importanza clinica di sarcopenia e obesità e anche il loro rapporto stretto in termini di composizione corporea, abbiamo analizzato il TBFat, TBLearn in maniera completa e i parametri antropometrici nei soggetti obesi dopo la perdita del peso.

Pazienti e metodi

Progettazione dello studio clinico

Lo studio clinico è stato condotto con una progettazione caso/controllo randomizzata tra ottobre 2015 e novembre 2015. Lo studio è iniziato a T0 con l'arruolamento di trenta soggetti obesi, reclutati progressivamente in un programma di check-up medico di routine presso la Sezione di Nutrizione Clinica e Nutrigenomica, presso l'Università di Roma "Tor Vergata", e nella clinica "Nuova Annunziatella" Roma, Italia.

Venticinque soggetti sani hanno dato il consenso informato per partecipare allo studio interventistico che è stato eseguito. Tutti i soggetti sono stati esaminati per il loro stato di salute e nutrizione, attraverso la valutazione antropometrica e l'analisi della composizione corporea.

I soggetti idonei per lo studio soddisfacevano i seguenti criteri di inclusione: età da 18 a 65 anni, con un BMI ≥ 25 kg/m², percentuale massa grassa (PBF) ≥ 25 per gli uomini, e ≥ 30 per le donne.

I criteri di esclusione erano: gravidanza, allattamento al seno, diabete di tipo 1, insufficienza cardiaca, disturbi endocrinologici, malattie del fegato e del rene, malattie autoimmuni, infezioni croniche virali (epatite C, B, HIV) e malattia neoplastica; il livello di creatinina nel siero di 2 mg per decilitro (177 μ mol per litro) o superiore, disfunzione epatica (un aumento dei valori GOT e GPT di almeno due fattori sul limite normale), terapia con corticosteroidi e terapia infiammatoria cronica; partecipanti di un'altra sperimentazione dietetica.

I soggetti che sono stati giudicati idonei, sono stati divisi a caso (R) in due gruppi (X e Y). Il gruppo X prendeva la VLCKD e il gruppo Y prendeva la VLCD.

Lo studio è stato condotto in doppio cieco.

I soggetti sono stati pregati di non cambiare le loro abitudini di vita. Qualsiasi effetto negativo è stato annotato correttamente.

I partecipanti non hanno ricevuto nessun compenso economico, né regali. Tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato scritto.

Le analisi sono state eseguite presso il Settore di Nutrizione Clinica e Nutrigenomica, Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione dell'Università di Roma "Tor Vergata".

Misurazioni antropometriche

Al T1, dopo 12 ore di digiuno notturno, tutti i soggetti sono stati sottoposti alla valutazione antropometrica. Le misurazioni antropometriche sono state effettuate su tutti i partecipanti secondo il metodo standard¹⁴. Tutti i soggetti sono stati invitati a togliersi i vestiti e le scarpe prima di sottoporsi alle misurazioni.

Le circonferenze di vita e fianchi sono state misurate con l'approssimazione di 0,5 cm mediante un nastro metrico di acciaio flessibile. La circonferenza fianchi è stata misurata secondo il protocollo della Società Internazionale per l'avanzamento della chinantrometria, al livello della sporgenza posteriore più grande dei glutei. La circonferenza di vita è stata misurata appena sopra la cresta iliaca come raccomandato nelle linee guida di salute dell'Istituto Nazionale. Il peso corporeo (kg)¹⁵ è stato misurato con l'approssimazione di 0,1kg, mediante una bilancia (Invernizzi, Roma, Italia). L'altezza (m) è stata misurata con l'approssimazione di 0,1cm mediante uno stadiometro (Invernizzi, Roma, Italia). Il BMI è stato calcolato con l'uso della formula: BMI = peso corporeo / altezza² (kg / m²).

Assorbimetria a raggi X a doppia energia (DXA)

Per la valutazione della composizione corporea che dà la possibilità di misurare il grasso corporeo totale (TBFat) e la massa corporea magra totale (TBLean) è stata eseguita una valutazione DXA (i-DXA, GEMedical Systems, Milwaukee, WI, USA)¹⁶ all'inizio.

La tecnica combinava uno scanner total body, una sorgente di raggi X, una ruota interna per calibrare il compartimento minerale osseo, e un fantoccio lunar in alluminio esterno per calibrare il tessuto molle. La calibrazione e la verifica della riproducibilità dei dati sono state eseguite giornalmente. I soggetti hanno ricevuto le istruzioni prima di assistere agli esami medici. I soggetti sono stati invitati a togliere tutti gli indumenti comprese scarpe, calze e oggetti metallici, ad eccezione degli indumenti intimi, prima di iniziare l'esame DXA in posizione supina, con lo scanner in movimento dalla testa in modo rettilineo lungo il corpo fino ai piedi. La misurazione era della durata di 20 min in media. La dose adeguata di radiazione di questa procedura è di circa 0,01 mSv. Il coefficiente di variazione (coefficiente di variazione = 100 x SD / media) intra- ed inter- individuale variava da 1% al 5%. Il coefficiente di variazione per le misurazioni delle ossa è inferiore a 1%; il coefficiente di variazione su questo strumento per cinque soggetti, esaminati sei volte nel

corso di un periodo di nove mesi è stato di 2,2% per un totale di grasso corporeo (TBFat), e 1,1% per il totale di massa magra (TBLearn).

La percentuale totale di grasso corporeo (PBF) è stata calcolata con la massa grassa divisa per la massa totale di tutti i tessuti, considerando anche massa ossea totale(TBBone), come segue: $PBF = (TBFat + TBLearn + TBBone) \times 100$.

L'indice di massa muscolare scheletrica appendicolare (ASMMI) = (Gambe massa muscolare (kg) + Braccia massa muscolare (kg) / altezza (m²) (Uomini <7.59 kg / m², Donne <5,47 kg / m²).

Trattamento dietetico

La dieta chetogenica a bassissimo contenuto di carboidrati (VLCKD) prevedeva un apporto energetico di 450-500 kcal al giorno per le donne e 650-700 kcal al giorno per gli uomini, con 35-40% di calorie da grassi, <10% di calorie da grassi saturi, 5% di calorie da carboidrati (< 6 g), e 55-60 % di calorie da proteine, che corrisponde a 1,2 g (donne) o 1,5 g (uomini) / kg di peso corporeo, e un'assunzione di 25 mg di fibre al giorno. La metà della quantità di proteine al giorno si è raggiunta usando un integratore aminoacidico denominato Amin 21 K (Italfarmacia, Roma, Italia). La somministrazione corretta della dieta è stata valutata con una striscia reattiva nelle urine. La polvere degli aminoacidi è stata sciolta in acqua e bevuta a colazione e pranzo o cena.

La dieta ipocalorica fortemente ristretta (VLCD) prevedeva un apporto energetico di 450-500 kcal al giorno per le donne e 650-700 kcal al giorno per gli uomini, con 35-40% di calorie da grassi, <10% di calorie da grassi saturi, 15-20% di calorie da carboidrati (<20 g (donne) o <30 g (uomini),e 45-50% di calorie da proteine, che corrisponde a 0,9 g (donne) o 1,1 g (uomini) / kg del peso corporeo e un'assunzione di 25 mg di fibre al giorno.

In tutti i casi sono stati prescritti una capsula di multivitaminico, un'adeguata integrazione di sali minerali e un prodotto alcalinizzante. La somministrazione corretta della dieta è stata valutata con una striscia reattiva nelle urine.

Analisi statistica

Un t-test accoppiato o un test Wilcoxon non parametrico sono stati eseguiti per valutare le differenze all'inizio e dopo l'intervento nutrizionale.

Le differenze tra il parametro all'inizio e dopo la dieta sono state calcolate come segue: $\Delta\% = [(Z-W)/W] \times 100$, dove $\Delta\%$ è la variazione di percentuale di ciascun parametro, calcolata come rapporto di variazione assoluta al valore di base.

In tutti i test statistici eseguiti, l'ipotesi zero (nessun effetto) è stata respinta al livello 0,05 di probabilità.

Risultati

Dei 25 soggetti reclutati, quattro di loro non hanno soddisfatto i criteri di inclusione; pertanto 21 partecipanti sono risultati idonei per lo studio. Tre soggetti hanno rifiutato di partecipare dopo una settimana, quindi diciotto pazienti hanno completato lo studio, con un'età media di 47.54 ± 14.38 anni. L'età media del gruppo X è stata 45.40 ± 16.39 e del gruppo Y è stata 49.33 ± 13.78 ($p = 0.68$). La popolazione era costituita del 72.72% da sesso femminile e 27.28% da sesso maschile.

All'inizio(T0) il BMI medio era 33.69 ± 3.51 kg/m². Secondo il BMI , 54.54% della popolazione era in sovrappeso, il 45.46% era obeso. Nel gruppo X l'80% era obeso. Nel gruppo Y il 16,67% era obeso.

Tutti i soggetti erano obesi in base al PBF valutato da DXA (> 30% per donne,> 25% per uomini).

Le caratteristiche dei partecipanti all'inizio(T0) dopo 3 settimane di ogni trattamento dietetico(T1) sono riportati nella tabella I (VLCKD) e nella Tabella II(VLCD).

Tavola I. Confronto tra la composizione corporea prima e dopo la somministrazione della dieta chetogenica a bassissimo contenuto di carboidrati

| n= 9 | Inizio (T0) Mdia (SD) | Dopo tre settimane di VLKD (T1) Media (SD) | P |
|--|--------------------------|--|--------|
| peso (kg) ^a | 99.78 (4.57) | 92.80 (4.78) | 0.00 * |
| BMI (kg/m ²) ^a | 33.69 (3.51) | 31.36 (3.59) | 0.00 * |
| circonferenza vita(cm) ^a | 103.90 (5.98) | 98.40 (5.91) | 0.00 * |
| circonferenza addome (cm) ^a | 111.82 (5.42) | 108.20 (6.73) | 0.03 * |
| circonferenza fianchi (cm) ^a | 114.30 (6.42) | 111.30 (7.73) | 0.01 * |
| grasso corporeo tronco (kg) ^a | 20.37 (5.59) | 19.78 (4.99) | 0.59 |
| magro corporeo tronco (kg) ^a | 25.06 (5.55) | 26.23 (4.74) | 0.69 |
| grasso corporeo androide (kg) ^a | 3.3046 (1,11) | 3.2078 (0.92) | 0.76 |
| magro corporeo androide (kg) ^a | 3.75 (1.09) | 3.92 (0.61) | 0.75 |
| grasso corporeo ginoide (kg) ^a | 6.01 (1.50) | 5.70 (1.10) | 0.30 |
| magro corporeo ginoide (kg) ^a | 8.06 (2.18) | 8.59 (1.81) | 0.67 |
| grasso corporeo totale (kg) ^a | 37.24 (9.31) | 34.79 (9.38) | 0.02 * |
| magro corporeo totale (kg) ^a | 53.01 (12.86) | 54.93 (8.96) | 0.75 |
| Percentuale grasso corporeo (%) ^a | 40.30 (8.25) | 37.52 (9.63) | 0.30 |

Tavola II. Confronto tra la composizione corporea prima e dopo la somministrazione della dieta ipocalorica fortemente ristretta

| n= 9 | Inizio (T0) Mdia (SD) | Dopo tre settimane di VLKD (T1) Media (SD) | P |
|--|--------------------------|--|--------|
| peso (kg) ^a | 74.77 (5.04) | 68.80 (4.24) | 0.00 * |
| BMI (kg/m ²) ^a | 29.21 (1.07) | 26.90 (1.34) | 0.00 |
| circonferenza vita(cm) ^b | 84.72 (2.73) | 83.75 (7.05) | 0.34 |
| circonferenza addome (cm) ^a | 99.92 (3.18) | 96.67 (3.34) | 0.02 * |
| circonferenza fianchi (cm) ^a | 109.42 (3.18) | 105.98 (2.61) | 0.00 * |
| grasso corporeo tronco (kg) ^b | 16.20 (1.86) | 15.32 (2,11) | 0.1 |
| magro corporeo tronco (kg) ^b | 18.32 (1.09) | 16.98 (1,25) | 0.03 * |
| grasso corporeo androide (kg) ^a | 2.76 (0.41) | 2.39 (0,45) | 0.00 * |
| magro corporeo androide (kg) ^a | 2.70 (0.21) | 2.38 (0.20) | 0.00 |
| grasso corporeo ginoide (kg) ^b | 6.71 (2.05) | 5.42 (0.64) | 0.03* |
| magro corporeo ginoide (kg) ^a | 5.85 (0.57) | 5.53 (0.46) | 0.04 * |
| grasso corporeo totale (kg) ^a | 33.06 (3.60) | 30.59 (3.65) | 0.00 * |
| magro corporeo totale (kg) ^a | 39.00 (3.03) | 35.70 (3.09) | 0.00 * |
| Percentuale grasso corporeo (%) ^a | 44.37 (3.35) | 44.53 (4.14) | 0.74 |

Dopo 3 settimane di dieta (T1), in base al BMI, il 72.72% della popolazione era in sovrappeso, il 27.28% era obeso. Nel gruppo X il 60% era obeso. Nel gruppo Y, nessun soggetto è stato classificato come obeso. Tutti i gruppi hanno avuto una diminuzione significativa del BMI: dopo la VLCKD $\Delta\%$ del BMI era = -6,91, ($p = 0.00$), e dopo la VLCD $\Delta\%$ dell'indice di massa corporea era = -7.91 ($p = 0.00$). Entrambi i gruppi hanno perso peso, ma la riduzione è stata maggiore nella VLCD ($\Delta\% = -7,98$; $p = 0.00$), rispetto alla VLCKD ($\Delta\% = -6,99$; $p = 0.00$).

Tuttavia, in entrambi i gruppi non è stata osservata nessuna riduzione significativa della percentuale di grasso corporeo PBF ($p > 0.05$).

Dopo la VLCKD, non sono state osservate differenze significative nel grasso corporeo del tronco, nella distribuzione del grasso corporeo (androide e ginoide), mentre la circonferenza addome ($\Delta\% = -3.23$), la circonferenza fianchi ($\Delta\% = -7.98$), la circonferenza vita ($\Delta\% = -5.29$), e il grasso corporeo totale ($\Delta\% = -6.57$) erano significativamente differenti ($p < 0.05$).

Dopo la VLCD, non sono state osservate differenze significative nella circonferenza vita e nel grasso corporeo del tronco. Tuttavia, la circonferenza addominale ($\Delta\% = -3.25$), la circonferenza fianchi ($\Delta\% = -3.14$), il grasso corporeo androide ($\Delta\% = -13.40$), la distribuzione del grasso corporeo ginoide ($\Delta\% = -19.22$), e il grasso corporeo totale ($\Delta\% = -7.47$) erano significativamente differenti ($p < 0.05$).

Inoltre, dopo la VLCD è stata evidenziata una diminuzione significativa della massa magra totale del tronco ($\Delta\% = -7.31$), della distribuzione di massa corporea magra androide ($\Delta\% = -11.85$), della distribuzione di massa corporea magra ginoide ($\Delta\% = -5.47$) e della massa magra corporea totale ($\Delta\% = -8.46$) ($p < 0.05$).

Dopo la VLCKD non sono state osservate differenze significative nella massa magra corporea del tronco, nella distribuzione di massa magra (androide e ginoide), nella massa magra corporea totale ($p > 0.05$).

Inoltre, nel gruppo X la presenza di sarcopenia all'inizio è stata del 20% in base a ASMMI; dopo la VLCKD, nessun soggetto sarcopenico è stato rilevato.

Discussione

Molti studi hanno dimostrato l'efficacia della dieta chetogenica per la perdita del peso⁷; anche se è noto in che modo agisca efficacemente, poiché alcuni ricercatori pensano che la perdita di peso sia dovuta al ridotto apporto di calorie e che la sazietà sia indotta per effetto delle proteine piuttosto che del basso contenuto dei carboidrati²⁰. Altri, invece, ritengono che in realtà ci sia un beneficio metabolico in base alla prima legge di emodinamica o legge di conservazione energetica¹¹.

Tuttavia, altri studiosi hanno ancora rimarcato vecchie considerazioni per le quali sarebbe poco importante che ci siano macronutrienti presenti nella dieta che sono efficaci solo per la riduzione delle calorie²². Contrariamente a queste opinioni, la maggior parte degli studi ha dimostrato che le persone che seguono una dieta a basso contenuto di carboidrati perdono più peso nei primi 3-6 mesi rispetto a coloro che seguono delle diete bilanciate²³⁻²⁵, forse perché le proteine della dieta chetogenica rappresentano un processo dispendioso per il corpo umano e consentono una perdita di peso maggiore^{21,26,27}. Il dispendio energetico della gluconeogenesi è stata confermata in diversi studi^{18,20} ed è stato calcolato in ~400-600Kcal / giorno (dovuto sia alle proteine endogeni che alle proteine da cibo)²⁶. Ciononostante non esiste una prova sperimentale a sostegno di questa ipotesi, al contrario, uno studio recente ha dimostrato che non ci sono cambiamenti nel dispendio energetico dopo una VLCKD²⁸. Certamente gli effetti della perdita del peso in una VLCD dipendono da vari fattori: dalla diminuzione dell'appetito a causa delle proteine che determinano sazietà^{20,30}, dagli effetti sugli ormoni²⁹ che controllano l'appetito e da una eventuale azione anoressizzante diretta dei corpi chetonici²¹; dalla riduzione della lipogenesi e dell'aumento di lipolisi^{18,19}; dalla riduzione del quoziente respiratorio a riposo e quindi da una maggiore efficacia metabolica nel consumo dei grassi^{28,32}; dall'aumento di dispendio metabolico della gluconeogenesi e dall'effetto termico delle proteine^{21,26}.

Ci sono alcune prove a supporto dell'utilizzo di proteine del siero per aumentare gli ormoni anabolizzanti, come l'insulina e il GH. Tuttavia, le proteine del siero hanno una potenzialità come componente alimentare funzionale per contribuire alla regolazione del peso corporeo, dando segnali di sazietà²⁷. Le proteine del siero sembrano avere un effetto ipoglicemizzante, in parte mediato dalle incretine. Gli effetti delle proteine del siero sul meccanismo metabolico sembrano essere nella sintesi proteica muscolare¹⁸. Alcuni risultati in diversi studi hanno dimostrato l'importanza della qualità delle proteine come determinante per

le risposte della massa magra durante l'esercizio di resistenza ⁴⁴. Quindi abbiamo ipotizzato che, nel corso della perdita di peso, il valore biologico delle proteine sia fondamentale. Invece, non ci sono effetti chiari dimostrati sui lipidi del sangue e le lipoproteine, sulla pressione sanguigna e sulla funzione vascolare.

I risultati di questo studio pilota dimostrano che una dieta povera di carboidrati, associata a un ridotto apporto di calorie è efficace nella perdita di peso. Sebbene la compliance alle diete è stata valutata principalmente dai protocolli delle diete, questi dati sono supportati da misurazioni più oggettive. Quindi, riteniamo che i risultati di questo studio possano essere attribuiti in primo luogo alle differenze nelle prescrizioni dietetiche dei due gruppi e siano applicabili alla maggioranza degli obesi. Anche la quantità dell'acqua corporea svolge un ruolo importante perché la perdita di peso può essere dovuta alla diuresi in seguito alla restrizione calorica oppure alla riduzione dell'acqua corporea in seguito, presumibilmente, alla riduzione delle riserve di glicogeno ^{33,34}. Tuttavia, questi studi sono stati di breve durata, di un periodo di 2-3 settimane. La maggior parte delle diete che hanno una restrizione significativa di calorie provocano una diuresi di sodio che si verifica nel corso della prima settimana o nelle 3 settimane dal loro uso, e infatti, abbiamo notato la perdita di peso più rapida in entrambi i gruppi in questo periodo. La nostra analisi di composizione corporea ha rivelato una percentuale simile di grasso corporeo come quella nel gruppo di dieta a basso contenuto di grassi. Poiché crediamo che sia inverosimile pensare che il cambiamento di peso nei gruppi in 3 e 6 mesi sia dovuto alla variazione dell'acqua corporea nella dieta a basso contenuto di carboidrati piuttosto che alla riduzione del consumo di calorie ³⁵. Anche se l'imprecisione dei protocolli delle diete per gli individui obesi è ben documentata ^{36,37}, non è facile pensare che la riduzione del peso nei due gruppi avvenga solo a causa di un diverso apporto calorico ma probabilmente anche di un metodo diverso. Non molto chiara sembra essere inoltre la riduzione nell'assunzione di cibo del gruppo di pazienti con una dieta povera di carboidrati a un livello uguale al gruppo VLCD che seguivano una restrizione di calorie prescritta. Questo suggerisce l'eventualità che la dieta a basso contenuto di carboidrati dia un maggior senso di sazietà. Diversi studi hanno suggerito, infatti, che le proteine soddisfanno l'appetito più dei carboidrati e dei grassi ^{38,39}.

Anche se è noto come la chetosi secondaria a un consumo maggiore di proteine causi un appetito ridotto, questo non sembra probabile in base ai nostri dati. Al termine di questo studio è importante sottolineare alcuni punti. In primo luogo, un unico studio non può definire i criteri di sicurezza ed efficacia, anche perché i nostri risultati sono ancora limitati dalla mancanza di dati a lungo termine, ma abbiamo la certezza che una dieta a basso contenuto di carboidrati determinerà la perdita di peso e la riduzione dei fattori di rischio cardiovascolare e cancro in periodi di analisi più lunghi ⁴¹.

Occorre fare attenzione, al basso apporto di calcio e fibre nella dieta a contenuto ridotto di carboidrati e al fatto che la chetosi si è dimostrata essere collegata alla disfunzione miocardica nei bambini ⁴². Infine, il mantenimento della massa muscolare che è stato osservato durante una VLCKD è possibile in almeno quattro probabili meccanismi ⁴³. Può essere intervenuto perché l'aumento dei bassi livelli di zucchero nel sangue sono uno stimolo per la sua secrezione e potrebbe essere che la massa proteica del muscolo scheletrico sia affetta da influssi adrenergici. Il fegato produce corpi chetonici nel corso di una VLCKD e questi fluiscono dal fegato ai tessuti extra-epatici (ad esempio il cervello, muscolo) per l'uso come combustibile. Siccome lo zucchero carente nel sangue aumenta le secrezioni del GH, si potrebbe ipotizzare che una VLCKD aumenti i livelli del GH. Una VLCKD è quasi sempre relativamente ricca di proteine e ci sono prove che l'assunzione di un contenuto proteico ricco accresce la sintesi proteica aumentando la disponibilità sistemica di amminoacidi ⁴⁴ che è un potente stimolo della sintesi proteica muscolare ⁴⁵. Durante la perdita del peso, l'assunzione più elevata di proteine riduce la perdita di massa muscolare e aumenta la perdita di grassi ⁴⁶ corporei. La stessa può interagire con l'insulina per regolare il controllo della sintesi proteica a supporto della massa muscolare durante i periodi di assunzione ridotta di calorie. ⁴⁷

Conclusioni

Il nostro studio pilota ha mostrato che una VLCKD è stata altamente efficace in termini di riduzione del peso corporeo senza provocare la perdita di massa magra corporea, prevenendo il rischio di sarcopenia.

Di seguito questi dati servono come informazioni cliniche per facilitare le quantità e la selezione della dieta per la prevenzione dei rischi indotti durante il trattamento dietetico nella gestione dell'obesità.

Saranno necessarie ulteriori sperimentazioni cliniche effettuate su una popolazione più ampia che verifichino il mantenimento del peso corporeo a lungo termine e gli effetti della gestione dei fattori di rischio della VLCKD.

Dato che l'intero spettro degli effetti metabolici indotti dalla VLCKD non è completamente caratterizzato, c'è bisogno di nuove sperimentazioni che siano progettate per valutare gli effetti combinati di genotipi e di intervento dietetico. L'analisi nutrigenomica, nutrigenetica e biochimica potrebbe essere effettuata per garantire la sicurezza durante i trattamenti dietetici, prima che possano essere fatte conclusioni definitive

La prospettiva della medicina personalizzata può contribuire a spostare la prevenzione e il trattamento dell'obesità dai metodi universali a quelli di precisione, verso programmi di dimagrimento a misura del genoma personale⁴⁹. Il progresso nell'aiuto alle persone obese a raggiungere un peso sano consisterà nell'utilizzare il comportamento, la composizione corporea e i dati genetici per la personalizzazione delle diete, un approccio conosciuto come "perdita di peso di precisione".

Nel 2010, la spesa sanitaria pubblica in Italia ammontava a € 113.5 miliardi, pari al 7,3% del PIL. La proiezione della spesa sanitaria pubblica nel 2050 si è concentrata sulla valutazione dell'impatto dei componenti demografici ed economici. I cambiamenti demografici e la crescita del reddito disponibile impattano fino a oltre 168 miliardi di € sui conti della sanità rispetto al 2010. Alla fine di questo periodo la spesa pubblica sanitaria ammonterebbe a un valore vicino ai 281.5 miliardi di €, pari al 9,7% del PIL. Questo modello è basato sull'ipotesi di un costante quadro epidemiologico attuale. Tuttavia, nello schema di previsione, si può ipotizzare di introdurre un cambiamento nel quadro epidemiologico associato all'aumento di fattori di rischio di molte malattie (malattie cardiovascolari, diabete, alcuni tipi di cancro, etc.) come l'obesità. Le ipotesi di base sono le seguenti: i bambini obesi italiani sono l'11% della popolazione; si stima che il numero di obesi adulti crescerà del 2,4% all'anno fino al 2025, e del 2,8% su base annua dal 2025-2050, tenendo conto che il 70% dei bambini obesi rimangono obesi da adulti adesso, e che in media un terzo degli obesi adulti è obeso fin dall'infanzia; si presuppone che il costo di assistenza sanitaria di una persona obesa adulta è in media 1400 € in più del costo della salute media pro capite.

Percorrendo le cifre dei costi sanitari pro-capite collegate a ogni obeso e il crescente numero degli obesi, si può valutare il maggiore impatto sui costi della cura sanitaria. Con una previsione per il 2050, questa simulazione porta a maggiori spese, in confronto al caso base del modello, di circa 24.3 miliardi di €, risultando in un rapporto spesa sanitaria e PIL pari a circa il 10,6% (rispetto al 9,7% del caso base del modello di previsione). Il costo complessivo causato dal quadro epidemiologico simulato per il periodo dal 2010-2050 è di 347,5 miliardi di euro per le malattie cui va soggetta più frequentemente una persona di peso normale. Cambiando le supposizioni di obesità epidemiologica combinata con quelle della composizione demografica, il numero degli obesi arriva a quasi 14 milioni nel 2050 (rispetto alle ipotesi), e sarebbero circa 5 milioni nel caso cambiassero. Quindi, con un incremento di 1.400 euro in più per ogni anno per le malattie correlate all'obesità, si produrrebbe 28.000 € pro capite in più di spesa in 20 anni. Se questi rappresentano il 10% degli adulti nella popolazione sopra i 18 anni (10% dei 50 milioni di persone= 5 milioni di persone in media) porterebbero a una maggiore spesa totale di 140 miliardi di euro in 20 anni,

vale a dire 7 miliardi in più (o meno se si è guariti), in pratica circa un 5-6% di spesa in più delle stime se non vengono curati.

La prospettiva di medicina personalizzata può contribuire a spostare la prevenzione e il trattamento dell'obesità dai metodi universali a quelli di precisione, verso programmi di dimagrimento a misura del genoma personale ⁴⁹. Il progresso nell'aiuto alle persone obese a raggiungere un peso sano consisterà nell'utilizzare il comportamento, la composizione corporea e i dati genetici per la personalizzazione delle diete, un approccio conosciuto come "perdita di peso di precisione".

Ringraziamenti

Siamo grati a tutti le persone che hanno contribuito volontariamente alla sperimentazione clinica. Ringraziamo anche l'intera equipe medica dell'unità di ricerca clinica per la loro assistenza tecnica nel condurre gli aspetti clinici di questo studio.

Conflitto d'interessi

Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi.

Riferimenti

- 1) World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report Series 894 on a WHO Consultation on Obesity. Geneva, Switzerland: WHO; 2000.
- 2) Shuldiner AR. Obesity genes and gene-environment-behavior interactions: recommendations for a way forward obesity (silver spring). *Obesity* 2008; 16 Suppl 3: S79-S8.
- 3) Silva AO, Karnikowski MG, Funghetto SS, Stival MM, Lima RM, De Souza JC, Navalta JW, Prestes J. Association of body composition with sarcopenic obesity in elderly women. *Int J Gen Med* 2013; 6: 25-29.
- 4) Chung JY, Kang HT, Lee DC, Lee HR, Lee YJ. Body composition and its association with cardiometabolic risk factors in the elderly: a focus on sarcopenic obesity. *Arch Gerontol Geriatr* 2013; 56:270-278.
- 5) Hoelscher DM, Kirk S, Ritchie L, Cunningham-Sabo L; Academy Positions Committee. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: interventions for the prevention and treatment of pediatric overweight and obesity. *J Acad Nutr Diet* 2013; 113: 1375-1394.
- 6) De Lorenzo A, Petroni ML, De Luca PP, Andreoli A, Morini P, Iacopino L, Innocente I, Perriello G. Use of quality control indices in moderately hypocaloric Mediterranean diet for treatment of obesity. *Diabetes Nutr Metab* 2001; 14: 181-188.
- 7) Martínez-González MA, García-Arellano A, Toledo E, Salas-Salvadó J, Buil-Cosiales P, Corella D, Covas MI, Schröder H, Arós F, Gómez-Gracia E, Fiol M, Ruiz-Gutiérrez V, Lapetra J, Lamuela-Raventós RM, Serra-Majem L, Pintó X, Muñoz MA, Wärnberg J, Ros E, Estruch R; Predimed Study Investigators. A 14-Item Mediterranean diet assessment Tool and Obesity Indexes among HighRisk Subjects: The PREDIMED Trial. *PLoS One* 2012; 7: 43134.
- 8) Uchegbu EC, Kopelman PG. Obesity: Treatment. *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*, 2013; pp. 374-382.
- 9) Tsai AG, Wadden TA. The evolution of very-low-calorie diets: an update and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14: 1283-1293.
- 10) Rubini A, Bosco G, Lodi A, Cenci Lo, Parmagnani A, Grimaldi K, Zhongjin Y, Paoli A. Effects of twenty days of the ketogenic diet on metabolic and respiratory parameters in healthy subjects. *Lung* 2015; 193: 939-945.
- 11) National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity, National Institutes of Health. Very low-calorie diets. *JAMA* 1993; 270: 967-974.
- 12) De Lorenzo A, Soldati L, Sarlo F, Calvani M, Di Renzo n, Di Renzo L. New obesity Classification Criteria as a tool For bariatric surgery indication. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 681-703.
- 13) De Lorenzo A, Bianchi A, Maroni P, Jannarelli A, Di Daniele N, Iacopino L, Di Renzo L. Adiposity rather than BMI determines metabolic risk. *Int J Cardiol* 2013; 166: 111-117.
- 14) Norton K, Olds T. *Anthropometrica*, UNSW Press: Sydney, Australia, 1996.
- 15) Wang J, Thornton JK, Bari S, Williamson B, Gallagher D, Heymsfield SB, Horlick M, Kotler D, Laferrère B, Mayer L, Pi-Sunyer FX, Pierson RN Jr. Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 379-384.
- 16) Di Renzo L, Rizzo M, Iacopino L, Sarlo F, Domino E, Jacoangeli F, Colica C, Sergi D, De Lorenzo A. Body composition phenotype: Italian mediterranean diet and C677T MTHFR gene polymorphism interaction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 2555-2565.
- 17) Paoli A, Rubini A, Volek JS, Grimaldi KA. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67: 789-796.
- 18) Veldhorst MA, Westerterp-Plantenga MS, Westerterp KR. Gluconeogenesis and energy expenditure after a high-protein, carbohydrate-free diet. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 519-526.
- 19) Cahill GF, Jr. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr* 2006; 26: 1-22.
- 20) Westerterp-Plantenga MS, Nieuwenhuizen A, Tome D, Soenen S, Westerterp KR. dietary Protein, Weight Loss and Weight Maintenance. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 21- 41.
- 21) Feinman RD, Fine EJ. Nonequilibrium thermodynamics and energy efficiency in weight loss diets. *Theor Biol Med Model* 2007; 4: 27.
- 22) Freedman MR, King J, Kennedy E. Popular diets: a scientific review. *Obes Res* 2001; 9 Suppl 1: 1S-40S.
- 23) Brehm BJ, Seeley RJ, Daniels SR, D'Alessio DA. A randomized trial comparing a very low carbohydrate diet and a calorie-restricted low fat diet on body weight and cardiovascular risk factors in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1617-1623.
- 24) Gardner CD, Kiazand A, Alhassan S, Kim S, Stafford RS, Balise RR, Kraemer HC, King AC. Comparison of the Atkins, zone, ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors among overweight premenopausal women: The A TO Z weight loss study: a randomized trial. *JAMA* 2007; 297: 969-977.
- 25) Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, Golan R, Fraser D, Bolotin A, Vardi H, Tangi-Rozental O, Zuk-Ramot R, Sarusi B, Brickner D, Schwartz Z, Sheiner E, Marko R, Katorza E, Thiery J, Fiedler GM, Blüher M, Stumvoll M, Stampfer MJ; dietary intervention randomized Controlled trial (direct) group. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med* 2008; 359: 229-241.
- 26) Fine EJ, Feinman RD. Thermodynamics of weight loss diets. *Nutr Metab (Lond)* 2004; 1: 15.
- 27) Halton TL, Hu FB. The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: a critical review. *J Am Coll Nutr* 2004; 23: 373-385.

- 28) Paoli A, Grimaldi K, Bianco A, Lodi A, Cenci L, Parmagnani A. Medium Term Effects of a Ketogenic Diet and a mediterranean diet on resting energy expenditure and respiratory ratio BMC Proceedings 2012;6(Suppl 3): P37.
- 29) Sumithran P, Prendergast LA, Delbridge E, Purcell K, Shulkes A, Kriketos A, Proietto J. Ketosis and appetite-mediating nutrients and hormones after weight loss. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67: 759-764.
- 30) Veldhorst M, Smeets A, Soenen S, Hochstenbach-Waelen A, Hursel R, Diepvens K, Lejeune M, Luscombe-Marsh NN, Westerterp-Plantenga M. Protein-induced Satiety: effects and Mechanisms of different proteins. *Physiol Behav* 2008; 94: 300-307.
- 31) Johnstone AM, Horgan GW, Murlison SD, Bremner DM, Lobley GE. Effects of a high-protein ketogenic diet on hunger, appetite, and weight loss in obese men feeding ad libitum. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 44-55.
- 32) Paoli A, Cenci L, Fancelli M, Parmagnani A, Fratter A, Cucchi A, Bianco A. Ketogenic diet and phytoextracts comparison of the efficacy of mediterranean, zone and tisanoreica diet on some health risk factors. *Agro Food Ind. Hi-Tech* 2010; 21: 24-29.
- 33) Yang MU, Van Itallie TB. Composition of weight lost during short-term weight reduction. Metabolic responses of obese subjects to starvation and low calorie ketogenic and nonketogenic diets. *J Clin Invest* 1976; 58: 722-730.
- 34) Bortz WM, Wroldson A, Morris P, Issekutz B JR. Fat, carbohydrate, salt, and weight loss. *Am J Clin Nutr* 1967; 20: 1104-1112.
- 35) Melanson K, Dwyer J. Popular diets for treatment of overweight and obesity. In: Wadden TA, Stunkard AJ, eds. *Handbook of obesity treatment*. New York: Guilford Press, 2002; pp. 249-282.
- 36) Martin JJ, Su W, Jones PJ, Lockwood GA, Tritchler DL, Boyd NF. Comparison of energy intakes determined by food records and doubly labeled water in women participating in a dietary-intervention trial. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 483-490.
- 37) Sawaya AL, Tucker K, Tsay R, Willett W, Saltzman E, Dallal GE, Roberts SB. Evaluation of four methods for determining energy intake in young and older women: comparison with doubly labeled water measurements of total energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:491-499.
- 38) Barkeling B, Rossner S, Bjorvell H. Effects of a high-protein meal (meat) and a high-carbohydrate meal (vegetarian) on satiety measured by automated computerized monitoring of subsequent food intake, motivation to eat and food preferences. *Int J Obes* 1990; 14: 743-751.
- 39) Stubbs RJ, Van Wyk MC, Johnstone M, Harbron CG. Breakfasts high in protein, fat or carbohydrate: effect on within-day appetite and energy balance. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 409-417.
- 40) Atkins R. Dr. Atkins new diet revolution. New York: Avon Books, 1992.
- 41) Lichtenstein AH, Kennedy E, Barrier P, Danford D, Ernst ND, Grundy SM, GA, Van Horn L, Williams CL, Booth SL. Dietary fat consumption and health. *Nutr Rev* 1998; 56: S3-S19.
- 42) Best TH, Franz DN, Gilbert DL, Nelson DP, Epstein MR. Cardiac complications in pediatric patients on the ketogenic diet. *Neurology* 2000; 54: 2328-2330.
- 43) Manninen AH. Very-low-carbohydrate diets and preservation of muscle mass. *Nutrition & Metabolism* 2006; 3: 9.
- 44) Motil KJ, Matthews DE, Bier DM, Burke JF, Munro HN, Young VR. Whole-body leucine and lysine metabolism: response to dietary protein intake in young men. *Am J Physiol* 1981; 240: E712-E721.
- 45) Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Zhang XJ, Volpi E, Wolf SE, Aarsland AA, Ferrando AA, Wolfe RR. Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286: E321-E328.
- 46) Layman DK, Evans E, Baum JJ, Seyler J, Erickson DJ, Boileau RA. Dietary protein and exercise have additive effects on body composition during weight loss in adult women. *J Nutr* 2005; 135: 1903-1910.
- 47) Layman DK, Walker DA. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J Nutr* 2006; 136: 319S-23S.
- 48) Asrih M, Altirriba J, Rohner-Jeanrenaud F, Jornayvaz FR. Ketogenic diet impairs FGF21 signaling and promotes differential inflammatory responses in the liver and white adipose tissue. *PLoS One* 2015; 10: e0126364.
- 49) Bray MS, Loos RJF, McCaffery JM, Ling C, Franks PW, Weinstock GM, Snyder MP, Vassy JL, Agurs-Collins T, The Conference Working Group. NIH working group report-using genomic information to guide weight management: from universal to precision treatment. *Obesity (Silver Spring)* 2016; 24: 14-22