



Nutrizione, adiposità e salute

Nutrition, adiposity and health

Luigi Fontana

Reparto di alimentazione, nutrizione e salute, Istituto superiore di sanità, Roma

Division of Geriatrics and Nutritional Science and Center for Human Nutrition, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA

Corrispondenza: Luigi Fontana, Reparto di alimentazione, nutrizione e salute, Istituto superiore di sanità, via Regina Elena 299, 00161 Roma; tel. 06 49902589; fax 0649387149; e-mail: fontana@iss.it, lfontana@wustl.edu

Riassunto

L'introito calorico è un importante determinante della salute. Un'eccessiva assunzione di calorie si associa con obesità addominale, diabete mellito di tipo 2, malattie cardiovascolari, cancro e mortalità prematura. Nei roditori, la restrizione calorica senza malnutrizione aumenta la durata della vita attraverso la prevenzione di molte malattie croniche e preservando le funzioni fisiologiche dell'organismo ad uno stato più giovanile. Negli esseri umani in sovrappeso ed obesi, la restrizione calorica migliora il profilo metabolico e riduce la mortalità per diabete mellito tipo 2, malattie cardiovascolari e cancro. Nei soggetti sani di mezza età, la restrizione calorica causa molti degli adattamenti che si osservano

nei roditori in restrizione calorica, compresi la diminuzione di fattori metabolici, infiammatori e ormonali per il diabete, l'ipertensione, le malattie cardiovascolari ed il cancro. L'assunzione di proteine e di polifenoli e l'attività fisica possono apportare ulteriori effetti benefici nella prevenzione delle malattie croniche e nella promozione della salute. Sono necessari ulteriori studi per identificare con precisione l'assunzione di calorie, proteine e polifenoli e la quantità di esercizio necessari per una salute ottimale in ciascun individuo, in relazione all'età, al sesso e al background genetico. (*Epidemiol Prev* 2007; 31(5): 289-294)

Parole chiave: adiposità, nutrizione, diminuzione delle calorie, resistenza allo sforzo, invecchiamento

Abstract

Calorie intake is an important determinant of health. Excessive energy intake is associated with abdominal obesity, type 2 diabetes, cardiovascular disease, cancer, and premature mortality. Calorie restriction (CR) without malnutrition increases maximal lifespan by preventing many age-associated chronic diseases and by preserving function at more youthful-like states in rodents. In overweight and obese humans CR improves metabolic health and reduced mortality for type 2 diabetes, cardiovascular disease and cancer. In middle-aged healthy lean individuals CR causes many of the same cardiometabolic adapta-

tions that occur in long-lived CR rodents, including decreased metabolic, inflammatory, and hormonal risk factors for diabetes, hypertension, cardiovascular disease and cancer. Protein and polyphenols intake, and physical activity may have additional beneficial effects in preventing diseases and promoting health. Additional studies are needed to identify the precise calorie, protein and polyphenols intake and amount of exercise needed for optimal health in each individual, depending on his/her age, sex and genetic background.

(*Epidemiol Prev* 2007; 31(5): 289-290-94)

Key words: adiposity, nutrition, calorie restriction, endurance exercise, aging

Introduzione

Sovrappeso e obesità hanno raggiunto ormai proporzioni epidemiche in molti paesi industrializzati, diventando uno dei principali problemi di salute pubblica. Una vita sedentaria e una dieta ipercalorica sono i fattori responsabili dell'eccessivo accumulo di trigliceridi nel tessuto adiposo, che, a sua volta, sta alla base di una cascata di eventi biologici che aumenta drasticamente il rischio cardiovascolare e tumorale, le due principali cause di morte nei paesi industrializzati e in via di sviluppo.^{1,2}

Negli Stati Uniti circa il 66,3% degli adulti e il 17,1% dei bambini è affetto da sovrappeso od obesità.³

Anche in Italia la situazione sta diventando allarmante, poiché circa il 50% degli uomini e il 34% delle donne tra i 35 e i 74 anni ha un indice di massa corporea (BMI) superiore a 25 kg/m², mentre il 18% degli uomini e il 22% delle donne ha un BMI superiore a 30 kg/m².⁴ Anche nei bambini e negli adolescenti la prevalenza è in netta crescita. Se-

condo le stime del Ministero della salute il 24% dei bambini e degli adolescenti sono in sovrappeso, e il 4% sono obesi.⁵ Il problema diventa ancora più grave se si associa al BMI la misurazione della circonferenza vita, che correla positivamente con il contenuto di grasso a livello addominale. E' ormai chiaro che la maggior parte delle complicanze metaboliche e cliniche legate al sovrappeso e all'obesità sono dovute all'eccessivo accumulo di grasso addominale viscerale.⁶ In questo contesto, l'utilizzo del BMI come unico indice di adiposità potrebbe essere a volte fuorviante. Per esempio, alcuni atleti molto muscolosi potrebbero avere un BMI superiore a 25 o a 30 kg/m², ed essere quindi classificati in sovrappeso od obesi, senza avere un accumulo di grasso a livello addominale e le caratteristiche alterazioni metaboliche e ormonali associate all'obesità addominale.⁷ O cosa ancora più grave, alcune persone con un BMI <25 kg/m² ma con un eccessivo accumulo di grasso viscerale potrebbero erroneamente esser classificati come individui normo-

peso e metabolicamente sani.⁸ I limiti di normalità in USA per la circonferenza vita sono: 88 cm nella donna e 102 cm nell'uomo.⁹ Secondo la recente definizione dell'International Diabetes Federation, per gli europei i valori di normalità per la circonferenza vita dovrebbero essere ancora più bassi, <80 cm per le donne e <94 cm per gli uomini, e negli asiatici (cinesi, giapponesi e indiani), <80 cm per le donne e <90 cm per gli uomini.⁹

Complicanze metaboliche e cliniche dell'obesità addominale

L'accumulo di grasso addominale è un sensibile marker di bilancio energetico positivo, ovvero di un introito calorico cronicamente superiore alle necessità dell'organismo. Fino a qualche anno fa, si pensava che gli adipociti fungessero da inerti magazzini del surplus energetico trasformato in trigliceridi da mobilitare in caso di necessità ed è stato invece dimostrato che il tessuto adiposo è un attivissimo organo endocrino che produce importanti molecole ad azione sistemica, chiamate adipochine, che regolano il metabolismo, il sistema endocrino e immunitario, la proliferazione cellulare e i processi d'invecchiamento.¹⁰ Il tessuto adiposo viscerale, in particolare, sembra essere metabolicamente più attivo nel produrre citochine infiammatorie come l'interleuchina 6 (IL-6), che insieme agli acidi grassi liberi e ad altre adipochine, giocano un ruolo chiave nel mediare insulino-resistenza, infiammazione sistemica, aterosclerosi e tumorigenesi.¹⁰⁻¹² Le persone affette da obesità addominale, infatti, presentano un rischio maggiore di morte prematura e di sviluppare alcune importanti malattie croniche come il diabete mellito di tipo 2, l'ipertensione arteriosa, la cardiopatia ischemica, lo scompenso cardiaco, l'ictus cerebrale, e alcuni dei più comuni tipi di tumore.^{1,2,6,8,11}

L'obesità viscerale, per esempio, è un fattore trainante nell'aumento del rischio cardiometabolico, della morbilità e della mortalità cardiovascolare. Il rischio di sviluppare diabete mellito di tipo 2, un importante fattore di rischio cardiovascolare, aumenta drasticamente a partire da un BMI di 22 kg/m²; e per ogni unità d'incremento di BMI vi è un aumento del rischio relativo di diabete del 25%.¹³ Inoltre, indipendentemente dal BMI di partenza, ogni incremento del peso corporeo di 5 kg dopo l'età di 18 anni o della quantità di grasso accumulato a livello addominale è associato a un aumento lineare del rischio di sviluppare diabete mellito in entrambi i sessi.¹³⁻¹⁵ Numerosi studi osservazionali hanno inoltre dimostrato che esiste una stretta correlazione lineare tra sovrappeso e l'obesità addominale e gli elevati livelli di pressione arteriosa, colesterolo totale, colesterolo LDL, trigliceridi, insulina, proteina C-reattiva, e una relazione inversa con i livelli di colesterolo HDL e adiponectina.^{1,6,8,11-13} Il rischio di sviluppare e di morire per un infarto del miocardio aumentata all'aumentare del BMI. Il rischio è ridotto in entrambi i sessi quando il BMI è ≤22

kg/m², e aumenta anche per piccole elevazioni del BMI.^{13,16,17} Circa due terzi dei pazienti che sviluppano un infarto del miocardio hanno un BMI uguale o maggiore a 25 kg/m².¹³ Un aumento ponderale di 5-8 kg dopo i 18 anni aumenta l'incidenza e la mortalità per infarto del miocardio del 25%.^{13,17,18}

Inoltre, i risultati di numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato che anche il rischio di ammalarsi e di morire per alcune delle più comuni forme di tumore è aumentato nelle persone in sovrappeso e obese. In particolare l'eccessiva adiposità si associa al rischio di sviluppare cancro al colon, alla mammella (donne in post-menopausa), all'endometrio, al rene, al pancreas, all'esofago (adenocarcinoma), alla colecisti e al fegato.² Questi dati epidemiologici, che supportano una stretta associazione tra eccessiva adiposità, diabete mellito, malattie cardiovascolari e cancro, sono stati recentemente confermati da due studi clinici d'intervento. Un calo ponderale del 13-27% in pazienti obesi sottoposti a un intervento di chirurgia bariatrica si associa a una significativa riduzione della mortalità totale e, in particolare in uno dei due studi, a una riduzione del 56% della mortalità per coronaropatia, del 92% per diabete, e del 60% per tumore.^{19,20}

Restrizione calorica e obesità

Il sovrappeso, l'obesità, e soprattutto l'eccessivo accumulo di grasso a livello addominale sono così frequenti nelle nostre società moderne da essere quasi considerati la normalità. Di conseguenza molti ricercatori e clinici hanno dimenticato che l'obesità addominale è una condizione clinica estremamente anormale che si associa a gravi complicanze metaboliche e mediche. I cambiamenti socio-culturali ed economici avvenuti negli ultimissimi decenni sono i principali fattori responsabili di questa epidemia d'obesità addominale. Da una parte si è assistito a una drammatica riduzione dell'attività fisica e dall'altra sono cambiate le abitudini alimentari, con un consumo sempre maggiore di cibi e bevande poveri di nutrienti e ricchi di calorie (contenenti alte proporzioni di cereali raffinati, zuccheri semplici, grassi sia saturi sia totali), a discapito di cibi ricchi in nutrienti e relativamente poveri di calorie come verdura, legumi, cereali integrali e frutta.^{21,22} Un regime regolare d'attività fisica associato a una dieta ipocalorica ma ricca di nutrienti sono pertanto i cardini della terapia del sovrappeso e dell'obesità.²³ E' sufficiente un calo ponderale del 5-10% per migliorare il quadro ormonale e ridurre significativamente il rischio cardiometabolico e tumorale,^{1,2,19,20} tuttavia, in uno studio clinico in donne obese, una riduzione dell'8% del peso corporeo, ottenuta mediante asportazione chirurgica di una grossa quantità di tessuto adiposo addominale sottocutaneo (~18% del grasso totale), non ha portato a nessun miglioramento dell'insulino-resistenza, dell'infiammazione o degli altri fattori di rischio cardiovascolare.²⁴ Pertanto, questi dati suggeriscono che è necessario

ottenere un bilancio energetico negativo per ridurre significativamente il rischio cardiovascolare e migliorare il quadro metabolico. Nei pazienti in sovrappeso od obesi, invece, un calo ponderale ottenuto mediante dieta ipocalorica e/o esercizio fisico di tipo aerobico riduce i livelli di pressione arteriosa, di glicemia, di trigliceridi, di colesterolo totale e LDL, di markers infiammatori, e aumenta l'insulino-sensibilità e i livelli di colesterolo HDL.^{1,25-30} Inoltre, il calo ponderale induce un miglioramento del profilo ormonale, con una riduzione dei livelli d'insulina, leptina, testosterone, estradiolo, e un aumento dei livelli di SHBG e di adiponectina.^{2,27,29,31}

Restrizione calorica e longevità

Negli ultimi decenni abbiamo acquisito una straordinaria quantità di dati scientifici sulla fisiopatologia e la terapia dell'obesità, del diabete, delle patologie cardiovascolari e del cancro nell'uomo. Sorprendentemente, invece, si conosce poco su come un individuo giovane e in salute possa rimanere fisicamente e mentalmente sano, felice, attivo, forte, indipendente e socialmente utile per il più lungo tempo possibile. Negli animali da esperimento la restrizione calorica con nutrizione ottimale è l'unico intervento in grado di prevenire e/o ritardare l'insorgenza delle malattie croniche associate all'invecchiamento e, soprattutto, di allungare la vita massima del 30-60%.³²⁻³⁴ Gli animali in CR sono quasi sempre più sani e attivi di quelli che mangiano *ad-libitum*; questi ultimi sviluppano obesità addominale, intolleranza glucidica/diabete mellito, infiammazione e altre alterazioni metaboliche e ormonali già nella prima metà della loro vita. Tuttavia, alcuni autori ritengono erroneamente che la riduzione della massa grassa sia il fattore determinante nel rallentare i processi d'invecchiamento e nel ridurre l'incidenza di cancro, nonostante le evidenze sperimentali non supportino queste conclusioni. Infatti, solo la vita media ma non quella massima è aumentata in animali da esperimento che mantengono una bassa massa grassa mediante un regime regolare d'attività fisica. La vita massima aumenta invece del 30% in animali da esperimento sedentari sottoposti a un regime di restrizione calorica per mantenere il peso corporeo uguale a quello degli animali che facevano attività fisica.^{35,36} Inoltre, la vita massima è più lunga in roditori geneticamente obesi (*ob/ob mice*) sottoposti a restrizione calorica rispetto a roditori geneticamente normali alimentati *ad libitum*, anche se la massa grassa è il doppio negli *ob/ob mice* in restrizione calorica rispetto ai controlli.³⁷ Questi dati sperimentali suggeriscono che sia l'attività fisica sia la restrizione calorica sono in grado di contrastare l'eccessivo accumulo di grasso e le deleterie conseguenze metaboliche a esso associate, prolungandone la vita media. Tuttavia, solo la riduzione cronica dell'apporto calorico è in grado di rallentare i processi d'invecchiamento intrinseco dell'organismo e, soprattutto, di prevenire lo sviluppo di malattie de-

generative con l'avanzare dell'età. Di estrema importanza è l'osservazione sperimentale che un terzo degli animali in restrizione calorica muore in età avanzata senza nessuna lesione patologica a un attento esame autoptico, mentre solo il 6% degli animali alimentati *ad-libitum* muore senza lesioni patologiche prevalentemente in età giovanile.³⁸

Non è ancora noto se un regime di restrizione calorica con il giusto apporto di tutti i micronutrienti essenziali sia in grado di rallentare l'invecchiamento intrinseco anche nell'uomo, tuttavia, gli studi condotti sugli otto volontari della Biosfera II e su un gruppo di individui che si sono volontariamente sottoposti, per circa sei anni, a un regime di restrizione calorica con nutrizione ottimale (consumano almeno il 100% dei LARN per ogni nutriente), hanno dimostrato riduzioni significative dei maggiori fattori di rischio cardiovascolari, dell'infiammazione, della pressione arteriosa, dell'insulinemia, della glicemia, dello spessore intimale delle arterie carotidi, e di alcuni fattori di crescita.³⁹⁻⁴² Questi dati suggeriscono che il loro rischio di sviluppare diabete mellito, infarto del miocardio, ictus cerebrale e scompenso cardiaco (patologie responsabili del 40% delle cause di morte nei paesi occidentali) è estremamente basso. Inoltre, un recente studio ecocardiografico ha evidenziato che la restrizione calorica con nutrizione ottimale è in grado di rallentare il fisiologico deterioramento della funzione diastolica, un ben noto marcatore d'invecchiamento primario.⁴³

Altri interventi associati alla longevità

Un altro intervento che negli animali da esperimento si associa a un aumento significativo della vita massima è la riduzione delle concentrazioni plasmatiche e del *signalling* del fattore di crescita insulino-simile-1 (IGF-1).⁴⁴ Infatti, i topi di laboratorio che hanno una deficienza di ormone della crescita (*dwarf mice*), quelli che hanno una deficienza del recettore per l'ormone della crescita (*GHR-KO mice*) o del recettore per l'IGF-1 vivono considerevolmente più a lungo.⁴⁵⁻⁴⁸ Inoltre, elevate concentrazioni plasmatiche di IGF-1, un potente fattore di crescita, si associano a un aumentato rischio di sviluppare alcune forme tumorali come il cancro del colon, della mammella (in premenopausa) e della prostata.⁴⁹⁻⁵² Nell'uomo le concentrazioni plasmatiche di IGF-1 sono modulate dall'introito di calorie e proteine. Numerosi studi hanno dimostrato che una riduzione acuta dell'apporto di calorie e/o proteine nella dieta riduce i livelli plasmatici di IGF-1.⁵³ Un recente studio suggerisce inoltre che una riduzione cronica dell'apporto proteico riduce i livelli plasmatici di IGF-1 totale e libero, indipendentemente dai livelli di adiposità.⁵⁴ In molte società occidentali l'introito proteico è del 30-50% superiore (1,3-1,6 mg/kg/die) alle quantità necessarie per mantenere un bilancio azotato neutro nel 97,5% della popolazione (0,8 mg/kg/die).⁵⁵ Ulteriori studi sono necessari per capire gli effetti cronici di un bilancio azotato positivo sulle concentrazioni di IGF-1,

sul rischio di sviluppare alcune forme tumorali e sui processi d'invecchiamento.

Recenti evidenze scientifiche, infine, suggeriscono che l'assunzione in dosi non farmacologiche di alcune sostanze polifenoliche contenute nei cibi d'origine vegetale, come per esempio il resveratrolo dell'uva, il tirosolo dell'olio di oliva, le catechine del tè verde, potrebbero giocare un ruolo importante nell'attivare alcune vie di segnale cellulare anti-invecchiamento.⁵⁶⁻⁵⁹ Ulteriori studi sono necessari per capire sia i meccanismi cellulari e molecolari, mediati dall'esercizio fisico e dai macro e micro-nutrienti della dieta, sia l'interazione tra esercizio fisico e nutrienti nel modulare i processi d'invecchiamento e nel prevenire le patologie croniche associate all'invecchiamento.

Conclusioni

Nel nuovo millennio l'obiettivo primario della scienza e della medicina dovrebbe essere quello di prevenire le malattie cronico-degenerative e promuovere strategie che aumentino il numero di anni vissuti in salute. Purtroppo, invece, molta della ricerca scientifica e della pratica clinica è ancora focalizzata sulla cura di malattie che sono prevenibili, come per esempio l'obesità addominale, il diabete mellito di tipo 2, la maggior parte delle malattie cardiovascolari e alcune delle più frequenti forme tumorali. Questa strategia politico-sanitaria sottrae un'enorme quantità di risorse economiche allo studio e alla cura di patologie che invece non sono prevenibili, come per esempio quelle genetiche o quelle la cui eziologia non è ancora chiara. Inoltre, poiché il numero di persone in sovrappeso e obese, a causa del consumo illimitato di cibi ricchi di calorie e poveri di nutrienti e di una vita sempre più sedentaria, è in costante aumento, nel prossimo futuro la situazione economico-sanitaria potrebbe diventare catastrofica. In questo contesto, gli effetti a lungo termine della restrizione calorica con nutrizione ottimale nella prevenzione delle patologie croniche associate all'invecchiamento e nella promozione della salute (*healthy aging*) sono di considerevole interesse sia da un punto di vista scientifico sia clinico. Ulteriori studi clinici sono necessari per identificare la migliore combinazione e quantità di calorie, proteine, polifenoli e di attività fisica necessari per rallentare i processi d'invecchiamento e aumentare il numero di anni vissuti in salute.

Conflitti di interesse: nessuno

Supporto finanziario: Sostenuto da grant dell'Istituto superiore di sanità/National Institutes of Health Collaboration program, the Longer Life Foundation (an RGA/Washington University Partnership), Clinical Nutrition Research Unit Grant DK56351, NIH General Clinical Research Center RR00036.

Ruolo dello sponsor: Le agenzie finanziatrici non hanno avuto nessun ruolo nell'analisi e interpretazione dei dati o nella decisione di sottomettere questo manoscritto per pubblicazione.

Bibliografia

- Poirier P, Giles TD, Bray GA et al. American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006; 113(6): 898-918.
- Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(8): 579-91.
- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA* 2006; 295(13): 1549-55.
- Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare Italiano. *Ital Heart J* 2004; 5(Suppl. 3): 49S-92S.
- <http://www.ccm.ministerosalute.it/ccm/ccmDettaglioInterne.jsp?id=262&men=obe&label=obesita&lingua=italiano>
- Klein S, Allison DB, Heymsfield SB et al. Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; American Society for Nutrition; American Diabetes Association. Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(5): 1197-202.
- Kalkhoff R, Ferrou C. Metabolic differences between obese overweight and muscular overweight men. *N Engl J Med* 1971; 284(22): 1236-39.
- Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, Schneider S. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes*. 1998; 47(5): 699-713.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome: a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23(5): 469-80.
- Badman MK, Flier JS. The adipocyte as an active participant in energy balance and metabolism. *Gastroenterology* 2007; 132(6): 2103-15.
- Tracy RP. Is Visceral Adiposity the "Enemy Within"? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(6): 881-83.
- Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes* 2007; 56(4): 1010-13.
- Willett WC, Dietz WH, Colditz GA. Guidelines for healthy weight. *N Engl J Med* 1999; 341(6): 427-34.
- Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med* 1995; 122(7): 481-86.
- Ford ES, Williamson DF, Liu S. Weight change and diabetes incidence: findings from a national cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 1997; 146(3): 214-22.
- Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ et al. Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the 'normal' weight range. *JAMA* 1995; 273(6): 461-65.
- Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannucci E et al. Body size and fat distribution as predictors of coronary heart disease among middle-aged and older US men. *Am J Epidemiol* 1995; 141(12): 1117-27.
- Shaper AG, Wannamethee SG, Walker M. Body weight: implications for the prevention of coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus in a cohort study of middle aged men. *BMJ* 1997; 314: 1311-17.
- Adams TD, Gress RE, Smith SC et al. Long-Term Mortality after Gastric Bypass Surgery. *N Engl J Med* 2007; 357(8): 753-61.
- Sjostrom L, Narbro K, Sjostrom CD et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med* 2007; 357(8): 741-52.
- Booth FW, Chakravarthy MV, Gordon SE, Spangenburg EE. Waging war on physical inactivity: using modern molecular ammunition against an ancient enemy. *J Appl Physiol* 2002; 93(1): 3-30.
- Kromhout D, Menotti A, Kesteloot H, Sans S. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. *Circulation* 2002; 105(7): 893-98.

23. Wadden TA, Butryn ML, Wilson C. Lifestyle modification for the management of obesity. *Gastroenterology* 2007; 132(6): 2226-38.
24. Klein S, Fontana L, Young VL et al. Absence of an Effect of Liposuction on Insulin Action and Risk Factors for Coronary Heart Disease. *N Engl J Med* 2004; 350(25): 2549-57.
25. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003; 289(14): 1799-804.
26. Heilbronn LK, de Jonge L, Frisard MI et al.; Pennington CALERIE Team. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295(13): 1539-48.
27. Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM et al. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, beta-cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. *Diabetes Care* 2006; 29(6): 1337-44.
28. Racette SB, Weiss EP, Villareal DT et al. and The Washington University School of Medicine CALERIE Group. One Year of Caloric Restriction in Humans: Feasibility and Effects on Body Composition and Abdominal Adipose Tissue. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61(9): 943-50.
29. Weiss EP, Racette SB, Villareal DT et al.; Washington University School of Medicine CALERIE Group. Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(5): 1033-42.
30. Fontana L, Villareal DT, Weiss EP et al. Calorie Restriction or Exercise: Effects on Coronary Heart Disease Risk Factors. A Randomized Controlled Trial. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293(1): E197-202.
31. Hursting SD, Lavigne JA, Berrigan D, Perkins SN, Barrett JC. Calorie restriction, aging, and cancer prevention: mechanisms of action and applicability to humans. *Annu Rev Med* 2003; 54: 131-52.
32. Weindruch R, Sohal RS. Caloric intake and aging. *N Engl J Med* 1997; 337(14): 986-94.
33. Masoro EJ. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev* 2005; 126(9): 913-22.
34. Fontana L, Klein S. Aging, adiposity, and calorie restriction. *JAMA* 2007; 297(9): 986-94.
35. Holloszy JO. Mortality rate and longevity of food-restricted exercising male rats: a reevaluation. *J Appl Physiol* 1997; 82(2): 399-403.
36. Holloszy JO, Smith EK, Vining M, Adams S. Effect of voluntary exercise on longevity of rats. *J Appl Physiol* 1985; 59(3): 826-31.
37. Harrison DE, Archer JR, Astle CM. Effects of food restriction on aging: separation of food intake and adiposity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(6): 1835-38.
38. Shimokawa I, Higami Y, Hubbard GB, McMahan CA, Masoro EJ, Yu BP. Diet and the suitability of the male Fischer 344 rat as a model for aging research. *J Gerontol* 1993; 48(1): B27-32.
39. Verdery RB, Walford RL. Changes in plasma lipids and lipoproteins in humans during a 2-year period of dietary restriction in Biosphere 2. *Arch Intern Med* 1998; 158(8): 900-06.
40. Walford RL, Mock D, Verdery R, MacCallum T. Calorie restriction in biosphere 2: alterations in physiologic, hematologic, hormonal, and biochemical parameters in humans restricted for a 2-year period. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002; 57(6): B211-24.
41. Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO. Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(17): 6659-63.
42. Fontana L, Klein S, Holloszy J.O, Premachandra B.N. Effect of Long-term Calorie Restriction with Adequate Protein and Micronutrients on Thyroid Hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(8): 3232-35.
43. Meyer TE, Kovács SJ, Ehsani AA, Klein S, Holloszy JO, Fontana L. Long-term caloric restriction ameliorates the decline in diastolic function in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(2): 398-402.
44. Straus DS. Nutritional regulation of hormones and growth factors that control mammalian growth. *FASEB J* 1994; 8(1): 6-12.
45. Ikeno Y, Bronson RT, Hubbard GB, Lee S, Bartke A. Delayed occurrence of fatal neoplastic diseases in ames dwarf mice: correlation to extended longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003; 58(4): 291-96.
46. Bonkowski MS, Rocha JS, Masternak MM, Al Regaiey KA, Bartke A. Targeted disruption of growth hormone receptor interferes with the beneficial actions of calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(20): 7901-05.
47. Flurkey K, Papaconstantinou J, Miller RA, Harrison DE. Lifespan extension and delayed immune and collagen aging in mutant mice with defects in growth hormone production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(12): 6736-41.
48. Holzenberger M, Dupont J, Ducos B et al. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 2003; 421(6919): 182-87.
49. LeRoith D, Baserga R, Helman L et al. Insulin-like growth factors and cancer. *Ann Intern Med* 1995; 122(1): 54-59.
50. Singh P, Rubin N. Insulin like growth factors and binding proteins in colon cancer. *Gastroenterology* 1993; 105(4): 1218-37.
51. Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351(9113): 1393-36.
52. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998; 279(5350): 563-66.
53. Thissen JB, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev* 1994; 15(1): 80-101.
54. Fontana L, Klein S, Holloszy J.O. Long-term low-protein low-calorie diet and endurance exercise modulate metabolic factors associated with cancer risk. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(6): 1456-62.
55. Rand WM, Pellett PL, Young VR. Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(1): 109-27.
56. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425(6954): 191-96.
57. Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444(7117): 337-42.
58. Visioli F, Galli C. Olive oil: more than just oleic acid. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(3): 853.
59. Kaszkin M, Beck KF, Eberhardt W, Pfeilschifter J. Unravelling Green Tea's Mechanisms of Action: More Than Meets the Eye. *Mol Pharmacol* 2004; 65(1): 15-17.