



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

Scuola di Specializzazione in "Scienza dell'Alimentazione"

Dottorato di Ricerca in "Fisiologia dei distretti corporei"

Tesi di Dottorato

**"LA LEAN-BODY MASS NELLA DEFINIZIONE
DEL METABOLISMO DI BASE"**

Relatore

Prof. Antonino De Lorenzo

Dottorando

Dr. Michele Francesco Servidio

Anno Accademico 2009/2010

INDICE

| | |
|-----------------|----------|
| PREMESSA | 4 |
|-----------------|----------|

CAPITOLO 1

COMPOSIZIONE CORPOREA

| | |
|--|----|
| 1.1 Introduzione | 8 |
| 1.2 Modelli di composizione corporea | 9 |
| 1.3 Metodi di misura | 13 |
| 1.3.1 Metodi di riferimento tradizionali | 15 |
| 1.3.2 Metodi di riferimento recenti | 22 |
| 1.3.3 Metodi indiretti | 29 |

CAPITOLO 2

DISPENDIO ENERGETICO E METODI DI VALUTAZIONE

| | |
|------------------------------------|----|
| 2.1 Dispendio energetico | 49 |
| 2.2 Metodi di misura calorimetrici | 50 |
| 2.3 Metodi non calorimetrici | 54 |

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI

| | |
|----------------------------|----|
| 3.1 Popolazione di studio | 60 |
| 3.2 Procedure sperimentali | 61 |
| 3.3 Misure antropometriche | 61 |
| 3.4 Misure metaboliche | 62 |
| 3.5 Misure densitometriche | 62 |
| 3.6 Analisi statistica | 63 |

CAPITOLO 4

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

| | |
|-----------------|----|
| 4.1 Discussione | 65 |
| 4.2 Conclusioni | 76 |

| | |
|---------------------|-----------|
| BIBLIOGRAFIA | 80 |
|---------------------|-----------|

PREMESSA

Questa tesi tratta dello studio della composizione corporea (Body Composition, BC) "in vivo" e del metabolismo energetico dell'uomo. La valutazione di questi due parametri risulta essenziale nella ricerca clinica per definire e monitorare in maniera accurata lo stato nutrizionale di pazienti malati e malnutriti, donne in gravidanza o che allattano, anziani, e pazienti con neoplasie, osteoporosi e molte altre patologie (Heymsfield & Matthews, 1994). Questa area di ricerca, inoltre, riveste un ruolo importante nel campo della nutrizione umana e della fisiologia dell'esercizio (Katz et al., 1980). Infine, diversi studi hanno evidenziato l'importanza di misurare i distretti corporei per la corretta valutazione dei fattori genetici implicati nell'obesità (Poehlman et al., 1986; Bouchard et al., 1990), per lo studio dei problemi legati all'obesità come le dislipidemie (Després et al., 1992) e per capire le relazioni tra composizione corporea e spesa energetica (Elia, 1992). E' ormai evidente dalla letteratura scientifica che la composizione chimica del corpo umano, considerata relativamente stabile nel soggetto sano, in realtà si trova in uno "stato dinamico" modificandosi in risposta sia a stimoli esterni (alimentazione, clima, stress, ecc.) che interni (metabolismo, ormoni, malattie, ecc.). Per una corretta valutazione dello stato nutrizionale, risulta fondamentale quindi conoscere e poter misurare le diverse componenti che costituiscono la massa corporea.

Esistono molte tecniche di misura dei distretti corporei caratterizzate da livelli di precisione e accuratezza specifici: risulta essenziale quindi conoscere le potenzialità applicative in campo prognostico e diagnostico ma anche i limiti teorici e pratici. Da un lato, non è possibile misurare tutte le componenti del corpo umano utilizzando una singola tecnica; dall'altro, tecniche diverse tra loro vengono utilizzate per stimare la stessa componente.

Il secondo parametro che è stato considerato nella tesi è la spesa energetica a riposo o metabolismo basale (Resting Metabolic Rate, RMR). Il RMR è la componente principale (60-70%) della spesa energetica totale giornaliera (Total Energy Expenditure, TEE) di un individuo adulto normale: per questo motivo, le più importanti organizzazioni mondiali considerano il RMR un fattore fondamentale nel determinare i fabbisogni energetici degli individui e nello spiegare le differenze inter-individuali nella regolazione del bilancio energetico (rapporto tra introito e spesa energetica) (FAO/WHO/UNU, 1985). Negli ultimi tre decenni, l'interesse per lo studio degli scambi energetici nell'uomo è considerevolmente aumentato per la maggiore incidenza di patologie legate a mancata regolazione del bilancio energetico sia nelle società sviluppate che in quelle in via di sviluppo (Reutlinger & Alderman, 1980; Van Itallie, 1985). Nei paesi sviluppati la prevalenza del sovrappeso e dell'obesità ha raggiunto percentuali tali da costituire

un costo sociale ed economico notevole. Allo stesso modo, la sottanutrizione costituisce un problema rilevante nei paesi in via di sviluppo. Sia l'obesità che la magrezza patologica sono manifestazioni cliniche di un'alterazione cronica del bilancio energetico. Nel primo caso, l'introito energetico è maggiore della spesa, mentre la situazione opposta si verifica nella malnutrizione per difetto. Dal punto di vista termodinamico, la legge della conservazione dell'energia (1° principio della termodinamica) offre una soluzione abbastanza semplice ad entrambi i problemi. Il soggetto obeso deve ridurre il suo introito energetico mentre il soggetto sottanutrito deve aumentarlo. Tuttavia, il problema è molto più complesso. E' ormai accertato che esiste una variabilità inter-individuale nelle diverse componenti della spesa energetica, in particolare nel RMR (Owen et al., 1986; Owen et al., 1987; Ravussin & Bogardus, 1989). Queste differenze dipendono in larga misura dalla variabilità inter-individuale nella BC. Soggetti con una più alta percentuale di massa metabolicamente attiva avranno un RMR più elevato di altri individui a parità di peso corporeo (Cunningham, 1980). Così per definire lo stato nutrizionale di una persona, diventa fondamentale conoscerne i due parametri che, come si è detto, sono tra loro strettamente legati: la composizione corporea ed il metabolismo di base.

Lo scopo di questo lavoro consiste nel prendere in considerazione

alcuni aspetti relativi alla misura della composizione corporea "*in vivo*" e del metabolismo basale, ed in particolare:

- 1) Presentare una rassegna generale delle principali tecniche utilizzate per la misura dei diversi distretti corporei;
- 2) Discutere la precisione, l'accuratezza e l'affidabilità delle varie tecniche;
- 3) Confrontare le misure di un determinato distretto corporeo ottenute con tecniche diverse;
- 4) Considerare da un punto di vista teorico e metodologico le diverse metodiche di misura del dispendio energetico valutandone vantaggi e svantaggi;
- 5) Valutare la precisione e l'accuratezza delle formule utilizzate per il calcolo del metabolismo basale in campioni selezionati di soggetti;
- 6) Dimostrare un legame tra massa magra (Lean Body Mass=LBM) e consumo di ossigeno;
- 7) Produrre una nuova formula per la stima del RMR in funzione della massa magra.

CAPITOLO 1

COMPOSIZIONE CORPOREA

1.1 Introduzione

La valutazione della composizione corporea nell'uomo rappresenta un importante settore di ricerca per le informazioni che può fornire alla valutazione del fabbisogno energetico e dello stato nutrizionale del soggetto, e per le conseguenti applicazioni in campo medico-sanitario (nello studio della natura e nel trattamento dell'obesità, e dei problemi ad essa connessi, quali dismetabolismi, cardiopatie, ipertensione, nelle neoplasie, nell'insufficienza renale, nell'anoressia mentale e negli atleti). Sono oggi disponibili numerosi metodi che permettono una valutazione quantitativa della composizione corporea e delle sue variazioni, ma ognuno di essi, per le sue caratteristiche tecniche e per le informazioni che fornisce, presenta delle limitazioni d'uso. Il metodo ideale, infatti, dovrebbe disporre di caratteristiche di sicurezza, rapidità, riproducibilità, semplicità di esecuzione, costo e precisione tali da poter essere usato contemporaneamente per ampi studi sulla popolazione e per dettagliati studi sull'individuo. Tuttavia, ognuno dei metodi disponibili risponde solo ad alcuni dei requisiti suddetti e la scelta della metodica da applicare dipende, quindi, dal tipo di campione che si intende esaminare e dal tipo di informazioni che si vuole ottenere. Esistono infatti metodiche accurate, ma che per gli alti costi, la difficoltà di esecuzione e la

potenziale nocività per l'individuo, vengono utilizzate limitatamente a campioni ristretti, ed altre, invece, semplici, di basso costo ed innocue, adatte a studi di massa ma purtroppo meno accurate.

1.2 Modelli di composizione corporea

Lo studio della composizione del corpo implica la suddivisione della massa corporea in 2 o più compartimenti secondo componenti anatomico-fisiologici, chimici e elementari (Heymsfield & Waki, 1991). Il modello anatomico, nel quale il corpo è suddiviso in componenti dissezionabili come il tessuto adiposo, muscolo scheletrico, ossa e organi, non è stato molto utilizzato fino all'avvento delle tecniche ad immagine (tomografia assiale computerizzata, ultrasuoni e risonanza magnetica nucleare) (Fuller et al., 1990). La maggior parte dei metodi di valutazione della composizione corporea, ancor oggi largamente utilizzati, si basano su un modello secondo il quale il corpo umano è suddiviso in 2 distinti compartimenti chimici, la "massa grassa" (Fat Mass = FM) e la "massa priva del grasso" (Fat-Free Mass = FFM): questa dicotomia si basa sull'analisi chimica di cadaveri umani tramite il dissolvimento dei lipidi in solventi organici, in genere etere (Keys & Brozek, 1953). Questo procedimento porta ad un valore numerico la cui utilità in termini anatomici e fisiologici è piuttosto dubbia, comprendendo infatti i grassi provenienti da siti fisiologicamente differenti, come il

cervello, lo scheletro e il tessuto adiposo. Questo problema diventa rilevante nella determinazione del grasso corporeo di persone estremamente magre, come gli atleti, la cui massa grassa del tessuto non adiposo può essere quantitativamente simile a quella del tessuto adiposo. Si è quindi cercato di superare il problema con l'introduzione del concetto di "massa magra" (Lean Body Mass = LBM) (Benke, 1941), vale a dire il compartimento corporeo privato del grasso anatomico, ma comprendente il grasso cosiddetto "essenziale" (GE) presente nella parete cellulare, tra le fibre muscolari, nel midollo giallo delle ossa lunghe e nel sistema nervoso centrale e periferico. Anche questo concetto ha, tuttavia, alcuni limiti, primo fra tutti la mancanza di dati sperimentali sulla quantità reale del GE nella massa magra. Nei cinque cadaveri adulti in cui è stato direttamente misurato (Martin & Drinkwater, 1991), il GE variava dal 4.3 al 15.2% in rapporto alla FFM, screditando l'ipotesi che questo valore fosse costante. Un ulteriore motivo di equivoco era sorto, inizialmente, dall'utilizzare indifferentemente i termini FFM e LBM. La suddivisione del corpo umano in 2 costituenti, FFM e FM, si basa sull'ipotesi di Moulton (1923) che la FFM dell'individuo a maturità biochimica abbia una composizione costante, con una densità media di 1.1 g/ml a 37°C (Keys & Brozek, 1953), risultante dalla densità delle proteine (1.34 g/ml), dell'acqua (1.00 g/ml) e dei minerali (3.00 g/ml), un contenuto d'acqua del 72-74%

(Pace & Rathbun, 1945) ed un contenuto di potassio di 60-70 mmol/kg nell'uomo e 50-60 mmol/kg nella donna (Boddy et al., 1973). Il grasso, che è anidro e non legato al potassio, ha una densità di 0.9 g/ml a 37°C (Keys & Brozek, 1953). Molti autori hanno avanzato dubbi circa questa costanza, essendo variabili sia le proporzioni relative dei vari componenti della FFM, sia le densità dei componenti stessi. Clarys et al. (1984) nel loro studio su 25 cadaveri (con un'età compresa tra 55 e 94 anni) trovarono un range del peso del tessuto osseo dal 16.3% al 25.7% e dal 41.9 al 59.4% per il tessuto muscolare; inoltre, la densità del tessuto osseo fresco variava da 1.18 a 1.33 g/ml ($x = 1.24$ g/ml, $CV = 3.2\%$) (Martin & Drinkwater, 1991). A tutto ciò va aggiunto, inoltre, l'ipotetico aumento del range se fosse considerata una più larga popolazione comprendente i soggetti giovani e gli atleti. Pur tuttavia, resta generalmente riconosciuta l'utilità pratica ed immediata del concetto di costanza della FFM per studi sulla composizione corporea. Nell'ultimo decennio, sono stati sviluppati una serie di modelli a più compartimenti: questi, utilizzando nuove metodiche quali l'analisi dell'attivazione neutronica e l'assorbimento fotonico, eventualmente in combinazione con metodiche, tradizionali, misurano varie componenti della FFM indipendentemente tra loro in modo da minimizzare l'errore di misurazione e, allo stesso tempo, ottenere informazioni su importanti componenti del corpo. Il classico modello a 6 componenti prevede tre

principali raggruppamenti chimici: acqua (Ac), minerali (Min) e composti organici. I minerali sono ulteriormente divisi in una componente ossea (Mo) ed una extra ossea (Me): la prima è costituita principalmente da idrossiapatite di calcio (75%) (Heymsfield et al., 1989) legata a ioni Na⁺ e acqua, mentre la seconda comprende tutti i minerali extraossei distribuiti nei compartimenti fluidi intra- ed extra-cellulari. I composti organici comprendono il glicogeno (Gli), le proteine (Pro) e la FM. Questo modello chimico della massa corporea (MC) può così essere riassunto:

$$MC = Ac + Mo + Me + Pro + Gli + FM.$$

Risulta evidente che nel modello chimico a 2 compartimenti la FFM = Ac + Mo + Me + Pro + Gli. Esiste, infine, un modello a 4 compartimenti in cui il Gli, che costituisce una minima parte (< 1%) del peso corporeo, viene escluso, non comportando questo un grosso errore sperimentale e permettendo, altresì, una semplificazione notevole rispetto al modello a 6 componenti in quanto si evita di ricorrere a biopsie a livello muscolare ed epatico per la determinazione, appunto, del Gli (Mackie et al., 1989). Inoltre, la componente minerale viene considerata "in toto", calcolandone la frazione maggiore, la componente ossea, tramite l'analisi dell'attivazione neutronica del calcio. Quindi il modello a 4 componenti può essere così schematizzato:

$$MC = Ac + Pro + Min + FM.$$

Recentemente, Wang et al. (1992) hanno proposto la riorganizzazione sistematica dello studio della composizione corporea secondo un nuovo "modello a cinque livelli". I livelli sono:

- 1) ATOMICO
- 2) MOLECOLARE
- 3) CELLULARE
- 4) TISSUTALE
- 5) CORPOREO

Questa suddivisione si è resa necessaria anche per inquadrare in maniera sistematica i metodi di riferimento più recenti (par. 1.3.2) di valutazione della composizione corporea.

1.3 Metodi di misura

I metodi di valutazione della composizione corporea possono essere suddivisi in metodi che possono essere impiegati solo su animali sacrificati e cadaveri, e metodi applicabili "*in vivo*". I primi sono l'analisi chimica e le dissezioni, oppure una combinazione delle due procedure:

entrambe consistono in lunghe e complesse operazioni che ne limitano l'utilizzazione. Le tecniche di dissezione hanno il vantaggio di separare i diversi tessuti e di dare informazioni non solo sulla quantità, ma anche sulla localizzazione dei componenti; la procedura combinata consiste nella dissezione dei vari tessuti ed organi, seguita dal prelievo di campioni e dall'analisi chimica. Entrambe le procedure, tuttavia, risultano nell'uso notevolmente limitate da diversi fattori:

- 1) dalla necessità di effettuare tali analisi su cadaveri che non abbiano sofferto prima del decesso di processi patologici capaci di alterare la composizione normale;
- 2) dalla difficoltà di reperire il permesso di procedere alle analisi da parte dei parenti, poiché il cadavere viene completamente distrutto;
- 3) da problemi di natura etica che possono sorgere di fronte ad un simile tipo di analisi.

I metodi applicabili "*in vivo*", invece, si basano sui modelli a 2 o più componenti: tra questi, vi sono metodi, in uso ormai da molti anni, che costituiscono un approccio ben definito allo studio della composizione corporea, con modalità tecniche di esecuzione fisse; altri, invece, riflettono gli ultimi progressi della tecnologia nel campo della ricerca biomedica. Questi metodi sono suddivisibili in metodi di riferimento tradizionali (par. 1.3.1) e recenti (par. 1.3.2), e metodi indiretti (par. 1.3.3): tutte queste tecniche saranno oggetto della presente trattazione.

1.3.1 Metodi di riferimento tradizionali

Pesata idrostatica

La determinazione della FM tramite la misura della densità corporea ha costituito per anni il metodo di riferimento ("gold standard") per gli studi di validazione delle altre metodiche, ed è applicabile su individui sani. Esso si basa sul modello a 2 componenti precedentemente descritto, con tutte le supposizioni, e quindi i possibili errori, che ne possono derivare. Lohman (1981) ha calcolato un errore teorico, dovuto alla variabilità nella composizione della FFM, di circa il 3 % nella determinazione della FM con la densitometria in una popolazione di giovani sani. Tuttavia, il presupposto teorico fondamentale di questo modello, la costanza della densità della FFM, è risultato non valido in numerose condizioni fisiologiche e patologiche: iperidratazione e disidratazione, insufficienza renale cronica, emodializzati, nei bambini e negli anziani, e più recentemente in etnie diverse da quella "caucasica" (Lohman, 1986; Fuller et al., 1992).

Poiché la densità è la massa del corpo per l'unità di volume, il maggior problema è una accurata determinazione del volume; a tal fine, la tecnica comunemente usata è quella della pesata in acqua del soggetto che si basa sul principio di Archimede secondo il quale il volume di un oggetto immerso in acqua eguaglia il volume d'acqua che l'oggetto sposta.

Abbiamo quindi:

$$D=M/V$$

dove: D = densità (g/ml); M = massa (g); V = volume (ml). La massa viene determinata pesando il soggetto in aria; il volume del corpo si ottiene dallo spostamento dell'acqua. La differenza tra il peso del corpo in aria e quello in acqua corrisponde al peso dell'acqua spostata. Per ottenere il volume corrispondente alla massa d'acqua spostata dal corpo, si deve operare una correzione che tenga conto della densità dell'acqua in riferimento alla sua temperatura al momento della misurazione: generalmente, alla temperatura raccomandata dell'acqua (35-36°C) corrisponde una densità di 0.994. Al volume così misurato, si devono poi sottrarre:

- 1) Il volume polmonare residuo (VPR)
- 2) Il volume occupato dai gas gastro-intestinali (VGI).

Il VPR è il volume d'aria che rimane nei polmoni al termine di una espirazione forzata (circa 1-2 litri); generalmente, questo valore è più basso nelle femmine rispetto ai maschi, e tende ad aumentare con l'età in entrambi i sessi. Solitamente viene misurato quando il soggetto è in acqua. Generalmente, il VGI (circa 100 ml) viene trascurato (Buskirk, 1961) dopo aver adottato alcuni accorgimenti: a) aver eseguito la pesata del soggetto al mattino dopo almeno 12 ore di digiuno, e b) averlo fatto camminare 10-15 minuti in modo da facilitare il flato.

Tuttavia, la variabilità intraindividuale di questo volume (50-300 ml) può portare ad un certo errore nella precisione della densitometria. Quindi, la formula risultante è:

$$\text{DENSITA' CORPOREA} = \frac{\text{Peso corporeo in aria}}{(\text{Peso corpo in aria} - \text{peso corpo in acqua}) / \text{densità acqua} - \text{VPR} - \text{VGI}}$$

Una comune equazione per il calcolo della percentuale di grasso corporeo a partire dalla densità è quella proposta da Brozek et al. (1963): % FM = [(4.570/D) - 4.142] x 100.

Un'altra equazione comunemente utilizzata è quella formulata da Siri (1956): % FM = [(4.95/D) - 4.50] x 100.

Per densità comprese tra 1.10 e 1.03, le due equazioni danno risultati con uno scarto minore del 1 % di grasso corporeo, mentre per soggetti con una percentuale di grasso maggiore del 30%, l'equazione di Siri dà risultati più alti rispetto all'equazione di Brozek (Lohman, 1981). Il vantaggio principale della metodica è l'attendibilità e la riproducibilità della misura ottenuta, mentre gli svantaggi consistono nella lentezza della procedura (15-20 minuti) e nella possibilità che il soggetto abbia dei problemi ad immergersi completamente in acqua.

Tecniche di diluizione

L'uso delle tecniche di diluizione si basa, indipendentemente dalla sostanza usata, sull'introduzione nel corpo di una quantità nota di una sostanza tramite ingestione o iniezione intravenosa, e sulla successiva determinazione della sua concentrazione nel plasma o in qualche altro fluido del corpo dopo aver fatto trascorrere un certo lasso di tempo per il raggiungimento dell'equilibrio nel corpo.

La sostanza impiegata dovrebbe avere le seguenti caratteristiche:

- 1) Facile da usare e preferibilmente non tossica;
- 2) Essere una sostanza inerte piuttosto che un radioisotopo;
- 3) Metabolizzata abbastanza lentamente per permettere la raccolta dei dati;
- 4) Deve distribuirsi uniformemente e rapidamente in tutto il corpo e raggiungere l'equilibrio velocemente;
- 5) Economica e prontamente disponibile.

Sfortunatamente, queste tecniche sono laboriose, richiedendo tempo ed essendo molto costose per un uso di routine.

Acqua totale corporea (Total Body Water = TBW)

Tra le tecniche di diluizione, quella maggiormente utilizzata è la determinazione della TBW: questa metodica si basa su due assunzioni

principali:

- 1) Che l'acqua non sia miscibile con i grassi corporei,
- 2) Che costituisca una frazione relativamente fissa (73.2%) della FFM (Pace & Rathbun, 1945).

In generale, i ricercatori hanno usato un isotopo dell'idrogeno, il deuterio, per calcolare il volume di acqua corporea tramite diluizione isotopica. Questo calcolo si basa su una semplice relazione:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

dove C_1 e V_1 rappresentano la concentrazione e il volume del tracciante, quindi la quantità somministrata, C_2 la sua concentrazione finale nei fluidi biologici e V_2 il volume della TBW.

Inoltre, è importante operare una correzione che tenga conto della perdita con le urine del tracciante. La quantità di tracciante somministrata dipende dal tipo di tracciante, dal sistema analitico utilizzato e dall'oggetto della ricerca. Per individui sani, generalmente viene somministrata una dose di 10 g di ossido di deuterio (D_2O) miscelati con circa 300 ml di acqua distillata e deionizzata quando il metodo utilizzato è l'assorbimento all'infrarosso (Lukasky & Johnson, 1985); con metodi cromatografici la dose è di 1 g/kg peso corporeo (Nielsen et al., 1971); con la spettrometria di massa si usa una dose orale di 2 g di D_2O (Halliday & Miller, 1977). Il tempo richiesto perché il D_2O raggiunga l'equilibrio è di circa 2 ore dopo l'ingestione, rimanendo

poi alla stessa concentrazione nella saliva, nelle urine e nel plasma per circa 2-3 ore (Lukasky & Johnson, 1985). L'unico svantaggio che comporta l'uso del D₂O è l'abbassamento della concentrazione di D₂O a causa dello scambio degli ioni idrogeno instabili con idrogeno non-acqueo che porta ad una sovrastima della TBW di circa 1-5% (Sheng & Huggins, 1979). Per far fronte a questo problema, è stato proposto l'uso dell'ossigeno-18 per la misura della TBW; sfortunatamente il costo dell,¹⁸O è proibitivo per un uso di routine.

Acqua extracellulare (Extra-Cellular Water = ECW)

La tecnica di diluizione per la misura dell'ECW prevede l'utilizzo del NaBr come marcatore. Lo ione Br⁻ non attraversa la membrana cellulare consentendo così la determinazione della ECW (Forbes, 1987). In questo modo, è possibile calcolare il volume di acqua intracellulare come differenza tra TBW e ECW. La misura del comparto intracellulare riveste un significato fisiologico importante in quanto la ICW è considerata espressione della BCM.

Potassio totale corporeo

Il contenuto totale di potassio nel corpo (Total Body Potassium = TBK) è considerato già da tempo un valido parametro per lo studio della composizione corporea "*in vivo*". Il Principio è basato sul fatto che il K è

uno ione intracellulare presente, quasi esclusivamente, nella FFM. Quindi, conoscendo il K corporeo totale si può risalire, con appropriato calcolo, alla valutazione della FFM e della BCM. Per misurare la quantità di K (^{39}K) nell'organismo, si utilizza la presenza dell'isotopo radioattivo ^{40}K che è presente in proporzioni costanti (0.012%) rispetto al ^{39}K , ed ha la peculiarità di emettere un caratteristico raggio gamma a 1.46 MeV. Esistono diverse apparecchiature (Whole Body Counters) per la rilevazione della radiazione emessa dal ^{40}K , che si differenziano per la posizione dei detettori intorno al corpo e per la posizione spaziale del corpo stesso.

L'errore di misurazione del ^{40}K nell'uomo si aggira intorno al 3-5% (Pierson et al., 1984); questo sembra dovuto alle differenze tra i tipi di detettori utilizzati e alla variazione interindividuale nella geometria corporea. Alcuni fattori influenzano la misurazione del ^{40}K : innanzitutto, la debole sorgente di radiazioni è distribuita irregolarmente in una massa voluminosa e geometricamente irregolare; quindi la presenza delle radiazioni del background (radiazioni cosmiche ed in parte l'irraggiamento gamma locale).

Una volta che il TBK è stato determinato, si può calcolare la FFM con un fattore di conversione specifico il cui valore risulta piuttosto controverso. Forbes et al. (1961) proposero un valore di 68.1 mmol/kg di FFM per i maschi e di 64.2 mmol/kg per le femmine (Forbes, 1974).

Morgan & Burkinshaw (1983) suggerirono che non esiste alcuna differenza riguardo al sesso degli individui e che il TBK aumentava proporzionalmente alla FFM da valori di 53.8 mmol/kg per una FFM di 30 kg a 60.6 mmol/kg per una FFM di 80 kg. Nonostante ciò, la controversia riguardo l'influenza del sesso sul TBK è ancora irrisolta. In conclusione, con una apparecchiatura ben calibrata, tenuta al riparo dalle radiazioni del background, e con le opportune correzioni, si possono ottenere misure precise del TBK. Tuttavia, il costo della strumentazione e dei supporti tecnici è abbastanza elevato per una applicazione su vasta scala.

1.3.2 Metodi di riferimento recenti

Scopo di questo paragrafo è fornire una breve rassegna delle principali tecniche che sono state introdotte negli ultimi 10-15 anni in seguito allo sviluppo ed al perfezionamento della tecnologia biomedica. Diversi studi hanno evidenziato le enormi potenzialità di queste tecniche non solo nella valutazione dei distretti corporei di tipo "classico" (FM, FFM, TBW, TBK, ecc.) ma anche nello studio della distribuzione del tessuto adiposo, della massa e della morfologia del tessuto muscolare scheletrico, delle dimensioni degli organi. Queste tecniche possono costituire un valido aiuto nella conoscenza delle relazioni tra metabolismo energetico e composizione corporea, permettendo così, in

un futuro molto prossimo, di impostare delle valide strategie terapeutiche in tutte quelle patologie in cui la componente metabolica gioca un ruolo predominante.

Attivazione neutronica "in vivo" (In Vivo Neutron Activation = IVNA)

L'IVNA è una tecnica analitica basata su reazioni nucleari: la procedura standard prevede, infatti, l'irradiazione del soggetto con un fascio di neutroni veloci che attraversando i tessuti creano isotopi instabili come il calcio 49 e l'azoto 15, il cui decadimento comporta l'emissione di uno o più raggi gamma con un livello di energia caratteristico per ciascun elemento (Heymsfield & Waki, 1991). L'analisi spettrografica dei raggi gamma emessi ci permette, quindi, di identificare il tipo di atomo eccitato tramite il livello energetico e di determinarne l'abbondanza analizzando il livello di attività. Attraverso l'eccitazione dell'azoto, del calcio e del carbonio è possibile poi trarre stime su tre compartimenti corporei, rispettivamente le proteine, i minerali e i grassi. Le variabili principali di questa metodica riguardano la densità del flusso neutronico, l'abbondanza isotopica, il tempo di dimezzamento degli isotopi prodotti e l'emissione di energia dell'attività indotta. Comunque, gli alti costi tecnici, la mancanza di mobilità delle apparecchiature e l'uso di radiazioni ionizzanti non permettono un uso su vasta scala.

Densitometria (Dual-energy X-ray Absorptiometry = DXA)

La Dual energy X-ray Absorptiometry (DXA) è una tecnica relativamente nuova, inizialmente utilizzata per la determinazione della densità minerale ossea e successivamente impiegata anche nell'analisi dei tessuti molli, massa grassa (FM) e massa libera da grasso (FFM).

L'attenuazione che un tessuto biologico oppone ad un fascio incidente di radiazioni è funzione dello spessore, della densità e della composizione chimica del tessuto stesso. La metodica DXA per lo studio della massa grassa ed in generale dei tessuti molli si basa sul principio che tali tessuti determinano una attenuazione costante alla emissione di due definite radiazioni energetiche di 40 kV e 70 kV (raggi X). Il fenomeno dell'attenuazione si basa sull'effetto fotoelettrico e sull'effetto Compton. Nella realtà il fenomeno della attenuazione non è lineare, tuttavia assumendo che sia costante si ha per un tessuto costituito da sola massa grassa $R_f=1.21$, e per un tessuto costituito dal sola massa magra $R_l=1.399$; l'attenuazione per il tessuto osseo risulterebbe molto più alta. Poiché nell'organismo umano ogni tessuto risulta costituito da più componenti in proporzioni diverse, l'attenuazione energetica risultante presenta un valore medio.

Si può scrivere la seguente espressione:

$$R_{fl} = \frac{(R_{fl} - R_f)}{(R_l - R_f)}$$

dove:

R_{fl}: attenuazione misurata e *R_f* e *R_l* rispettivamente le costanti riferite al solo tessuto grasso ed al solo tessuto magro.

Nella misura totale corporea, 40-45% dei pixel (punti luminosi di cui è costituita l'immagine radiologica sul monitor, il cui tono nella scala dei grigi è in relazione alla densità del volume del tessuto analizzato) sono classificati come contenenti massa minerale ossea; il restante (circa la metà del volume corporeo) è rappresentato dai tessuti molli.

Il sistema DXA consta di un piano di rilevazione in cui sono inseriti i sensori per il rilevamento dell'attenuazione. A tale piano viene applicato un carrello mobile che scorre longitudinalmente e che trasporta l'emettitore di energia che a sua volta può scorrere su binari in modo trasversale mediante un motore di precisione. Per mezzo di un computer dedicato si determina il moto longitudinale e trasversale dell'emettitore, l'acquisizione dei dati di attenuazione rilevati e la successiva elaborazione dei dati per la stampa o la visione dei risultati della composizione corporea. E' in preparazione una strumentazione che prevede l'uso di un triplice raggio energetico come estensione della metodica DXA.

La DXA fornisce una buona riproducibilità (CV% circa 1%) (De Lorenzo et al., 1996; De Lorenzo et al., 1997) per la misura della densità minerale ossea e un tempo di scansione abbastanza breve (circa 5-10 min a seconda della velocità di scansione).

L'errore di tale metodica è stato valutato intorno al 3-4% per il grasso corporeo e dipende prevalentemente da stati di alterata idratazione e dallo spessore antero-posteriore corporeo (quest'ultimo se maggiore di 20 cm comporta un errore superiore a quello definito). La riproducibilità della misura dipende invece dalla risoluzione adottata (numero di punti scansionati per cm² di area corporea); tale riproducibilità risulterebbe ottimale per misurazioni che consentono l'analisi di 5-10 punti per cm².

La tecnica DXA risulta un metodo preciso ed accurato per la misura della massa grassa corporea totale e distrettuale. La bassa invasività (circa 0.06 mrem) rispetto alle metodiche di immagine (es: Tomografia Computerizzata), la possibilità di ottenere misure segmentali corporee (tessuto adiposo intraaddominale), ne consigliano l'utilizzo a scopo prognostico e diagnostico, nel paziente obeso.

Per tali motivi questa, attualmente, è ritenuta la metodica di riferimento per la valutazione della composizione corporea.

Risonanza magnetica nucleare (Nuclear Magnetic Resonance = NMR).

La NMR si basa sul fatto che i nuclei degli atomi, composti principalmente da protoni e neutroni, in presenza di un campo magnetico, tendono a comportarsi come magneti, allineandosi ad esso. Nel momento in cui un'onda radio viene diretta all'interno dei tessuti del corpo, alcuni nuclei assorbono la sua energia cambiando orientamento all'interno del campo: quando l'onda radio viene interrotta, i nuclei, precedentemente attivati, emettono il segnale radio che avevano assorbito, permettendo, tramite la loro registrazione, la costruzione di un'immagine al computer. Il nucleo fino ad ora maggiormente utilizzato è quello dell'idrogeno, poiché, essendo costituito da un unico protone, risulta particolarmente "sensibile" a questa metodica.

La determinazione della TBW con la NMR è resa possibile dalla misurazione del decadimento nel voltaggio susseguente all'attivazione dei nuclei dell'idrogeno: è possibile, quindi, determinare l'acqua corporea moltiplicando l'ampiezza del picco con una costante determinata sperimentalmente per un tipo di acqua standard. Inoltre, è possibile discriminare, tramite l'immagine al computer, la componente adiposa da quella muscolare, apparendo la prima molto chiara e la seconda quasi nera (Mallard, 1986).

Un altro aspetto importante della NMR è la sua capacità di stimare la

composizione delle fibre muscolari (Houmard et al., 1995), permettendo così di valutare anche la quantità e la composizione del tessuto muscolare.

Infine, un'applicazione recente e dagli sviluppi promettenti è la NMR spettroscopica. Questa tecnica è stata applicata con successo nella misura dei metaboliti fosforici ad alta energia (fosfocreatina, adenosintrifosfato, adenosindifosfato) nel muscolo (Bock, 1994). Uno dei principali vantaggi della NMR è che, a differenza della tomografia computerizzata, non utilizza radiazioni ionizzanti, senonché gli alti costi dell'apparecchiatura ne limitano, per adesso, l'uso.

Tomografia computerizzata (Computerized Tomography = CT)

La CT è un metodo radiografico introdotto per la determinazione della composizione corporea a livello regionale (Borkan et al., 1982). Il sistema si basa sull'utilizzo di una sorgente di raggi X che vengono indirizzati verso il soggetto in determinate parti del corpo: al passaggio del fascio energetico, i tessuti ne assorbono una quota in relazione alla loro densità ed i detettori del sistema registreranno determinati valori di attenuazione del fascio stesso. Il computer registra poi questi valori e li converte, in un processo chiamato ricostruzione d'immagine, in una scala graduata dal bianco, attraverso il grigio, fino al nero, dando un'immagine a sezione trasversale che è direttamente visibile su un

monitor televisivo (Borkan et al., 1985). Le aree di sezione trasversa ("*slice*") che si ottengono hanno uno spessore di circa 10 mm.

Nella scala di Hounsfield, la più utilizzata per questa metodica, è stato assegnato un valore arbitrario di attenuazione dei raggi X per l'acqua che è zero, un valore di -1000 per la densità più bassa, che sul monitor appare nera, e di +1000 per quelle più alte, che risultano bianche, con l'aria e le ossa rispettivamente all'estremità inferiore e superiore della scala. I fattori che possono influenzare l'attendibilità dei valori finali riguardano la mancata regolazione dello strumento, i movimenti, anche involontari (peristalsi), del soggetto durante la misurazione e la "durezza" del fascio di raggi X. I principali svantaggi di questa metodica sono la dose di radiazioni a cui è sottoposto il soggetto e il costo elevato del sistema per un uso di routine.

1.3.3 Metodi indiretti

Antropometria e plicometria

Le misure antropometriche forniscono informazioni sulla composizione e dimensione corporea, la struttura scheletrica e sullo sviluppo osseo e dei tessuti molli; sono largamente utilizzate per la loro semplicità e facilità di raccolta. Il numero delle misurazioni possibili è molto ampio e la scelta dipende dallo scopo dello studio, dal numero e dall'età dei soggetti del campione da esaminare. Il peso e la statura sono le due

misure antropometriche più largamente utilizzate per studi di tipo epidemiologico sullo stato nutrizionale di una popolazione. Il valore predittivo di questi due parametri presi singolarmente riguardo la composizione corporea e quindi lo stato nutrizionale, è scarso: l'accrescimento umano, infatti, viene influenzato e regolato in misura notevole dalla componente genetica e ambientale, mentre la misura del peso corporeo non distingue i rapporti relativi tra le varie componenti dell'organismo. Per questi motivi, la misura della statura e del peso sono state integrate per ottenere degli indici di riferimento dell'adiposità degli individui.

I criteri per la scelta di questi indici sono essenzialmente due:

- 1) l'indice deve essere altamente correlato con la percentuale di grasso corporeo;
- 2) deve avere una bassa correlazione con la statura.

Le due più comuni misure di obesità sono il peso relativo e gli indici peso/statura. Il peso relativo è il rapporto tra il peso osservato del soggetto ed il peso standard ed è espresso come percentuale al di sopra o al di sotto lo standard. I pesi standard sono derivati da ampi gruppi di persone della stessa statura, sesso ed età: i più largamente utilizzati sono i "pesi desiderabili" della Metropolitan Life Insurance Co. del 1983.

Per la popolazione italiana adulta, tuttavia, le tabelle del 1959 sono da

preferire a quelle del 1983, perché in queste i, pesi sono mediamente superiori di 5.4 kg (Consensus Conference Italiana, 1991). In linea generale, un eccesso ponderale tra il 20 e il 40% viene classificato come sovrappeso; tra il 40 e l'80% obesità manifesta; oltre l'80% obesità morbigena.

Gli indici di obesità sono combinazioni di peso e statura non riferiti ad uno standard; ne sono stati proposti diversi: Wt/Ht , $Wt/Ht^{1.5}$, Wt/Ht^2 , Wt/Ht^3 (dove Wt = peso e Ht = statura), tuttavia l'indice che presenta una minore correlazione con la statura ed ha la più alta correlazione con il peso e la quantità di grasso corporeo ottenuta mediante la pesata idrostatica è l'indice di Quetelet o indice di massa corporea (Body Mass Index = BMI), vale a dire il rapporto tra il peso, espresso in kg, e la statura in m elevata al quadrato: Wt/Ht^2 (Keys et al., 1972). I valori del BMI per maschi e femmine adulti sono suddivisi in categorie:

tabella 1.1

| Classificazione | BMI(kg/m ²) | Rischio relativo*/ Circonferenza vita | |
|---------------------|-------------------------|--|-------------------------|
| | | ≤102cm (U) ≤88cm (D) | >102cm (U) >88cm (D) |
| Sottopeso | <18,5 | | |
| Normalità | 18,5-24,9 | | |
| Sovrappeso | ≤25,0 | | |
| Pre-obesità | 25-29,9 | Aumentato | Elevato |
| Obesità di 1° grado | 30-34,9 | Elevato | Molto elev. |
| Obesità di 2° grado | 35-39,9 | Molto elev. | Molto elev. |
| Obesità di 3° grado | ≥40 | Elevatissimo | Elevatissimo |

*rischio relativo di diabete tipo 2, ipertensione arteriosa, malattia coronarica; U=uomini, D=donne

Le misure dei diametri scheletrici sono rilevate nella maggior parte delle procedure per la definizione della costituzione scheletrica, come nella tecnica del somatotipo di Heath-Carter (1967), con cui è possibile classificare i differenti biotipi umani secondo tre componenti, ottenute grazie ad equazioni specifiche:

- 1) L' endomorfismo, che rappresenta la componente adiposa del corpo umano, viene calcolato utilizzando la somma delle pliche di grasso sottocutaneo a livello tricipitale, sottoscapolare e sovrailiaca, corretta poi per un appropriato fattore che tiene conto della statura dell'individuo;
- 2) Il mesomorfismo, espressione dello sviluppo muscolo-scheletrico dell'individuo, è ottenuto a partire dai diametri del gomito e del ginocchio e dalle circonferenze del braccio e del polpaccio corrette per le rispettive pliche, oltre alla misura della statura;
- 3) La componente ectomorfica, basata sul rapporto tra la statura e la radice cubica del peso, indica la "linearità" dell'individuo.

I diametri maggiormente utilizzati per la descrizione delle dimensioni scheletriche sono quelli del polso, del gomito, delle spalle, dell'anca e del ginocchio, anche se in letteratura sono riferite altre misurazioni, per la mancanza di un comune accordo sulla definizione della costituzione scheletrica e, quindi, sulla scelta delle misure scheletriche da adottare.

E' importante che nella scelta del diametro da misurare, i punti di

riferimento ossei siano palpabili non solo nei soggetti magri, ma anche negli individui obesi. Inoltre, è necessario che le due branche del calibro esercitino una discreta pressione sulle due estremità del segmento osseo in modo da ridurre al minimo l'errore di misurazione dovuto allo spessore del tessuto epidermico, adiposo sottocutaneo e muscolare.

La misurazione delle circonferenze, in particolari distretti corporei, eventualmente in combinazione con le misure delle pliche cutanee rilevate negli stessi punti, ci fornisce, tramite l'applicazione di equazioni specifiche, utili informazioni riguardo:

- 1) La dimensione e la distribuzione della massa muscolare e della massa grassa a livello regionale e dell'intero corpo;
- 2) La determinazione, tramite la misura derivata delle aree muscolari, dei livelli e dei cambiamenti nelle quantità relative di tessuto adiposo e muscolare durante una terapia nutrizionale o una riabilitazione fisica.

In generale, il segmento anatomico maggiormente utilizzato per questo tipo di studi è il braccio.

La coscia e il polpaccio vengono misurati meno frequentemente. Le assunzioni su cui si basa la metodica sono le seguenti:

- 1) il braccio è assimilabile ad un cilindro;
- 2) lo strato di grasso sottocutaneo è distribuito simmetricamente intorno al muscolo;

- 3) la sezione trasversa del compartimento muscolare del braccio è circolare;
- 4) la componente ossea rappresenta una frazione trascurabile dell'area muscolare del braccio.

Misurando la circonferenza del braccio, è possibile ricavare la sua area trasversa: questa è chiaramente costituita dal tessuto adiposo, muscolare, ed osseo. Lo spessore dello strato sottocutaneo di grasso può essere facilmente calcolato rilevando la plica cutanea a livello tricipitale con un plicometro. Sono state sviluppate, quindi, delle equazioni per la determinazione della circonferenza e dell'area muscolare (Heymsfield et al., 1982a).

Con l'introduzione della tomografia assiale computerizzata, e quindi con la possibilità di studiare le dimensioni e la distribuzione reale dei vari tessuti, risultò evidente che ciascuna delle assunzioni precedentemente elencate contribuiva in misura maggiore o minore all'errore totale della metodica. Per esempio, l'area muscolare del braccio veniva sovrastimata dalle equazioni sopra menzionate, e ciò era dovuto alla non circolarità del muscolo visto in sezione e all'inclusione del tessuto neurovascolare e osseo nell'area muscolare (Heymsfield et al., 1979).

Furono quindi sviluppate nuove equazioni per correggere questi errori (Heymsfield et al., 1982b):

$$\text{per i maschi } AMB = [(CB - \pi PT)^2 / 4\pi] - 10$$

$$\text{per le femmine: } AMB = [(CB - \pi PT)^2 / 4\pi] - 6.5$$

in cui: AMB = area muscolare del braccio (in cm²); CB = circonferenza del braccio (in cm); PT = plica tricipitale (in cm).

Anche queste correzioni, però, essendo basate su coefficienti medi, possono portare nei vari individui ad un certo grado di errore. Tuttavia, pur riconoscendone tutti i limiti, queste misure vengono utilizzate nella pratica clinica per la loro facilità di rilevazione ed il basso costo. Tecnicamente, le circonferenze corporee vengono misurate con un nastro metrico metallico: questo deve essere non estensibile, flessibile, preciso, facile da usare e da leggere.

Durante la misurazione il nastro deve:

- 1) essere in contatto con la pelle per tutto il contorno del segmento corporeo, ma, allo stesso tempo, non deve comprimere i tessuti sottostanti;
- 2) essere perpendicolare all'asse verticale dell'arto in esame.

L'uso dello spessore delle pliche cutanee per la determinazione delle percentuali di FM e FFM tramite equazioni di regressione (Plicometria) è un metodo estremamente comune e diffuso per la conoscenza sia dello stato nutrizionale sia della distribuzione del grasso sottocutaneo di un individuo.

Sono state proposte più di un centinaio di equazioni: tuttavia, la maggior parte di esse sono specifiche per il tipo di popolazione da cui sono state ricavate per motivi tecnici, statistici e biologici. Generalmente, nell'uso delle pliche cutanee per la determinazione della percentuale di grasso corporeo sono implicite alcune assunzioni (Martin et al., 1985):

- 1) la compressibilità delle pliche è costante: in realtà, questo fattore varia con lo stato di idratazione, l'età, lo spessore della plica. In generale, nei soggetti più giovani la compressibilità delle pliche è maggiore per la più alta idratazione dei tessuti. Inoltre, la facilità con cui lo strato adiposo sottocutaneo è separato dalla sottostante muscolatura varia a seconda del sito e dell'individuo: i soggetti molto magri e gli obesi pongono, in questo caso, i problemi maggiori. In generale, aumentando lo spessore della plica diminuisce proporzionalmente la possibilità di ottenere una misurazione riproducibile;
- 2) lo spessore della cute viene generalmente trascurato, sebbene non sia una frazione costante della plica cutanea;
- 3) la distribuzione del grasso nell'organismo (Fat Patterning) è considerata relativamente fissa: quindi, è chiaro che a livello individuale la scelta delle pliche da misurare può non essere rappresentativa dello spessore di tessuto adiposo sottocutaneo del

soggetto;

- 4) il contenuto di grasso nel tessuto adiposo è ritenuto costante: tuttavia, nel materiale biotico il range di questo valore è alto, variando dal 60 al 90% a seconda del peso del soggetto e probabilmente dell'età e del sesso;
- 5) infine, il rapporto tra tessuto adiposo viscerale e sottocutaneo è considerato costante, nonostante possa variare in relazione all'età, al sesso e alla percentuale di grasso corporeo del soggetto.

Tecnicamente, le pliche cutanee vengono misurate con appositi plicometri: ne esistono molti tipi, ma i modelli più largamente utilizzati sono quelli che esercitano sulla plica una pressione di $10\text{g}/\text{mm}^2$ a qualsiasi apertura delle due branche. Durante la misurazione della plica possono avvenire 2 tipi di errori tecnici:

- 1) l'errore dell'esaminatore (intra-operatore), che consiste nell'"incapacità" di ottenere due misurazioni identiche della stessa plica: questo dipende dal tipo di plica, dalla quantità di grasso del soggetto e dall'esperienza dell'esaminatore;
- 2) l'errore tra gli esaminatori (inter-operatori), che si verifica allorché una serie di misurazioni su molti soggetti viene effettuata da due o più esaminatori.

L'errore nella valutazione della composizione corporea determinata mediante plicometria, rispetto alla densitometria, è stato valutato da

Lohman (1981) intorno al 5% della FM, variando in più o in meno a seconda del campione di soggetti e dell'equazione utilizzata.

Per quanto riguarda il lato del corpo su cui effettuare le varie misurazioni, non c'è un accordo comune. Generalmente, negli Stati Uniti il lato prescelto è il destro, mentre in Europa e nei paesi in via di sviluppo è il sinistro (Martorell et al., 1988). Questa differenza non comporta, comunque, un errore rilevante nella stima della percentuale di FM.

Impedenza bioelettrica (Bioelectric Impedance Analysis = BIA)

La metodica del BIA si basa sulla proprietà comune a tutti gli organismi viventi, e quindi anche all'uomo, di condurre la corrente elettrica. Questa proprietà è dovuta essenzialmente alla FFM, che contenendo praticamente tutta l'acqua e gli elettroliti corporei, si comporta come un conduttore elettrico le cui proprietà dipendono dalle caratteristiche, quali la mobilità e la concentrazione, dei vari ioni (De Lorenzo et al., 1991; De Lorenzo et al., 1995; De Lorenzo et al., 1998). Il grasso presenta, invece, una conducibilità elettrica assai minore. L'impedenza (Z) è definita dalla formula generale

$$Z^2 = R^2 + Xc^2,$$

in cui R è la resistenza ed Xc la reattanza.

La prima rappresenta la semplice opposizione del corpo al passaggio

della corrente, mentre la seconda esprime, numericamente, il modo in cui le membrane cellulari e le superfici di contatto tra i vari tessuti si comportano al passaggio della corrente elettrica di valore non costante con modalità assimilabili a quelle dei condensatori, accumulando, cioè, una certa quantità di carica elettrica e causando uno spostamento di fase nella corrente applicata.

La reattanza dipende notevolmente dalla frequenza, per cui a valori molto alti e molto bassi di frequenza essa è praticamente nulla e l'impedenza è dovuta solamente al fattore resistenza.

A frequenze intermedie, la trasformazione angolare del rapporto tra reattanza e resistenza ($\text{arc tang } X_c/R$) è detto angolo di fase (ϕ) ed è una grandezza per la quale alcuni autori descrivono delle possibilità applicative nello studio della composizione corporea tramite impedenziometria (Baumgartner et al., 1988).

Il volume di massa magra è valutabile, quindi, conoscendo le relazioni tra impedenza e caratteristiche fisiche del conduttore: l'impedenza di un sistema geometrico dipende, infatti, dalla lunghezza e configurazione del conduttore, dalla sua area di sezione trasversa e dalla frequenza del segnale. In condizioni di frequenza costante (50 kHz) e di configurazione relativamente costante del corpo umano (assimilato ad un cilindro o ad una serie di cilindri connessi tra loro), l'impedenza è definita dalla formula $Z = \rho L/A$ (essendo ρ la resistività specifica del

conduttore espressa in ohm x cm, L la sua lunghezza in cm, ed A la sua area di sezione in cm²), da cui deriva, moltiplicando per L/L la formula $Z = L^2/V$ (essendo $LA = V = \text{volume}$); da questa si ricava $V = L^2/Z$.

Fino a poco tempo fa, si teneva conto solo della componente resistiva (R) dell'impedenza, poiché la reattanza ha dei valori piuttosto piccoli rispetto alla resistenza ed il fattore L^2/R era quello che presentava la migliore correlazione con i valori di acqua totale corporea e massa magra ottenuti con metodiche di altro tipo (Kushner & Schoeller, 1986; Lukaski et al., 1985), per cui risultava $V = L^2/R$.

I valori dell'impedenza, risultanti dal passaggio della corrente a diverse frequenze, possono essere utilizzati per distinguere le proporzioni relative del volume intra- ed extra-cellulare dei fluidi corporei (Jenin et al., 1975; De Lorenzo et al., 1994; De Lorenzo et al., 1995).

A basse frequenze (1-5 kHz), la corrente passa principalmente attraverso i fluidi extra-cellulari. A frequenze intorno a 50 kHz, il passaggio della corrente avviene sia attraverso i fluidi extra-cellulari sia attraverso i tessuti corporei.

Ad alte frequenze (100 kHz - 1 MHz), invece, la corrente attraversa completamente tutti i tessuti corporei e la reattanza è, dunque, minima. Il rapporto tra il valore dell'impedenza a 5 kHz e a 1 MHz è stato utilizzato da Jenin et al. (1975) per ottenere una stima del volume dei fluidi extra-cellulari. Poiché il contenuto d'acqua nella FFM e nella FM

non è costante (Keys & Brozek, 1953), la distinzione tra il compartimento extra-cellulare e la TBW, ottenuta tramite misure di impedenza a bassa (5 kHz) e alta (1MHz) frequenza, può fornire utili informazioni circa i possibili effetti di differenti livelli di idratazione sulla valutazione della FFM.

Da un punto di vista tecnico, l'impedenziometria misura l'impedenza e la reattanza dell'individuo mediante l'uso di due coppie di elettrodi: questa tecnica permette di ridurre gli effetti dell'impedenza di contatto e della interazione cute-elettrodi dovuta alla resistenza cutanea.

Gli apparecchi in uso, tramite un microprocessore, convertono i dati bioelettrici del soggetto in percentuali di acqua corporea, massa magra e grasso corporeo sulla base di equazioni specifiche che richiedono anche i dati del peso, statura, età e sesso del soggetto.

Studi su possibili influenze di alcune variabili come attività fisica, tipo di diete, uso di estroprogestinici e fasi del ciclo mestruale, non hanno riscontrato variazioni significative (Chumlea et al., 1987). In uno studio condotto da Ross et al. (1992), è stato messo in evidenza come la posizione assunta dal soggetto al momento della misurazione influisca sui valori di resistenza registrati. Quando i soggetti erano in posizione supina per 60 minuti, i valori di resistenza aumentavano in modo lento e costante; al termine di questo tempo, erano sufficienti 5 minuti di posizione eretta per osservare una diminuzione della resistenza fino ai

livelli iniziali. Ciò era dovuto al ridotto effetto della forza di gravità sul soggetto in posizione supina, che favoriva il passaggio del fluido interstiziale nel compartimento intravascolare, il cui aumento del volume determinava un aumento della resistenza. Nello stesso studio, è stato evidenziato inoltre, che variazioni della concentrazione plasmatica di sodio, ottenute mediante infusione ipertonica di soluzioni saline al 5%, determinano una diminuzione dei valori di resistenza. Gli Autori propongono, quindi, l'introduzione di fattori di correzione che tengano conto delle variazioni della concentrazione plasmatica di sodio, nel caso in cui le misurazioni vengano effettuate in più repliche sullo stesso soggetto.

Bioimpedenza spettroscopica (Bioimpedance Spectroscopy = BIS)

La BIS è una tecnica che utilizza modelli statistici per estrapolare valori di resistenza a frequenze molto alte e molto basse utilizzando valori di resistenza ottenuti a frequenze in cui la misura risulta affidabile (1-500 kHz). Questa tecnica è stata recentemente validata (De Lorenzo et al., 1997) e può costituire, in futuro, una tecnica affidabile per il monitoraggio dello stato di idratazione dei tessuti.

Escrezione urinaria di creatinina (EUC)

La determinazione dell'escrezione urinaria della creatinina nelle 24 ore è il metodo biochimico più usato per la determinazione della massa muscolare corporea. Questa metodologia si basa sul fatto che la creatinina è l'unico metabolita della creatina, sostanza localizzata prevalentemente nel muscolo (il 98% del pool corporeo di creatina) (Heymsfield et al., 1983). E' generalmente riconosciuto che l'EUC è in relazione con la FFM e la massa muscolare (Forbes & Bruining, 1976). Esistono, tuttavia, alcuni limiti alla validità del metodo; innanzitutto la grande variabilità intraindividuale nell'EUC giornaliera: il coefficiente di variazione medio varia infatti dall' 1 al 20% per individui che consumano una dieta libera (Lykken et al., 1980). Anche la composizione della dieta influisce sull'EUC: soggetti in salute che consumavano una dieta priva di carne per parecchie settimane riducevano la loro EUC del 10-20% (Calloway & Margen, 1971). Infine, un errore di 15 minuti nella raccolta di un campione di urine comporta un errore dell' 1 % nella determinazione dell' EUC nelle 24 ore (Forbes & Bruining, 1976). Generalmente si raccomanda di raccogliere campioni di urine per 3 giorni consecutivi per poter avere una escrezione di creatinina rappresentativa per un individuo. Alcuni ricercatori hanno proposto rapporti tra escrezione di creatinina e massa muscolare tra 17 e 20 kg/g di creatinina escretata, tuttavia non si è ancora giunti ad un valore unico e

costante: probabilmente, questa diversità di valori rispecchia l'eterogeneità nella popolazione di fattori quali l'età, il sesso, la maturità, l'attività fisica e lo stato metabolico (Boileau et al., 1972).

Creatinina Plasmatica Totale (CPT)

L'uso della CPT (volume plasmatico per concentrazione della creatinina plasmatica) per il calcolo della massa muscolare scheletrica è stato introdotto da Schutte et al. (1981), che trovarono una buona correlazione ($r = 0.82$) tra CPT e l'escrezione urinaria di creatinina nelle 24 ore.

Poiché, come abbiamo detto, l'EUC è in rapporto con la massa muscolare scheletrica, gli Autori calcolarono che un mg di CPT corrisponderebbe a 0.88 o 0.98 kg di massa muscolare scheletrica.

Escrezione urinaria della 3-metilistidina

La 3-metilistidina (3-MH) è un aminoacido che è presente quasi esclusivamente nelle proteine delle miofibrille. Durante il catabolismo proteico la 3-MH rilasciata non è riutilizzata per la sintesi delle proteine, nè viene metabolizzata ulteriormente, ma viene escreta nelle urine.

Fu ipotizzato, quindi, che in periodi di equilibrio metabolico, la sintesi e la degradazione delle proteine muscolari fossero bilanciate, così che la

3-MH giornalmente escreta potesse essere proporzionale alla massa muscolare dei soggetti (Mendez et al., 1984).

La procedura standard prevede l'eliminazione della 3-MH esogena dall'organismo con una dieta priva di carne per almeno 3 giorni. Quindi vengono raccolte le urine per 3 giorni consecutivi in modo da ottenere informazioni sulla variabilità giornaliera nell'escrezione della 3-MH. Il metodo è simile a quello dell'escrezione urinaria di creatinina con tutti i possibili errori nella raccolta dei campioni. Inoltre, il contributo potenziale delle proteine muscolari non scheletriche al tasso di escrezione della 3-MH (Rennie & Millward, 1983), ha fatto sorgere alcuni dubbi sulla validità del metodo, sebbene Lukaski & Mendez (1980) abbiano trovato un alto tasso di correlazione ($r=0.89$, $P<0.001$) tra 3-MH e FFM.

Analisi della conduttività elettrica totale corporea (Total Body Electrical Conductivity = TOBEC)

La metodica del TOBEC si basa sul principio che un organismo introdotto in un campo elettromagnetico produce delle perturbazioni nel campo stesso, dipendenti dalla quantità, dalla concentrazione, dalla composizione e dal volume di distribuzione degli elettroliti in esso contenuti. Assumendo delle relazioni costanti tra la TBW e i suoi elettroliti e fra la FFM e il suo contenuto ionico è possibile ricavare, a

partire dall'analisi della conduttività totale corporea, la TBW e la FFM del soggetto in esame. Studi comparativi (Presta et al., 1983; Segal et al., 1985) con altre metodiche, quali la pesata idrostatica, la TBW, il ^{40}K , misure antropometriche, e il BIA, hanno convalidato il valore predittivo del TOBEC. L'applicazione pratica di questa metodica, tuttavia, appare destinata, per le sue caratteristiche di costo e d'ingombro, ai centri di ricerca specialistica più che a studi di massa.

Metodi che utilizzano lo spessore del tessuto adiposo sottocutaneo

La valutazione della percentuale di grasso corporeo tramite lo studio dello spessore del tessuto adiposo sottocutaneo ottenuto grazie alla rilevazione delle pliche cutanee in una o più parti del corpo può portare ad errori di misurazione dovuti sia alla diversa compressibilità delle pliche a seconda dell'età dei soggetti, sia all'impossibilità di rilevare le pliche in soggetti obesi. Per far fronte a questi problemi, è stato proposto l'uso di due metodiche alternative: gli ultrasuoni e l'assorbimento all'infrarosso.

Ultrasuoni

La tecnica che si basa sugli ultrasuoni utilizza una sonda che converte l'energia elettrica in energia sotto forma di onde sonore ad alta

frequenza; queste onde, attraversando la cute ed il tessuto adiposo, giungono all'interfaccia con il tessuto muscolare: a questo punto, le diverse proprietà acustiche dei due tessuti provocano la riflessione di una parte dell'energia sonora. La registrazione del tempo impiegato dalle onde per tornare indietro viene utilizzata per calcolare il cammino percorso, e quindi lo spessore di tessuto adiposo. In un lavoro, condotto su 124 uomini di età compresa tra 18 e 30 anni, con una percentuale di grasso corporeo, calcolata mediante densitometria, dal 3.5 al 32.7%, è stato misurato lo spessore di tessuto adiposo in 7 punti del corpo tramite plicometria e ultrasuoni (Fanelli & Kuczmarsky, 1984): i coefficienti di correlazione con la densitometria erano, in media, leggermente più alti per la plicometria rispetto agli ultrasuoni.

La metodica, comunque, non è ancora stata convalidata con campioni eterogenei che abbiano ampi range di grasso corporeo; inoltre, non è stata ancora definita una frequenza fissa del segnale, ed una pressione uniforme e costante della sonda sulla regione corporea interessata.

Assorbimento all'infrarosso

La metodica sfrutta l'interazione di una parte dello spettro della luce, quella dell'infrarosso "prossimo" ed in particolare le lunghezze d'onda comprese tra 700 e 1100 nm, con il tessuto sottocutaneo fino ad una profondità di 1 cm sotto la cute.

Quando la radiazione elettromagnetica colpisce il tessuto, l'energia viene assorbita, riflessa o deviata a seconda delle proprietà assorbenti o devianti del tessuto stesso, che dipendono dalla sua composizione chimica. La quantità di energia riflessa dal sito anatomico studiato viene registrata dai detettori del sistema e quindi confrontata con quella riflessa da un blocco standard di Teflon spesso 1 cm. Dalla trasformazione logaritmica di questo rapporto si possono ottenere informazioni circa la composizione del tessuto. Conway et al. (1984) misero a confronto l'assorbimento all'infrarosso con la tecnica di diluizione che utilizza D_2O , con la plicometria e con gli ultrasuoni, per quanto riguarda la percentuale di grasso, trovando coefficienti di correlazione rispettivamente di 0.94, 0.90 e 0.89.

Il maggiore limite delle metodiche che utilizzano gli ultrasuoni e l'assorbimento all'infrarosso consiste nell'assumere un rapporto costante tra lo strato adiposo sotto cutaneo di particolari siti anatomici e la FM dell'intero organismo: se questo può essere plausibile per determinati campioni di popolazione omogenei, può non esserlo per un campione di individui eterogeneo.

CAPITOLO 2

DISPENDIO ENERGETICO E METODI DI VALUTAZIONE

2.1 Dispendio Energetico

Il dispendio energetico è una proprietà fondamentale degli esseri viventi, siano essi umani o animali. La spesa energetica giornaliera è la somma di 3 componenti:

- 1) il metabolismo di base (RMR),
- 2) la termogenesi dieto-indotta (DIT),
- 3) la termogenesi indotta da esercizio fisico

Il RMR costituisce abitualmente la frazione più cospicua della spesa energetica giornaliera, circa il 60-70%. Rappresenta la quantità di energia impiegata in condizioni di neutralità termica, dal soggetto sveglio dopo un sonno “ristoratore” (protratto per almeno 8 ore), ma in uno stato di totale rilassamento fisico e psichico, a digiuno da almeno 12 ore. In altre parole, il metabolismo basale è il minimo dispendio energetico necessario a mantenere le funzioni vitali e lo stato di veglia.

La DIT corrisponde a circa il 10% della spesa energetica giornaliera. Rappresenta la quantità di energia spesa durante i processi di digestione, assorbimento e trasporto degli alimenti. La termogenesi indotta dall'esercizio fisico corrisponde all'energia necessaria per compiere qualsiasi tipo di attività fisica; è determinata

dal tipo, dalla durata e dall'intensità dell'attività stessa. I metodi calorimetrici per misurare il metabolismo di base, sia quelli diretti che quelli indiretti, sono relativamente complicati e costosi per essere usati in tutte le situazioni in cui si vogliono stimare le esigenze nutrizionali.

2.2 Metodi di misura calorimetrici

Il termine calorimetria significa letteralmente «misura del calore» come effetto di reazioni biochimiche che avvengono all'interno dell'organismo. Tale misura può essere ottenuta direttamente (calorimetria diretta) o indirettamente (calorimetria indiretta).

Calorimetria diretta

La calorimetria diretta permette di valutare la spesa energetica a partire dalla misurazione della dispersione di calore di un soggetto posto all'interno di una stanza adeguatamente attrezzata; purtroppo gli alti costi ne limitano notevolmente l'impiego che è generalmente confinato alla convalida di altre metodiche.

La calorimetria diretta viene eseguita ponendo un individuo dentro una *camera calorimetrica*, isolata termicamente, così da poter valutare il calore che egli elimina per radiazione, convezione, conduzione ed evaporazione. La quantità di calore dissipata dal soggetto viene rilevata mediante uno scambiatore di calore raffreddato ad acqua che viene

posto nella camera. Il calcolo si basa sul flusso dell'acqua di raffreddamento e sul gradiente termico che si instaura attraverso le pareti dello scambiatore di calore.

La camera calorimetrica è considerata il "gold standard" per la stima della spesa energetica in laboratorio o in ambiente controllato. Essa, tuttavia, non ha alcun ruolo nella valutazione di condizioni "free living" o di attività che si svolgono per un prolungato periodo di tempo. Il suo principale impiego è in studi di ricerca. Inoltre, essa non è in grado di fornire informazioni riguardo ai substrati energetici utilizzati dal soggetto.

Calorimetria indiretta

E' la metodica che consente di valutare la spesa energetica attraverso la misurazione delle variazioni di concentrazione di ossigeno e anidride carbonica nei gas respiratori e di calcolare inoltre l'ossidazione dei substrati energetici (glucidi, lipidi, protidi) (Brandi LS et al., 1987; Kinney JM., 1980).

Essa consente di valutare il dispendio energetico calcolando, tramite la misura del consumo di ossigeno ($VO_2 = \text{Volume}/\text{min}$) e della produzione di anidride carbonica (VCO_2), il calore (o energia) prodotto dall'organismo nell'unità di tempo (De Lorenzo A., 1997). Se assumiamo che tutto l'ossigeno consumato venga utilizzato

dall'organismo per ossidare i substrati energetici e che tutta l'anidride carbonica prodotta sia eliminata a livello polmonare, è allora possibile calcolare la spesa energetica (EE) dell'individuo. La produzione di energia viene, quindi, calcolata misurando lo scambio dei gas respiratori (VO_2 e VCO_2) associati con l'ossidazione dei quattro principali macronutrienti: carboidrati, lipidi, proteine ed alcool. Dal VO_2 è possibile poi risalire all'EE, conoscendo l'equivalente calorico per un litro di ossigeno (Tab.2.1).

| | GRASSI | CARBOIDRATI | PROTEINE | ALCOL |
|---|---------------|--------------------|-----------------|--------------|
| Quoziente Respiratorio (RQ) | 0.710 | 1.000 | 0.835 | 0.667 |
| Consumo di O_2 (l/g) | 2.010 | 0.746 | 0.952 | 1.461 |
| Equivalente calorico di O_2(Kcal/l) | 4.683 | 5.044 | 4.652 | 4.855 |

Tabella 2.1 Costanti fondamentali utilizzate nella calorimetria indiretta

Esistono due differenti modalità di esecuzione della calorimetria indiretta. Nella calorimetria indiretta cosiddetta "Whole body", il soggetto si trova in una camera chiusa e ventilata con un flusso costante, dalla quale vengono continuamente raccolti dei campioni di aria per analizzarne la concentrazione di ossigeno e di anidride carbonica: la differenza tra la concentrazione dei due gas all'interno e all'esterno

della stanza, permette di calcolare l'EE del soggetto. Un metodo alternativo prevede la raccolta dei gas espirati attraverso una maschera o un boccaglio oppure tramite un "canopy" che circonda la testa del soggetto. Nel primo caso si ha la raccolta dei soli gas espirati, nel secondo l'aria espirata viene diluita all'interno della "canopy" ed aspirata da una pompa ad un flusso di aria costante (De Lorenzo A., 1997).

Il VO_2 e la VCO_2 vengono calcolati dalla ventilazione polmonare (VE) del soggetto e dalle concentrazioni di O_2 e di CO_2 nell'aria ambiente (FiO_2 e $FiCO_2$) e nell'aria espirata (FeO_2 e $FeCO_2$):

$$VO_2 = (FiO_2 - FeO_2) * VE \quad VCO_2 = (FiCO_2 - FeCO_2) * VE$$

Il VO_2 e la VCO_2 vengono calcolati riportando i valori alle condizioni standard dei gas ($T=0^\circ C$; $P=760$ mmHg; aria secca).

La calorimetria indiretta ha il vantaggio di fornire una misura dell'ossidazione dei diversi substrati (glucidi, lipidi, protidi ed alcool) a partire dal calcolo del rapporto tra produzione di anidride carbonica e consumo di ossigeno (Quoziente Respiratorio, QR) che è diverso secondo il tipo di nutriente utilizzato (Tab. 2.1): dal momento però che possono essere ossidati quattro diversi substrati e vengono misurati

solo due parametri (VO_2 e VCO_2), il calcolo richiede anche la conoscenza della quantità di proteine ed eventualmente di alcool ossidati al giorno. L'ossidazione proteica viene generalmente stimata dalla misura dell'azoto urinario (Nu) escreto nelle 24h. l'Nu rappresenta il catabolita terminale dell'ossidazione proteica, sapendo che 1 g di Nu corrisponde a 6.25g di proteine, è possibile risalire alla quantità giornaliera di proteine ossidate.

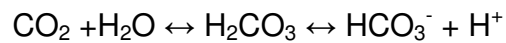
2.3 Metodi non calorimetrici

Acqua doppiamente marcata

L'acqua doppiamente marcata (DLW) è considerata una delle tecniche più accurate per la stima della spesa energetica (Shoeller, D.A., 1999). Essa si basa sulla quota di produzione e di escrezione urinaria di CO_2 durante varie attività fisiche. La spesa energetica può essere calcolata conoscendo il valore dell'equivalente calorico per un litro di CO_2 . L'acqua doppiamente marcata utilizza isotopi stabili ed è somministrata come un liquido dosato in accordo al peso corporeo. Tale tecnica fornisce una stima della spesa energetica totale (TEE) per uno specifico periodo di tempo, generalmente una o due settimane.

Il principio del metodo è il seguente: dopo aver raccolto un campione di urine al tempo zero, il soggetto assume una dose orale di acqua

doppiamente marcata ($^2\text{H}_2^{18}\text{O}$) con deuterio (^2H) e con ossigeno-18 (^{18}O). Il deuterio (^2H) si distribuirà in tutta l'acqua corporea e la sua diluizione progressiva nell'organismo (tasso di comparsa, k_2) fornirà una misura del turnover dei liquidi. L' ^{18}O marcherà sia il pool di acqua corporea sia il pool dei bicarbonati, grazie al rapido equilibrio che si instaurerà tra l'acqua e l'anidride carbonica, reazione catalizzata dall'enzima anidrasi carbonica:



La diluizione dell' ^{18}O (k_{18}) fornirà una misura del turnover combinato dei fluidi e dei bicarbonati. A questo punto, il turnover dei bicarbonati (in pratica la produzione di CO_2) può essere calcolato come differenza tra le velocità di scomparsa dei due isotopi ($k_{18}-k_2$) (De Lorenzo A., 1997).

L'acqua doppiamente marcata non può essere utilizzata per differenziare la durata, frequenza o intensità di ciascun singolo episodio di attività fisica nell'ambito di una più ampia finestra di tempo. La sua utilità e applicabilità clinica è ampiamente limitata dai suoi costi proibitivi, dalla necessità di personale specializzato e di laboratori attrezzati, e dal fatto che può soltanto fornire una stima della spesa energetica a lungo termine.

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 le principali tipiche attività. Tuttavia, non vi sono sufficienti evidenze che tale relazione sia così forte durante livelli di attività molto bassa o molto alta (Rowlands AV., 1997). Esistono molti fattori individuali, variabili da caso a caso, che possono influenzare la relazione tra frequenza cardiaca e spesa energetica. Ciò, ovviamente, limita la applicabilità del metodo su ampie popolazioni. I vantaggi principali di questo metodo sono la facilità d'uso e il fatto che non arreca disagio al soggetto, così da poter essere facilmente utilizzato anche per i bambini e gli anziani. Esso può fornire importanti, utili informazioni quando usato in combinazione con altri metodi di raccolta dei dati.

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 (Gass EM., Gass GC., 1998). Tuttavia, non si può considerare una efficace misura della EE in altre condizioni (Van

Marken Lichtenbelt WD. et al., 2001), non potendo, quindi, essere utilizzato estensivamente in condizioni “free living”. Inoltre, a causa della sua natura invasiva, il metodo è impraticabile e sconveniente per l’impiego su ampia scala. Tale metodo può aggiungere informazioni se abbinato ad altre metodiche di stima della spesa energetica e, comunque, non in condizioni “free living”.

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) (Aimsworth BE. Et al., 1993). Una volta classificata la 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. Non solo è difficile calcolare l’intensità assoluta di una attività usando le tabelle MET, ma inoltre la percezione

della intensità dello sforzo durante una attività varia da individuo a individuo.

Equazioni di predizione del metabolismo basale

La spesa energetica a riposo (REE) può essere attualmente stimata attraverso l'utilizzo di numerose formule predittive (circa 200), variabili in funzione della tipologia dei soggetti presi in esame (età, sesso, peso, patologie,...).

Parametri individuali quali l'intake calorico e la composizione corporea (non presenti nella formula presa in esame) influenzano in modo significativo l'REE. Tra le formule più frequentemente utilizzate nei soggetti normopeso e sani per predire la spesa energetica a riposo abbiamo preso in considerazione l'equazione di Harris-Benedict (Benedict FG., 1928):

Femmine: $655,095+(9,563 \times \text{peso})+(1,8496 \times \text{altezza})-(\text{età} \times 4,6756)$

Maschi: $66,473+(13,7516 \times \text{peso})+(5,0033 \times \text{altezza})-(6,755 \times \text{età})$

e l'equazione di De Lorenzo (De Lorenzo et al., 2001):

Femmine: $(46,322 \times \text{peso})+(15,744 \times \text{altezza})-(16,66 \times \text{età})+944$

Maschi: $(53,284 \times \text{peso})+(20,957 \times \text{altezza})-(23,859 \times \text{età})+487$

Dati in letteratura indicano che la frequenza di errore nella stima della spesa energetica usando la formula di Harris-Benedict è alta. E' stata dimostrata una significativa variabilità nella stima della spesa energetica, variabile da -12% a +15% (De Lorenzo A. et al., 2000; Van der Ploeg GE. et al., 2001; Van Way CW., 1992). Alcuni studi (Daly JM. Et al., 1985; Owen OE. et al., 1987) riportano una sovrastima del 5-15% della spesa energetica calcolata con Harris-Benedict rispetto ai valori misurati attraverso calorimetria indiretta, altri (Owen OE. et al., 1986) invece evidenziano una variabilità del $\pm 14\%$. Altri studi hanno dimostrato che la spesa energetica a riposo, misurata con la calorimetria indiretta è superiore al valore di REE predetta attraverso l'equazione di Harris-Benedict e che tale differenza è più evidente nei soggetti sovrappeso (+16%) rispetto agli obesi (+10%) ed ai normopeso (+9,24%) (Roza AM, Shizgal HM., 1984). Inoltre, alcuni Autori hanno anche notato significative variazioni nelle versioni della equazione pubblicate, che possono risultare in errori di calcolo della spesa energetica (Van Way CW., 1992).

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI

3.1 Popolazione di studio

Sono stati studiati 115 soggetti (64 femmine e 51 maschi) di età compresa tra 15 e 71 anni (Tab. 3.1). Esami ematochimici precedentemente eseguiti ed un accurato esame obiettivo hanno permesso di escludere patologie respiratorie, cardiovascolari, tiroidee, neoplastiche o altre malattie acute o croniche (incluso diabete mellito), nonché l'uso di farmaci che potessero alterare il dispendio energetico; 43 dei soggetti in esame erano fumatori, tuttavia, è stato loro chiesto di sospendere il fumo 2 giorni prima dello studio. Prima di ogni esperimento ciascun paziente è stato informato sulle procedure del test ed ha firmato un consenso informato.

| | MASCHI (n=51) Media ± SD | FEMMINE (n=64) Media ± SD |
|-------------|---|--|
| Età (anni) | 39±14 | 40±15 |
| Peso (kg) | 93,1±18,8 | 74,6±17,4 |
| Statura (m) | 1,76±0,07 | 1,61±0,06 |
| BMI | 30,1±5,5 | 28,6±7,3 |
| FM (kg) | 30,9±11,7 | 32,1±12,9 |
| LBM (kg) | 58,6±9,1 | 39,1±5,9 |
| FM % | 32,2±7,6 | 41,4±9,0 |

Tabella 3.1: Caratteristiche antropometriche

Legenda tabella 1: BMI = body mass index; LBM = lean body mass (massa magra); FM = Fat Mass (massa grassa);

3.2 Procedure sperimentali

Per la conduzione della prova, ciascun soggetto, a digiuno da 12 ore, è stato accompagnato presso il laboratorio di Nutrizione Umana dell'Università di Tor Vergata. Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico di questa Università.

In una prima fase, ogni soggetto è stato invitato a sdraiarsi in una stanza mantenuta ad una temperatura compresa tra i 22°C ed i 26°C, dove ha riposato per almeno 20 minuti sul lettino. A questo punto è stata posta una canopy sulla testa del soggetto ed è così cominciata la raccolta dei gas espirati, che è proseguita per 30 minuti.

Sono state, di seguito, rilevate le misure antropometriche e, successivamente, è stata eseguita una scansione "total body" DXA.

3.3 Misure Antropometriche

Il peso del soggetto, scalzo e vestito di sola biancheria intima, è stato determinato con bilancia a braccio, con approssimazione di 100g.

La statura eretta, con il soggetto scalzo, a talloni uniti, braccia lungo i fianchi e la testa orientata secondo il piano di Francoforte, è stata misurata con uno stadiometro, con approssimazione di 0,5 cm.

Il Body Mass Index (BMI) è stato calcolato con la formula di Quetelet.

$$\text{BMI} = \text{Peso}(\text{kg})/\text{Statura} (\text{m}^2)$$

3.4 Misure Metaboliche

Per la determinazione del VO_2 e della VCO_2 è stato utilizzato un Metabolimetro Sormedics 2900 (Anaheim, CA). La calibrazione dell'apparecchiatura è stata eseguita secondo le modalità prescritte dalla casa costruttrice.

Per la calibrazione dei gas, sono state utilizzate due miscele certificate (SIAD, Roma) contenenti: la prima 26.00% O_2 e resto N_2 la seconda 16% O_2 , 4.09% CO_2 e resto N_2 . la raccolta dei gas espirati è stata effettuata per 30 minuti. I dati sono stati raccolti ad intervalli di 1 minuto.

Per il calcolo del RMR sono stati considerati gli intervalli in cui il soggetto ha mantenuto lo "steady state" (SS); questo è stato definito come una variazione massima del 5% del VO_2 e della VCO_2 . Tutti i soggetti hanno raggiunto una condizione di SS per almeno 10 minuti.

Il RMR è stato calcolato con la formula di JB. Weir (1949):

$$RMR \text{ (kcal/die)} = [3.941 (VO_2) + 1.106 (VCO_2)] * 1.44$$

dove VO_2 e VCO_2 sono in ml/min.

3.5 Misure Densitometriche

La metodica DXA (Dual-energy X-Ray Absorptiometry) fu utilizzata inizialmente per la misura della densità (Bone Mineral Density, BMD) e del contenuto minerale osseo (Bone Mineral Content, BMC) e solo

recentemente è stata introdotta per misurare i tessuti molli dell'organismo: massa magra e massa grassa (FM e LBM). Le misure sono state eseguite con una scansione "total body" utilizzando un densitometro Lunar DPX (Madison, software WI, software versione 3.6) che utilizza fonte di raggi X a 12.5 fj.

Il soggetto, con indosso la sola biancheria intima, è stato correttamente disposto, in posizione supina, sul lettino con le braccia lungo i fianchi.

Il braccio mobile del densitometro ha effettuato scansioni ad intervalli di 1 cm procedendo progressivamente dal capo fino ai piedi.

L'esame "total body" è stato eseguito, in media, in circa 10 minuti.

3.6 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il programma SPSS (versione 15). I dati sono stati analizzati usando la procedura descritta da Pearson per verificare l'esistenza di un legame, una correlazione tra due o più insiemi di dati, e elaborazione della retta di regressione. È stata, quindi, stabilita una forte correlazione tra consumo di ossigeno e quantità di massa magra, per entrambi i campioni studiati. Questo è stato il punto di partenza per elaborare una formula, prendendo come modello la formula di Weir (Weir JB., 1949), per la stima del metabolismo basale. Infine è stata confrontata questa nuova formula elaborata con la formula di Harris-Benedict e di De Lorenzo,

determinando il coefficiente di correlazione e elaborando la retta di regressione tra il metabolismo basale misurato e quello stimato con le formule di predizione.

CAPITOLO 4

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

4.1 DISCUSSIONE

Nei due campioni studiati: 64 femmine e 51 maschi, facendo un'analisi dei dati mediante correlazione secondo Pearson, è stata osservata una forte correlazione tra consumo di ossigeno e quantità di massa magra (LBM) ($r=0.929$; $p<0.01$ per i maschi; $r=0.897$; $p<0.01$ per le femmine) (Tab. 4.2 e 4.3). Il consumo di ossigeno per Kg di massa magra è risultato essere pari a $4,52\pm 0,29$ ml/min per i maschi e $5,27\pm 0,37$ ml/min per le femmine (Tab. 4.1).

| | MASCHI (n=51) Media \pm SD | FEMMINE (n=64) Media \pm SD |
|---------------------------|--|---|
| VO ₂ (ml/min) | 264,7 \pm 45,0 | 205 \pm 30,0 |
| VCO ₂ (ml/min) | 226,7 \pm 43,9 | 172 \pm 29,1 |
| QR | 0,86 \pm 0,08 | 0,84 \pm 0,07 |
| VO ₂ /Kg(LBM) | 4,52 \pm 0,29 | 5,27 \pm 0,37 |
| RMR _W (Kcal) | 1860,2 \pm 311,9 | 1438,3 \pm 210,6 |
| RMR _{HB} (Kcal) | 1959,5 \pm 287,7 | 1480,1 \pm 150,3 |
| RMR _{DL} (Kcal) | 1956,7 \pm 265,2 | 1498,2 \pm 176,9 |
| RMR _{NF} (Kcal) | 1856,7 \pm 287,3 | 1448,5 \pm 219,0 |
| W-NF (Kcal) | 3,5 \pm 119,81 | 10,1 \pm 95,7 |
| W-HB (Kcal) | 99,3 \pm 151,6 | 41,8 \pm 102,7 |
| W-DL (Kcal) | 96,5 \pm 148,7 | 59,9 \pm 94,5 |

Tabella 4.1: Dati metabolici

Legenda tabella 2: VO₂ = consumo d'ossigeno; VCO₂ = produzione di anidride carbonica; QR = quoziente respiratorio; VO₂/Kg(LBM) = consumo d'ossigeno per Kg di LBM; RMR_W = resting metabolic rate con la formula di Weir; RMR_{HB} = resting metabolic rate con la formula di Harris-Benedict; RMR_{DL} = resting metabolic rate con la formula di De Lorenzo; RMR_{NF} = resting metabolic rate con la nuova formula; W-NF = differenza media tra RMR misurato e RMR stimato con la nuova formula; W-NF = differenza media tra RMR misurato e RMR stimato con la formula di Harris-Benedict; W-DL= differenza media tra RMR misurato e RMR stimato con la formula di De Lorenzo.

| | MASCHI | LBM | VO2 ml/min |
|-----------|---|----------------------|----------------------|
| LBM | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | 1 , 51 | ,929** ,000 51 |
| VO2ml/min | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | ,929** ,000 51 | 1 , 51 |

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.2: correlazione tra LBM e consumo di ossigeno (maschi)

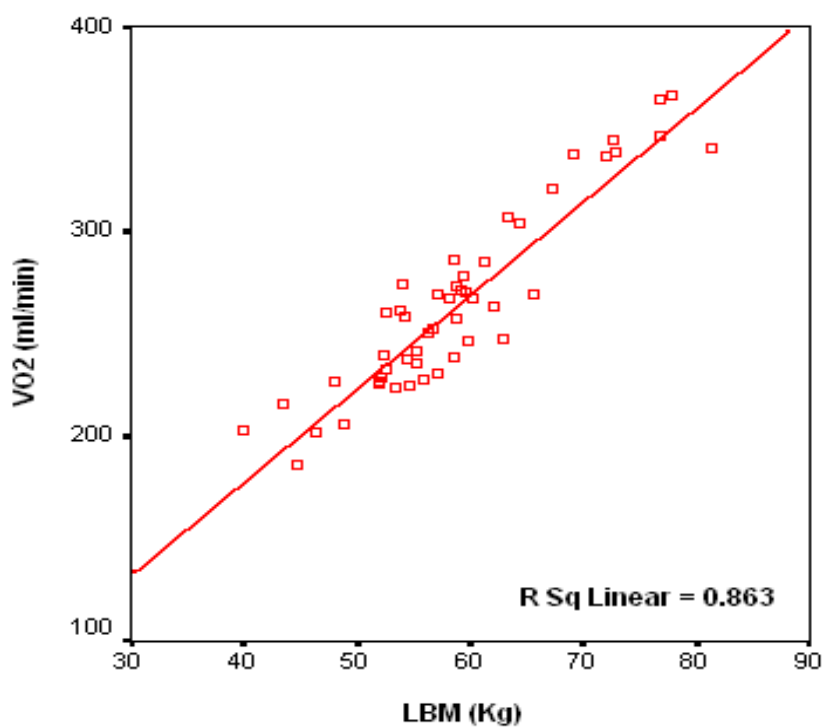


Grafico 4.1: Regressione Lineare tra consumo di ossigeno e LBM (maschi)

| FEMMINE | | LBM | VO2 ml/min |
|-----------|---|----------------------|----------------------|
| LBM | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | 1 , 64 | ,897** ,000 64 |
| VO2ml/min | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | ,897** ,000 64 | 1 , 64 |

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.3: correlazione tra LBM e consumo di ossigeno (femmine)

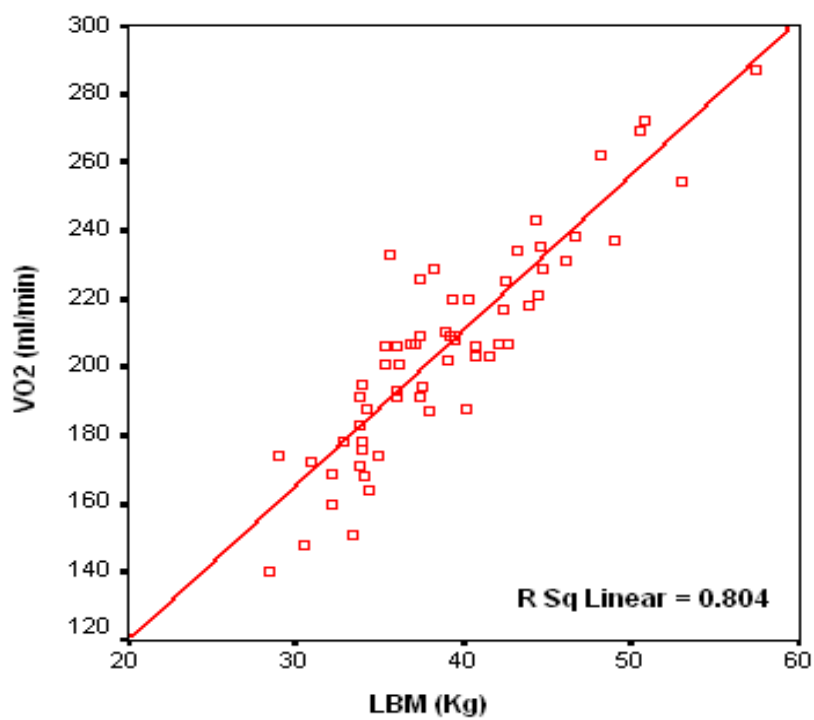


Grafico 4.2: Regressione lineare tra consumo di ossigeno e LBM (femmine)

| | MASCHI | PESO | VO2 ml/min |
|-----------|---|----------------------|----------------------|
| PESO | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | 1 , 51 | ,815** ,000 51 |
| VO2ml/min | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | ,815** ,000 51 | 1 , 51 |

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.4: correlazione tra peso corporeo e consumo di ossigeno (maschi)

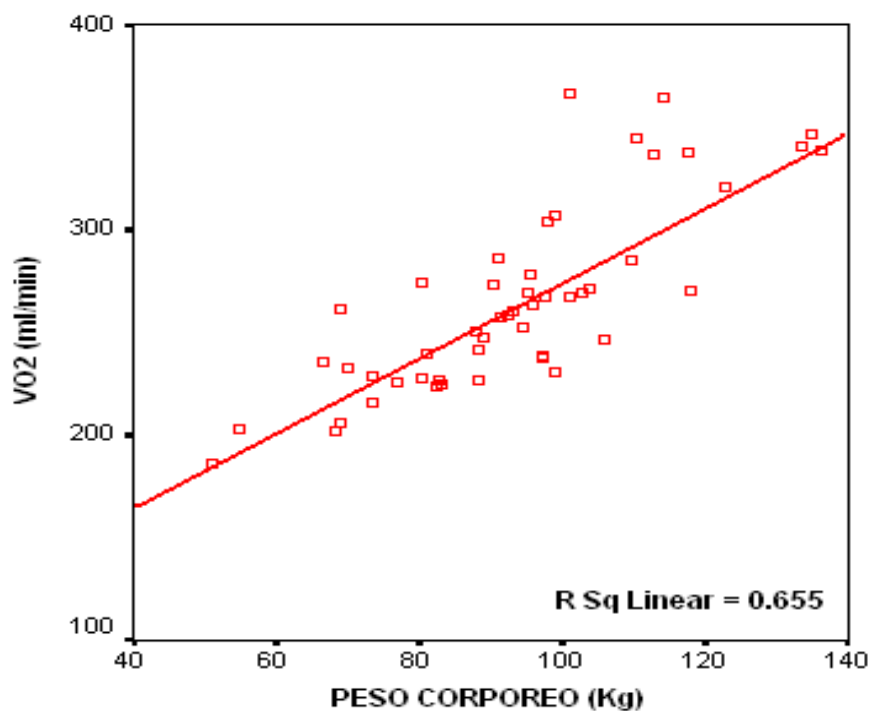


Grafico 4.3: Regressione lineare tra consumo di ossigeno e peso corporeo (maschi)

| FEMMINE | | PESO | VO2 ml/min |
|-----------|---|----------------------|----------------------|
| PESO | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | 1 , 64 | ,803** ,000 64 |
| VO2ml/min | Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N | ,803** ,000 64 | 1 , 64 |

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.5: correlazione tra peso corporeo e consumo di ossigeno (femmine)

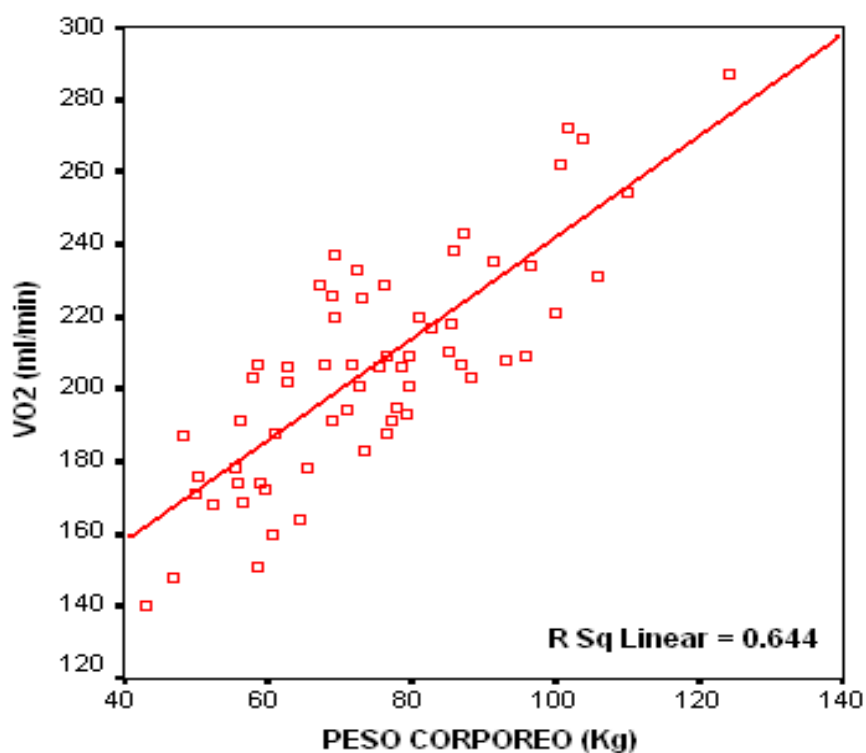


Grafico 4.4: Regressione lineare tra consumo di ossigeno e peso corporeo (femmine)

Si è osservata una correlazione meno forte, invece, tra consumo d'ossigeno e peso corporeo sia nei maschi che nelle femmine ($r=0,815$, $p<0.01$ per i maschi; $r=0.803$, $p<0.01$ per le femmine) (Tab. 4.4, 4.5). Quanto fin'ora esposto indica che consumo d'ossigeno e massa magra si possono ritenere assolutamente sovrapponibili. Tale osservazione ha reso possibile l'elaborazione di una nuova formula di predizione del RMR, prendendo come modello la formula di Weir (Weir JB. 1949), nella quale il consumo di ossigeno è stato sostituito con il prodotto (Kg di LBM*5,27) nelle femmine e (Kg di LBM*4,52) nei maschi. Il quoziente respiratorio ($QR=VCO_2/VO_2$), in media pari a $0,86\pm 0,08$ nei maschi e $0,84\pm 0,07$ nelle femmine (tab. 4.1), decisamente poco variabile avendo, in entrambi i campioni, una deviazione standard estremamente bassa, ha consentito la stima dell'anidride carbonica prodotta. La nuova formula di predizione del RMR è risultata, quindi, la seguente:

FEMMINE: $\{[3,941 \times (5,27 \times LBM)] + [1,106 \times (5,27 \times LBM) \times 0,84]\} \times 1,44$

MASCHI: $\{[3,941 \times (4,52 \times LBM)] + [1,106 \times (4,52 \times LBM) \times 0,86]\} \times 1,44$

Il passo successivo è consistito nel verificare la bontà di questa nuova formula attraverso il confronto sia con il RMR misurato con calorimetria indiretta che stimato mediante la formula di Harris-Benedict e di De Lorenzo.

Nelle 64 femmine e nei 51 maschi studiati, il metabolismo basale (RMR), misurato mediante Metabolimetro Sormedics 2900, è risultato essere pari a $1860,2 \pm 311,9$ Kcal per i maschi e $1438,3 \pm 210,6$ Kcal per le femmine; la stima del RMR con la nuova formula di predizione è risultata essere pari $1856,7 \pm 287,3$ Kcal per gli uomini e $1448,5 \pm 219,0$ Kcal per le femmine, con una differenza media, rispetto al misurato, pari a $3,5 \pm 119,81$ Kcal per i maschi e a $10,1 \pm 95,7$ per le femmine; la stima ottenuta mediante la formula di Harris-Benedict è risultata essere pari a $1959,5 \pm 287,7$ Kcal per i maschi e $1480,1 \pm 150,3$ Kcal per le femmine, con una differenza media, rispetto al misurato, pari a $99,3 \pm 151,6$ Kcal per i maschi e a $41,8 \pm 102,7$ per le femmine; la stima ottenuta mediante la formula di De Lorenzo è risultata essere pari a $1956,7 \pm 265,2$ Kcal per i maschi e $1498,2 \pm 176,9$ Kcal per le femmine, con una differenza media, rispetto al misurato, pari a $96,5 \pm 148,7$ Kcal per i maschi e a $59,9 \pm 94,5$ per le femmine (tab 4.1).

Dall'analisi dei dati, utilizzando il metodo di correlazione secondo Pearson, si evince che il metabolismo basale è correlato alla stima ottenuta sia mediante la nuova formula elaborata ($r=0.923$; $p<0.01$ maschi; $r=0.901$; $p<0.01$ femmine) che mediante la formula di Harris-Benedict ($r=0.875$; $p<0.01$ maschi; $r=0.891$; $p<0.01$ femmine) e la formula di De Lorenzo ($r=0.879$; $p<0.01$ maschi; $r=0.895$; $p<0.01$ femmine) (Tab. 4.6 e 4.7). Osservando i risultati con attenzione, si nota

come il RMR sia maggiormente correlato con la stima ottenuta utilizzando la nuova formula elaborata; tale osservazione si può facilmente intuire, dal momento che le formule di Harris-Benedict e di De Lorenzo prendono in considerazione il peso corporeo, debolmente correlato con il consumo di ossigeno.

| | | RMR | NF | HB | DL |
|-----|---------------------|--------|--------|---------|---------|
| RMR | Pearson Correlation | 1 | ,923** | ,875** | ,879** |
| | Sig. (2-tailed) | , | ,000 | ,000 | ,000 |
| | N | 51 | 51 | 51 | 51 |
| NF | Pearson Correlation | ,923** | 1 | ,845** | ,853** |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | , | ,000 | ,000 |
| | N | 51 | 51 | 51 | 51 |
| HB | Pearson Correlation | ,875** | ,845** | 1 | 1,000** |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | ,000 | , | ,000 |
| | N | 51 | 51 | 51 | 51 |
| DL | Pearson Correlation | ,879** | ,853** | 1,000** | 1 |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | ,000 | ,000 | , |
| | N | 51 | 51 | 51 | 51 |

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.6: correlazione tra RMR e la stima del RMR mediante la nuova formula di predizione (NF) e mediante le formule di Harris-Benedict (HB) e De Lorenzo (DL) (maschi)

| | | MB | NF | HB | DL |
|-----|---------------------|--------|--------|--------|--------|
| RMR | Pearson Correlation | 1 | ,901** | ,891** | ,895** |
| | Sig. (2-tailed) | , | ,000 | ,000 | ,000 |
| | N | 64 | 64 | 64 | 64 |
| NF | Pearson Correlation | ,901** | 1 | ,848** | ,853** |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | , | ,000 | ,000 |
| | N | 64 | 64 | 64 | 64 |
| HB | Pearson Correlation | ,891** | ,848** | 1 | ,994** |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | ,000 | , | ,000 |
| | N | 64 | 64 | 64 | 64 |
| DL | Pearson Correlation | ,895** | ,853** | ,994** | 1 |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | ,000 | ,000 | , |
| | N | 64 | 64 | 64 | 64 |

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabella 4.7: correlazione tra RMR e la stima del RMR mediante la nuova formula di predizione (NF) e mediante le formule di Harris-Benedict (HB) e De Lorenzo (DL) (femmine)

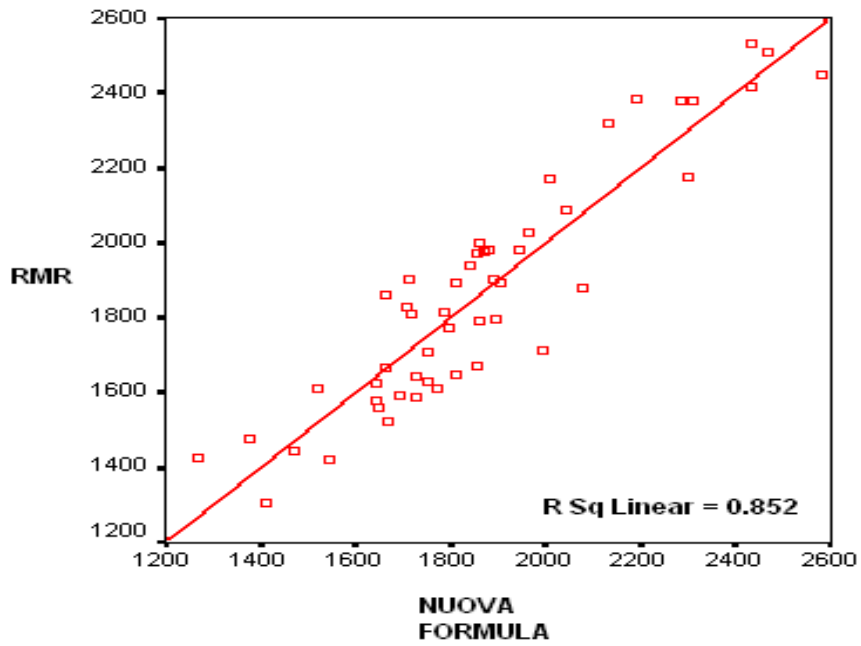


Grafico 4.5: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la nuova formula elaborata (maschi)

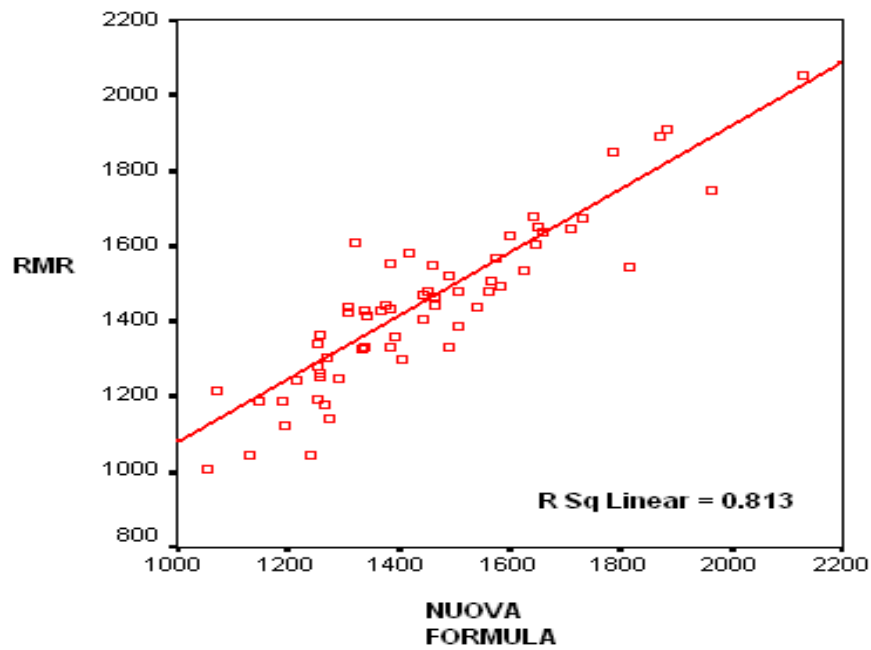


Grafico 4.6: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la nuova formula elaborata (femmine)

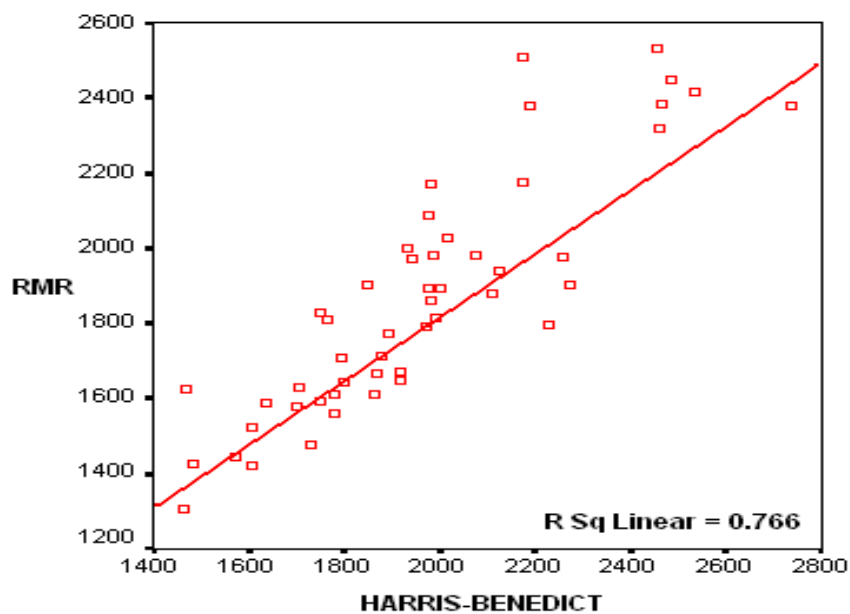


Grafico 4.7: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la formula di Harris-Benedict (maschi)

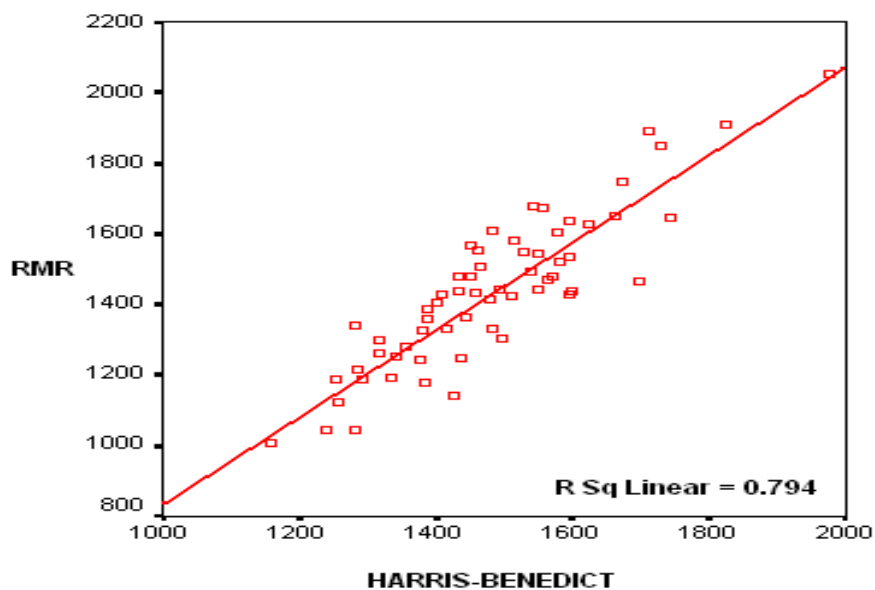


Grafico 4.8: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la formula di Harris-Benedict (femmine)

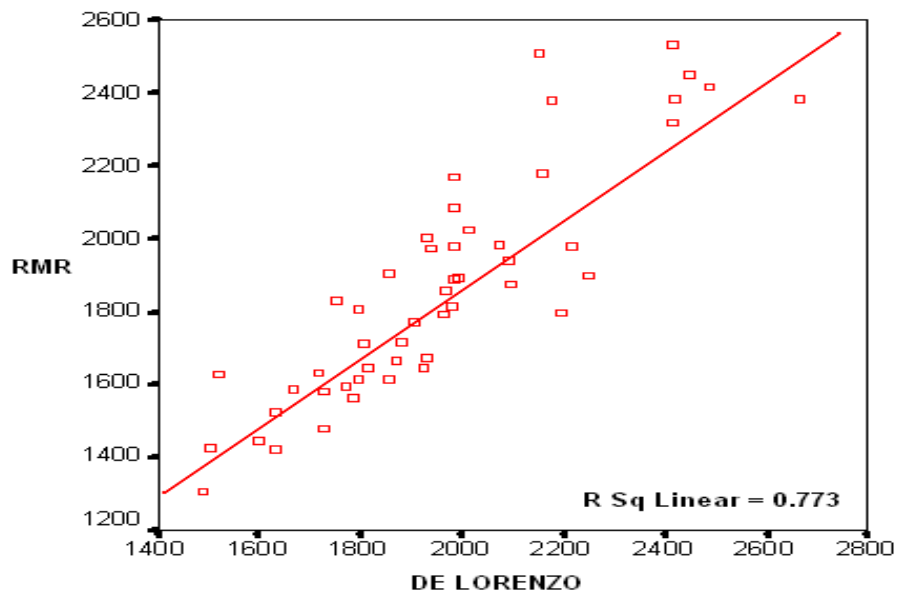


Grafico 4.9: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la formula di De Lorenzo (maschi)

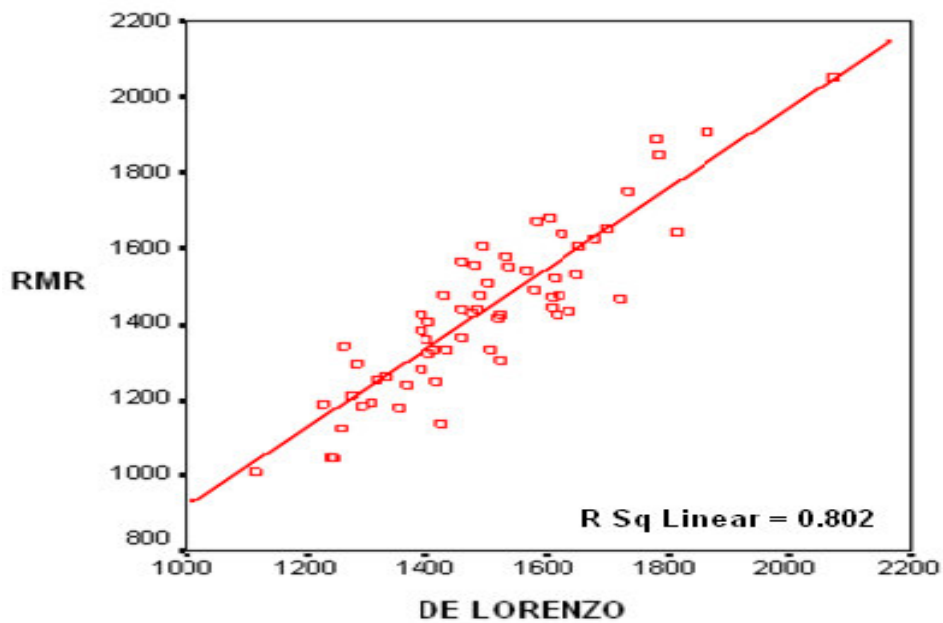


Grafico 4.10: Regressione lineare tra il metabolismo basale misurato e la stima ottenuta mediante la formula di De Lorenzo (femmine)

4.2 CONCLUSIONI

Le metodiche utilizzate per la misura del dispendio energetico e del metabolismo basale sono tutte, anche se in misura diversa, gravate dalla necessità di attenersi rigidamente a protocolli che comportano limitazioni sia per l'operatore che esegue l'esame (adibire locali a temperatura costante termo-neutrale, umidità standard, in assenza di stimolazioni visivo-uditive, ecc...) che per il soggetto che si sottopone allo stesso (digiuno da almeno 12 ore, sveglio da circa 30 min dopo un sonno "ristoratore" di almeno 8 ore, astensione dal fumo, impossibilità di praticare attività fisica nelle 24 ore precedenti la misura, dover soggiornare per 24 ore in ambiente isolato, ecc...). Da tutto ciò si evince che, in generale, si tratta di metodiche non certo caratterizzate da facilità di esecuzione e da costi contenuti; peraltro le misure ottenute, spesso, non corrispondono alla realtà per una non impeccabile condotta da parte del soggetto che, non attenendosi strettamente alle indicazioni raccomandate dall'operatore, causa notevoli alterazioni dei dati rilevati. Tali motivazioni hanno orientato, negli ultimi decenni, la ricerca verso studi volti a elaborare formule di predizione del metabolismo basale e del dispendio energetico sulla base di parametri facilmente rilevabili (quali i parametri antropometrici: peso, statura, BMI, circonferenze, ecc...).

Nel 1932, Kleiber dimostrò che i mammiferi in età matura, di differenti specie, dal ratto alla balena, che differiscono ampiamente in peso corporeo, hanno lo stesso metabolismo di base (in kcal/die), laddove il dispendio energetico di riposo si normalizzi, secondo un fattore di scala, per il peso corporeo elevato all'esponente 0.75. In condizioni fisiologiche, infatti, tutti i mammiferi, tra cui l'essere umano, presenta il 75% di massa magra (Lean Body Mass = LBM) e il 25% di grasso corporeo.

Tutto ciò ha suscitato curiosità e interesse verso questi argomenti e ci ha spinti a cercare un legame tra il dispendio energetico e la componente del corpo umano dove realmente avviene consumo di energia: la massa magra; questa viene misurata con elevata precisione, mediante densitometria a raggi x (DXA), esame breve e di facile esecuzione, poco invasivo (espone a una esigua quantità di raggi x: circa 1/300 rispetto a radiografia di routine al torace) e dai costi contenuti. Unica limitazione deve essere posta nelle donne in gravidanza o nelle quali questa è sospettata.

E' stato quindi comprovato un forte legame tra consumo di ossigeno e massa magra con valori diversi per maschi e femmine ma senza differenze dovute all'età. Questo indica che 1 Kg di massa magra consuma la stessa quantità di ossigeno e, quindi, di energia sia a 20 che a 70 anni.

Tali risultati, in parte, concordano con altri lavori scientifici che hanno dimostrato una forte correlazione tra LBM e dispendio energetico, prescindendo dall'età dei soggetti studiati.

Un dato sorprendente che si discosta dalla letteratura scientifica, riguarda il maggior consumo d'ossigeno per unità di LBM per le femmine rispetto ai maschi.

Fino a pochi anni fa, infatti, era concezione comune che i maschi avessero un dispendio energetico maggiore rispetto alle femmine; ciò in parte corrisponde a realtà se viene considerato il dispendio energetico come dato assoluto, avulso dalla composizione corporea; rapportando, invece, il dispendio energetico alla LBM si è concluso che non sussistono differenze tra i due sessi (Klausen et al., 1997; Webb, 1981; Murpy et al., 2004; Arciero et al., 1993; Kirkby et al., 2004).

I sorprendenti risultati, ottenuti in questo studio, possiamo ipotizzare siano dovute alle differenze genetiche tra le differenti popolazioni oggetto di studio e alle differenti metodiche utilizzate per lo studio della composizione corporea. I precedenti studi sopraccitati, infatti, sono stati condotti su popolazioni non appartenenti alla razza caucasica e la metodica utilizzata per la valutazione della composizione corporea e, quindi, della massa magra era la pesata idrostatica; ricordiamo, come già discusso nel paragrafo riguardante tale metodica, che essa risulta

maggiormente attendibile nelle popolazioni caucasiche e molto meno nelle altre.

A conclusione di questo lavoro è stata quindi elaborata una formula di predizione che, potendo prescindere dalla misura diretta del dispendio energetico, stima con elevata precisione il metabolismo basale, avendo a disposizione la quantità di massa magra misurata mediante DXA. L'applicazione di tale formula è scevra dall'errore commesso nel prendere in considerazione, nella determinazione del dispendio energetico, i soli parametri antropometrici (peso corporeo, statura) come avviene invece per formule quali, per esempio, quella di Harris-Benedict e di De Lorenzo, nonostante tutto, discretamente valide ma meno attendibili rispetto alla nuova formula elaborata.

BIBLIOGRAFIA

Altman DG, JM Band. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *The statistician* 32:307-317, 1983

Arciero PJ, Goran MI and Poehlman ET. Resting metabolic rate is lower in women than in men.
The American Physiological Society 0161-7567/93,1993.

Atanasov AT, Dimitrov BD: Changes of the power coefficient in the 'metabolism-mass' relationship in the evolutionary process of animals

Baumgartner RN, Chumlea WMC, Roche AF (1988). Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 48: 16.

Bartels H: Metabolic rate in mammals equals the 0.75 power of their body weight. *Exp Biol Med* 1982, 7:1-11.

Benedict FG. Basal metabolism data on normal men and women (series II) with some considerations on the use of prediction standards. *Am J Physiol*; 85: 607-620, 1928

Benke AR (1941). Physiologic studies pertaining to deep sea diving and aviation, especially in relation to the fat content and composition of the human body. *Harvey Lect* 37: 198-226.

Blum JJ: On the geometry of four-dimensions and the relationship between metabolism and body mass. *J Theoret Biol* 1977, 64:599-602.

Bock JL (1994). NMR in clinical chemistry: where do we stand? Clin Chem 40:1215-7.

Boddy K, King PC, Womersley J, Durnin JVGA (1973). Body potassium and fat free mass. Clin Sci 44:622-5.

Boileau RB, Horstman DH, Buskirk ER, Mendez J (1972). The usefulness of urinary creatinine excretion in estimating body composition. Med Sci Sports 4:85-90.

Borkan GA, Gerzof SG, Robbins AH, Hults DE, Silbert CK, Silbert JE (1982). Assessment of abdominal fat content by computed tomography. Am J Clin Nutr 36:172-177.

Borkan GA, Hults DE, Gerzof SG, Robbins AH (1985). Comparison of body composition in middle-aged and elderly males using computed tomography. Am J Phys Anthropol 66:289-295.

Bouchard C, Tremblay A, Després JP et al (1990). The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med 322:1477-82.

Brandi LS, M Freudiani, M Oleggini, E Ferranini. La calorimetria indiretta: teoria ed applicazioni. Rivista di nutrizione parenterale ed enterale. Wichtig Editore vol.5 no 1, 7-15, 1987

Brody, S. (1945) Bioenergetics and Growth, with Special Reference to the Efficiency Complex in Domestic Animals 1945 Reinhold New York.

Brody S, Procter RC, Ashworth US: Basal metabolism, endogenous nitrogen, creatinine and neutral sulfur excretion as functions of body weight.

Brozek J, Grande F, Anderson JT, Keys A (1963). Densitometric analysis of body composition: revision of some quantitative assumptions. *Ann Ny Acad Sci* 110:113-40.

Buskirk ER (1961). Underwater weighing and body density: a review of procedures. In: Brozek J, Henschel A, eds. *Techniques for measuring body composition*. Washington, DC: National Academy of Sciences - National Resource Council, pp. 90-107.

Calder, W. A., III (1984) *Size, Function, and Life History* 1984. Dover Publications New York. .

Calloway DH, Margen S (1971). Variation in endogenous nitrogen excretion and dietary nitrogen utilization as determinants of human protein requirements. *J Nutr* 101:205-16.

Chumlea WC, Roche AF, Guo S, Woynarowska B (1987). The influence of physiological variables and oral contraceptives on bioelectrical impedance. *Hum Biol* 59:257-269.

Clark HD; LS Hoffer. Reappraisal of the resting metabolic rate of normal young men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53 (1): 21-26, 1991

Clarys JP, Martin AD, Drinkwater DT (1984). Gross tissue weights in the human body by cadaver dissection. *Hwn Biol*56:459-473.

Consensus Conference Italiana: Sovrappeso, Obesità e Salute (1991). *Rec Prog Med* 82(7-8):416-435.

Conway JM, Norris KH, Bodwell CE (1984). A new approach for the estimation of body composition: infra-red interactance. *Am J Clin Nutr* 40: 1123-1130

Couture, P. & Hulbert, A. J. (1995). Relationship between body mass, tissue metabolic rate, and sodium pump activity in mammalian liver and kidney. *Am. J. Physiol.* 37:R641-R650

Cunningham JJ (1980). A reanalysis of the factors influencing basal metabolic rate in normal adults. *Am J Clin Nutr* 33:2372-4.

Daly JM, SB Heymsfield, CA Head. Human energy requirements: overestimation by widely used prediction equation. *Am J Clin Nutr*; 42:1170-4, 1985

Davies, M. (1961) On body size and tissue respiration. *J. Cellular Compar. Physiol.* 57:135-147.

De Lorenzo A. Lezioni di fisiologia della nutrizione; Perciballi Editore,1997

De Lorenzo A, Barra PFA, Sasso GF, Battistini NC, Deurenberg P (1991). Body impedance measurements during dialysis. *Eur J Clin Nutr* 45:321-5.

De Lorenzo A, Deurenberg P, Andreoli A, Sasso GF, Palestini M, Docimo R (1994). Multifrequency impedance in the assessment of body water losses during dialysis. *Renal Physiology* 17:326-332.

De Lorenzo A, Sasso GF, Andreoli A, Sorge R, Candeloro N and Cairella M (1995a). Improved prediction formula for total body water assessment in obese women. *Int J Obes* 19:535-538.

De Lorenzo A, Candeloro N, Andreoli A and Deurenberg P (1995b). Determination of intra-cellular water by multi-frequency bioelectrical impedance. *Ano Nutr Metab* 39:177-184.

De Lorenzo A, Candeloro N, Docimo R, Andreoli A, Bollea MR, Deurenberg P (1996). Comparison of the body composition of age-matched Italian, Ukrainian, and Dutch children. *Ano Nutr Metab* 40: 123-128.

De Lorenzo A, Andreoli A, Candeloro N (1997a). Within-subject variability in body composition using dual energy x-ray absorptiometry. *Clio Physiol* 17(4):383-388.

De Lorenzo A, Andreoli A, Matthie J, Withers P (1997). Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review. *J Appl Physiol* 82(5): 1542-58.

De Lorenzo A, Sorge RP, Iacopino L, Andreoli A, Petrone De Luca P, Sasso GF (1998). Fat-free mass by bioelectrical impedance vs dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). *Appl Radiat Isot* 49:739-41.

De Lorenzo A, A Andreoli, S Bertoli, G Testolin, G Orinani, P Deurenberg, Resting metabolic rate in Italians: Relation with body composition and anthropometric parameters. *Acta Diabetol*, 37 (2):77-81, 2000

De Lorenzo A, Tagliabue A, Andreoli A, Testolin G, Comelli M, Deurenberg P. Measured and predicted Resting Metabolic Rate in Italian males and females, aged 18-59 y. *Eur J Clin Nutr*. 2001 Mar;55(3):208-14.

Després JP, Mooriani S, Lupien PJ, et al (1992). Genetic aspects of susceptibility to obesity and related dyslipidemias. *Mol Cell Biochem* 113: 151-69.

Dodds PS, Rothman DH, Weitz JS: Re-examination of the '3/4-law' of metabolism. *J Theoret Biol* 2001, 209:9-27

Dreyer O, Puzio R: Allometric scaling in animals and plants. *J Math Biol* 2001, 43:144-156

Donahoo WT, JA Levine, EL Melanson. Variability in energy expenditure and its components. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. Nov;7(6):599-605, 2004

Elia M (1992). Organ and tissue contribution to metabolic rate. In: Energy Metabolism: Tissue Determinants and Cellular Corollaries. Kinney JM, Tucker HN eds.. New York: Raven Press, pp. 61-77.

Elia, M. (1992). Organ and tissue contribution to metabolic rate. Kinney, J. M. Tucker, H. N. eds. Energy Metabolism: Tissue Determinants and Cellular Corollaries 1992:19-60 Raven New York. .

Fanelli MT, Kuczmarsky RJ (1984). Ultrasound as an approach to assessing body composition. Am J Clin Nutr 39:703-9. Forbes GB (1974). Stature and lean body mass Am J Clin Nutr 27:595-602.

FAO/WHO/UNU (1985). Energy and protein requirements. Geneva: World Health Organization, (Technical Report series 724).

Feldman HA, McMahon TA: The 3/4 mass exponent for energy metabolism is not a statistical artifact:. Respir Physiol 1983, 52:149-163

Forbes GB, Gallup J, Horst JB (1961). Estimation of total body fat from potassium 40 content. Science 133: IO 1-2.

Forbes GB & Bruining GJ (1976). Urinary creatinine excretion and lean body mass Am J Clin Nutr 29: 1359-66. Forbes GB (1987). Human body composition. New York: Springer Verlag.

Fuller MF, Fowler PA, McNeill G, Foster MA (1990). Body composition: the precision and accuracy of new methods and their suitability for longitudinal studies. Proc Nutr Soc 49:423-436.

Fuller NJ, Jebb SA, Laskey MA, Coward W A, Elia M. Four-component model for the assessment of body composition in humans: comparison with alternative methods, and evaluation of the density and hydration of fat - free mass. Clin Sci 1992;82:687-93.

Genant HK, Faulkner KG, Gluer CC, et al. (1991). Measurement of bone mineral density: current status. Am J Med 9:49S-53S.

Gillooly JF, Brown JH, West GB, Savage VM, Charnov EL: Effects of size and temperature on metabolic rate. Science 2001, 293:2248-2251

Grafe, E. (1925) Problems der Gewebsatmung. Deutsch Med. Wochenschr. 51:640-642.

Granato L, A Brandes, C Bruni, AV Greco, G Mingrone. VO_2 , VCO_2 and RQ in a respiratory chamber: Accurate estimation based on a new mathematical model using the Kalman-Bucy method. J Appl Physiol, 96: 1045-1054, 2004

Greenberg, J. A. (1999) Organ metabolic rates and aging: two hypotheses. Med. Hypotheses 52:15-22.

Hall, C. W. (1999) Laws and Models: Science, Engineering, and Technology 1999 CRC Press New York. .

Halliday D, Miller AG (1977). Precise measurement of total body water using trace quantities of deuterium oxide. Biomed Mass Spectrom 4:82-7.

Heath BH & Carter JEL (1967). A modified somatotype method. *Am J Phys Anthropol* 27:57-74.

Enquist BJ, Niklas KJ: Invariant scaling relationships across tree-dominated communities. *Nature* 2001, 410:655-660

Heymsfield SB, Olafson RP, Kutner MH, Nixon DW (1979). A radiographic method of quantifying protein-calorie undernutrition. *Am J Clin Nutr* 32:693-702.

Heymsfield SB, MeManus C, Stevens V, Smith J (1982a). Muscle mass: reliable indicators of protein-energy malnutrition severity and outcome. *Am J Clin Nutr* 35: 1192-9.

Heymsfield SB, MeManus C, Smith J, Stevens V, Nixon DW (1982b). Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area. *Am J Clin Nutr* 36:680-90.

Heymsfield SB, Arteaga C, MeManus C, Smith J, Moffitt S (1983). Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 37:478-494.

Heymsfield SB & Matthews D (1994). *Body composition: research and clinical advances* - 1993. *JPEN* 18:91-103.

Heymsfield SB, Wang J, Kehayias JJ, Heshka S, Liehtman S, Pierson RN (1989). Chemical determination of human body density in vivo: relevance to hydrodensitometry. *Am J Clin Nutr* 40: 1282-9.

Heymsfield SB & Waki M (1991). Body composition in humans: advances in the development of multicompartiment chemical models. *Nutr Rev* 49(4):97-108.

Hayssen V, Lacy RC: Basal metabolic rates in mammals: taxonomic differences in the allometry of BMR and body mass. *Comp Biochem Physiol* 1985, 81A:741-754.

Heusner AA: Energy metabolism and body size. I. Is the 0.75 mass exponent of Kleiber's equation a statistical artefact? *Respir Physiol* 1982, 48:1-12.

Holliday, M. A., Potter, D., Jarrah, A. & Bearg, S. (1967) The relation of metabolic rate to body weight and organ size. *Pediatr. Res.*1:185-195

Houmard JA, Smith R, Jendrasiak GL (1995). Relationship between MRI relaxation time and muscle fibre composition. *J Appl Physiol* 78:807-9.

Hulbert, A. J. & Else, P. L. (2000) Mechanisms underlying the cost of living in animals. *Ann. Rev. Physiol.* 62:207-235.

Illner K, G Brinkmann, M Heller, A Bosy-Westphal, MJ Muller. Metabolically active components of fat free mass and resting energy expenditure in non obese adults. *Am J Physiol Endocrinol Metabol* Feb; 278 (2): E306-315, 2000

Jakicik J.M., RR Wing, BA Butler and RJ Robertson. Relationship of physical activity to eating behaviours and weight loss in women. *Med. Sci. Sports Exerc.* 34:1653-1659, 2002

Jenin P, Lenoir J, Rouillet C, Thomasset A, Duerot H (1975). Determination of body fluids compartments by electrical impedance measurements. *Aviation Space Environ Med* 46: 152-5.

Johnson CC, Siemenda CW, Melton LJ (1991). Clinical use of bone densitometry. *N Engl J Med* 324:1105-9.

Keys A, Brozek J (1953). Body fat in adult man; *Physiol Rev* 33:245-325.

Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL (1972). Indices of relative weight and obesity. *J Chron Dis* 25:329-43.

Katch VL, Katch FI, Moffatt R, and Gittleson M (1980). Muscular development and lean body weight in body builders and weight lifters. *Med Sci Sports Exerc* 12:340-4.

Khaled MA, Me Cuteheon MJ, Reddy S, Pearman PL, Hunter GR, Weinsier RL (1988). Electrical impedance in assessing human body composition: the BIA method. *Am J Clin Nutr* 47:789-792.

Kinney JM. The application of indirect calorimetry to clinical studies. In Kinney JM. Assessment of energy metabolism in health and disease. Report of the First Ross Conference on Medical Research. Columbus, OH: Ross Laboratories, 42-48, 1980

Kirkby J, Metcalf BS, Jeffery AN, O’Riordan CF, Perkins J, Voss LD and Wilkin TJ. Sex differences in resting energy expenditure and their relation to insulin resistance in children (EarlyBird 13). *Am J Clin Nutr* 2004; 80:430-5.

Klausen B, Toubro S, Astrup A. Age and sex effects on energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:895-907.

Kleiber, M. (1932) Body size and metabolism. *Hilgardia* 6:315-353.

Kleiber, M. (1941) Body size and metabolism of liver slices in vitro. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 48:419-423

Kleiber, M

The Fire of Life: An Introduction to Animal Energetics 1961 Wiley New York.

Koteja P: On the relation between basal and maximum metabolic rate in mammals. *Comp Biochem Physiol* 1987, 87:205-208.

Krebs, H. A. (1950) Body size and tissue respiration. *Biochim. Biophys. Acta* 4:249-269.

Kusbner RF & Schoeller DA (1986). Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am J Clin Nutr* 44:417.

Leenders JM, M Sherman, A Nagaraja, C Kien. Evaluation of methods to assess physical activity in free-living conditions. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33 (7): 1233-1240, 2001

Linde, B., Hjemdahl, P., Freyschuss, U. & Juhlin-Dunfelt, A. (1989) Adipose tissue and skeletal muscle blood flow during mental stress. *Am. J. Physiol.* 256:E12-E18.

Lohman TG (1981). Skinfolds and body density and their relation to body fatness. A review. *Hum Biol*53:181-225.

Lohman TG (1986). Applicability of body composition techniques and constants for children and youths. *Exerc Sport Sci Rev* 14:325-57.

Lukasky HC & Johnson PE (1985). A simple, inexpensive method of determining total body water using a tracer dose of D₂O and infrared absorption of biological fluids. *Am J Clin Nutr* 41:363-370.

Lukaski HC, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI (1985). Assessment of fat free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 41:810.

Lukaski HC, Mendez J (1980). Relationship between fat-free weight and urinary 3-MH excretion in man. *Metabolism* 29:758-61.

Lykken GI, Jacob RA, Munoz JM, Sandstead HH(1980). A mathematical model of creatine metabolism in normal males-comparison between theory and experiment. *Am J Clin Nutr* 33:2674-85.

Mackie A, Hannan WJ, Tothill P (1989). An introduction to body composition models used in nutritional studies. *Clin Phys Physiol Meas* 10(4):297-310.

Mallard JR (1986). Nuclear magnetic resonance imaging in medicine: medical and biological applications and problems. *Proc R Soc Lond (Biol)* 226:391-419.

Martin AD, Ross WD, Drinkwater DT, Clarys JP (1985). Prediction of body fat by skinfold calliper: assumptions and cadaver evidence. *Int J Obesity* 9:31-9.

Martin AD, Drinkwater DT (1991). Variability in the measures of body fat. Assumptions or techniques? *Sports Medicine* 11(5):277-288.

Martorell R, Mendoza F, Mueller WH, Pawson IG (1988). Which side to measure: right or left? in *Anthropometric Standardization Reference Manual* (eds Lohman TG, Roche AF, Martorell R), Human Kinetics Books, Champaign (Illinois), pp. 87-91.

Mazess RB, Barden HS, Bisek JP, Hanson J (1990). Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr* 51: 1106-12.

McCully, K. K. & Posner, J. D. (1995) The application of blood flow measurements to the study of aging muscle. *J. Gerontol.* 50:130-136.

McNab BK: Complications inherent in scaling the basal rate of metabolism in mammals. *Quart Rev Biol* 1988, 63:25-54

Mendez J, Lukaski HC, Buskirk ER (1984). Fat free mass as a function of max O₂ consumption and 24-hour urinary creatinine, and 3-methylhistidine excretion. *Am J Clin Nutr* 39:710-715.

Metropolitan Life Insurance Co (1959). New weight standard for men and women. *Statistical Bulletin* 40: 1-4.

Metropolitan Life Insurance Co (1983). 1983 Metropolitan height and weight tables. *Statistical Bulletin* 64:2-9.

Mifflin MD, St Jeor, LA Hill, BJ Scott, SA Daugherty, YO Kho. A new predictive equation for resting energy expenditure in healthy individuals. *Am J Clin Nutr* Feb; 51 (2): 241-247, 1990

Morgan DB & Burkinshaw L (1983). Estimation of non fat body tissues from measurements of skinfolds thickness, total body potassium and total body nitrogen. *Clin Sci* 65:407-414.

Moulton CR (1923). Age and chemical development in mammals. *J Biol Chem* 57:79-97.

Murphy MJ, Metcalf BS, Voss LD, Jeffery AN, Kirkby J, Mallam KM, Wilkin TJ. Girls at Five Are Intrinsically More Insulin Resistant Than Boys: The Programming Hypotheses Revisited-The EarlyBird Study. *Pediatrics* 2004; 113; 82-86.

Nevill AM: The need to scale for differences in body size and mass: an explanation of Kleiber's 0.75 mass exponent. *J Appl Physiol* 1994, 77:2870-2873

Nielsen WC, Krzywicki HJ, Johnson HL, Consolazio CF (1971). Use and evaluation of gas chromatography for determination of deuterium in body fluids. *J Appl Physiol* 31:957-61.

Osborn BJ, AK Saba, SJ Wood, GD Nyswonger, CW Hansen. Clinical comparison of three methods to determine resting energy expenditure. *Nutrition in Clinical Practice*, 9 (6): 241-246, 1994

Owen OE, E Kavle, RS Owen. A reappraisal of the caloric requirements of men. *Am J Clin Nutr*; 46: 875-85, 1987

Owen OE, E Kavle, RS Owen. A reappraisal of the caloric requirements of women. *Am J Clin Nutr*; 44: 1-19, 1986

Owen OE, Kanle E, Owen RS, Polansky M, Caprio S, Mozzoli MA, Kendrick ZV, Bushman MC, Boden G (1986). A reappraisal of caloric requirements in healthy women. *Am J Clin Nutr* 44:1-19..

Pace N, Rathbun EN (1945). Studies on body composition. In *The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content*. *J Biol Chem* 158:685-91.

Peppler WW, Mazess RB (1981). Total body bone mineral and lean body mass by dual-photon absorptiometry. *Calcif Tissue Int* 33:353-368.

Pierson RN Jr, Wang J, Thornton JC, Van Itallie TB, and Colf EWD (1984). Body potassium by four-pi 40K counting: an anthropometric correction. *Am J Physiol* 246:F234-F239.

Poehlman ET, Tremblay A, Després JP (1986). Genotype-controlled changes in body composition and fat morphology following overfeeding in twins. *Am J Clin Nutr* 43 :723-31.

Presta E, Segai KR, Gutin B, Harrison GG, Van Itallie TB (1983). Comparison in man of total body electrical conductivity and lean body mass derived from body density: validation of a new

Pronk NP, RR Wing. Physical activity and long-term maintenance of weight loss. *Obes. Res.* 2:587-599, 1994

Randall, D., W. Burggren, and K. French. 1997. Eckert animal physiology: mechanisms and adaptations. 4th Ed. New York: W.H. Freeman.

Ravussin E & Bogardus C (1989). Relationship of genetics, age and physical fitness to daily energy expenditure and fuel utilization. *Am J Clin Nutr* 49:968- 75.

Rennie MJ & Millward DJ (1983). 3-methylhistidine excretion and the urinary 3-methylhistidine/creatinine ratio are poor indicators of skeletal muscle protein breakdown. *Clin Sci* 65:217-25.

Reutlinger S and Alderman H (1980). The prevalence of calorie deficient diets in developing countries. *World Dev* 8:239-411.

Roos AN, Westendorp RGJ, Frolich M, Meinders AE (1992). Tetrapolar body impedance is influenced by body posture and plasma sodium concentration. *Eur J Clin Nutr* 46:53-60.

Roza AM, HM Shizgal. The Harris-Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass. *Am J Clin Nutr* Jul; 40 (1): 168-82, 1984

Schmidt-Nielsen, K. (1984) *Scaling: Why Is Animal Size so Important?* 1984 Cambridge University Press Cambridge, MA. .

Schutte JE, Longhurst JC, Gaffney FA, Bastian BC, Blomquist CG (1981). Total plasma creatinine: an accurate measure of total striated muscle mass. *J Appl Physiol* 51:762-6.

Segai KR, Gutin B, Presta E, Wang J, Van Itallie TB (1985). Estimation of human body composition by electrical impedance methods: a comparative study. *J Appl Physiol* 58: 1565.

Sheng HP, Huggins RA (1979). A review of body composition studies with emphasis on total body water and fat. *Am J Clin Nutr* 32:630-47.

Siri WB (1956). The gross composition of the body. In: Tobias CA, Lawrence JH eds. *Advances in biological and medical physics*. Vol 4. New York: Academic Press, pp. 239-80.

Smil, V. (2000) Laying down the law: every living thing obeys the rules of scaling discovered by Max Kleiber. *Nature* 403:597.

Smith RJ: Allometric scaling in comparative biology: problems of concept and method. *Am J Physiol* 1984, 246:R152-R160

Spaargen DH: Metabolic rate and body size: a new view on the 'surface law' for basic metabolic rate. *Acta Biotheor* 1994, 42:263-269.

Speakman JR: On Blum's four-dimensional geometric explanation for the 0.75 exponent in metabolic allometry. *J Theoret Biol* 1990, 144:139-141.

Terroine, E. F. & Roche, J. (1925) La respiration des tissue. Production calorique des Homeothermes et intensite de la respiration in vitro des tissue homologues. Arch. Intern. Physiol. 24:356-399.

Tverskaya R, R Rising, D Brown, F Lifshitz. Comparison of several equations and derivation of a new equation for calculating basal metabolic rate in obese children. Journal of American College of Nutrition, 17 (4): 333-336, 1998

US Department of Health and Human Service. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. Atlanta: GA:U.S. Department of Health and Human services, Centres for Disease Control and Prevention, National Centre for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 81-172, 1996

Van der Ploeg GE, SM Gunn, RT Withers, AC Modra, JP Keeves, BE Chatterton. Predicting the resting metabolic rate of young Australian males. European Journal of clinical Nutrition, 55 (3): 145-152, 2001

Van Itallie TB (1985). Health implications of overweight and obesity in the United States. Ann Int Med 103:983-8.

Van Marken Lichtenbelt WD, MS Westerterp-Plantenga, P Van Haydonek. Individual variation in the relation between body temperature and energy expenditure in response to elevated ambient temperature. Physiologic Behavior, 73 (1-2): 235-242, 2001

Van Way CW. Variability of the Harris-Benedict equation in recently published textbooks. *Journal of Parenteral Enteral Nutrition*, 16 (6): 566-568, 1992

Wang ZM, Pierson Jr RN, Heymsfield SB (1992). The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr* 56: 19-28.

Wang Z, O'Connor T, Heshk S, Heymsfield SB. The reconstruction of Kleiber's law at the organ-tissue level. *J Nutr* 2001, 131:2967-2970

Webb P. Energy expenditure and fat-free mass in men and women. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 1816-26.

Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol.* 1949 Aug;109(1-2):1-9

Welk, G.J., J.A. Differding, R.W. Thompson, S.N. Blair, J. Dziura and P. Hart. The utility of the Digi-Walker step counter to assess daily physical activity patterns. *Med. Sci. sports exerc.* 32:S481-S488, 2000

West, GB, Brown, J. H. & Enquist, B. J. (1999) The fourth dimension of life: fractal geometry and allometric scaling of organisms. *Science* 284:1677-1679.

West GB, Brown JH, Enquist BJ: A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* 1997, 276:122-126

Westerterp-Plantenga MS. Fat intake and energy-balance effects. *Physiol Behav.* Dec 30;83(4):579-585. 2004

White CR, Seymour RS: Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass^{2/3}. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:4046-4049