

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

**Dottorato di ricerca in
Malattie Osteo-Metaboliche e Disordini dell'Equilibrio
Idro-Elettrolitico e Acido-Base
XXIII Ciclo**

**DIFFERENTI EFFETTI DELLA MASSA MAGRA E DELLA
MASSA GRASSA SUI FATTORI URINARI DI RISCHIO
LITOGENO E SULLA DENSITÀ MINERALE OSSEA:
STUDIO PILOTA SU DONNE SANE.**

**Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Paolo Sansoni**

**Tutor:
Chiar.mo Prof. Loris Borghi**

Dottorando: Dott. Antonio Nouvenne

*Non il possesso della conoscenza, della verità irrefutabile fa l'uomo di scienza,
ma la ricerca critica, persistente e inquieta, della verità*

Karl Popper, Logica della scoperta scientifica, 1934

INDICE

RIASSUNTO.....	4
INTRODUZIONE ALLA NEFROLITIASI ED AI FATTORI DI RISCHIO	
LITOGENO	6
SOVRASATURAZIONE.....	6
DEFICIT DI INIBIZIONE.....	8
STASI URINARIA, INFEZIONI E DANNO CELLULARE.....	8
METABOLISMO DEL CALCIO E DEL TESSUTO OSSEO.....	10
BONE MINERAL DENSITY, OSTEOPOROSI E CALCOLOSI.....	
MASSA CORPOREA E RISCHIO DI NEFROLITIASI.....	13
MASSA CORPOREA E RISCHIO DI NEFROLITIASI.....	14
DUAL ENERGY X-RAY ABSORBTIOMETRY.....	16
MASSA MAGRA, MASSA GRASSA, FATTORI URINARI DI RISCHIO	
LITOGENO E DENSITA' MINERALE OSSEA.....	17
SCOPO DELLA TESI.....	18
MATERIALI E METODI.....	18
RISULTATI.....	21
DISCUSSIONE.....	23
CONCLUSIONI.....	25
FIGURA e TABELLE.....	27
BIBLIOGRAFIA.....	34

RIASSUNTO

Introduzione

Il ruolo del peso corporeo del Body Mass Index (BMI) e della composizione corporea nel determinare il rischio litogeno e gli effetti sulla densità minerale ossea sono tuttora dibattuti. In particolare non è chiaro il singolo e distinto contributo di massa magra e massa grassa.

Scopo

Scopo della tesi è stato: 1) verificare se l'escrezione dei fattori urinari di rischio litogeno è influenzata dal peso in toto o dalla sua composizione in massa magra e massa grassa; 2) verificare se esiste una relazione con la densità minerale ossea; 3) valutare in quali distretti corporei la densità ossea è influenzata maggiormente dalla massa magra o dalla massa grassa.

Materiali e metodi

Sono state consecutivamente studiate 78 donne volontarie sane (età 46 ± 6 anni, range 31-59). Tutte le donne sono state sottoposte a raccolta delle urine delle 24 ore, studio della densità ossea e della composizione corporea mediante Dual-Energy X-ray absorptiometry (DEXA) e hanno compilato un diario alimentare di tre giorni. Sono stati definiti due indici matematici per evidenziare separatamente la massa magra (Index of Lean Mass-ILM) e la massa grassa (Index of Fat Mass-IFM). Tutti i dati urinari densitometrici e relativi ai diari alimentari sono stati analizzati dopo aver suddiviso le donne sulla base della mediana degli indici ILM e IFM.

Risultati

Le donne con ILM maggiore non si differenziavano per peso corporeo e BMI, ma mostravano massa magra e altezza significativamente maggiori (40 ± 4 vs 45 ± 5 Kg e 159 ± 6 vs 163 ± 5 cm, $p < 0.0001$), densità minerale ossea significativamente migliore a livello degli arti sia superiori che inferiori e delle coste; queste donne, pur in assenza di differenze nell'introito alimentare mostravano escrezioni superiori di creatinina, potassio, fosforo, magnesio, citrato, e ossalato. Le donne con IFM maggiore non si differenziavano per altezza ma mostravano significativamente superiori il BMI (23 ± 2 vs 28 ± 3 , < 0.0001), la massa totale del tronco (28 ± 4 vs 35 ± 6 Kg, $p < 0.0001$) e delle gambe (21 ± 3 vs 25 ± 3 Kg, $p < 0.0001$), nonché il grasso corporeo totale (17 ± 3 vs 27 ± 5 kg, $p < 0.0001$).

In queste donne la densità minerale ossea a livello pelvico, lombare e femorale era significativamente migliore, mentre non vi erano differenze nei valori urinari e dei diari alimentari.

Conclusioni

In donne sane, a parità di introito alimentare, la massa grassa sembra non influenzare l'escrezione urinaria dei fattori di rischio litogeno, maggiormente dipendenti dalla massa magra. La densità minerale ossea sembra influenzata dalla massa grassa mentre la massa magra parrebbe esercitare un ruolo positivo soprattutto a livello dello scheletro extrassiale.

INTRODUZIONE ALLA NEFROLITIASI ED AI FATTORI DI RISCHIO LITOGENO

Con il termine di nefrolitiasi si intende la presenza, a livello di reni e vie urinarie, di calcoli rappresentati da aggregati policristallini composti da una quantità variabile di cristalli e di matrice organica. I calcoli renali più comuni sono di ossalato di calcio, fosfato di calcio, acido urico e struvite (magnesio-ammonio-fosfato) (1)

I calcoli a livello dell'apparato renale si formano solitamente per la rottura di un delicato stato di equilibrio: i reni, infatti, devono da un lato risparmiare acqua e dall'altro eliminare sostanze scarsamente solubili, in un continuo adattamento a diverse situazioni dietetiche, climatiche e di attività fisica (2). Il rischio viene ridotto in parte dalla presenza nelle urine di alcune sostanze che inibiscono la cristallizzazione dei sali di calcio e di altre che legano il calcio in complessi solubili. Questi meccanismi non garantiscono sempre una protezione efficace; infatti, se le urine diventano sovrasature in composti insolubili, per una loro eccessiva eliminazione e/o per un risparmio massimale di acqua, con scarso volume urinario, si producono cristalli che possono crescere e aggregarsi fra loro fino a formare un calcolo. Tutti i fattori coinvolti nel microambiente urinario sono indicati come "fattori urinari di rischio litogeno". Si possono individuare diversi momenti patogenetici nel percorso di formazione dei calcoli delle vie urinarie, che possono agire da soli o congiuntamente:

1) Sovrasaturazione: è il meccanismo chimico-fisico che comporta il passaggio di alcuni composti urinari dalla fase di soluzione alla fase solida cristallina. Le cause di tale condizione sono fondamentalmente 3: 1) eccesso di calcio, fosforo, acido urico, ammonio, cistina; 2) variazioni del pH; 3) oliguria. Lo stato di saturazione urinaria per un determinato sale e quindi la determinazione della saturazione o

sovrasaturazione urinaria può essere esattamente misurato con il Prodotto di Attività (PA) di un sale, che dipende dalle concentrazioni dei suoi ioni in soluzione e da coefficienti di attività specifici. La valutazione di questo valore è effettuata attraverso complessi sistemi computerizzati che tengono conto di numerose variabili interferenti. Quando il PA è inferiore al prodotto di solubilità per un determinato sale l'urina è sottosatura (si parla così di "zona stabile") ed in essa non possono formarsi cristalli ex novo; anzi, se si immettono cristalli preformati di quel determinato sale, essi tenderanno a disciogliersi. Quando il PA è uguale al prodotto di solubilità si dice che l'urina è satura e quando il PA supera il prodotto di solubilità l'urina è sovrasatura per quel determinato sale tanto da provocare una spontanea formazione di cristalli e un'aggregazione degli stessi che portano così alla formazione del calcolo renale. Tra il prodotto di solubilità e il prodotto di formazione (al di sopra del quale avviene una precipitazione spontanea del sale con formazione ex novo di cristalli) vi è una fascia definita "zona metastabile" in cui non avviene spontaneamente la formazione di cristalli. Questa può essere indotta se si immettono cristalli preformati di quel determinato sale (nucleazione omogenea) o di un altro tipo di sale (nucleazione eterogenea), inoltre i cristalli preformati si accrescono (crescita cristallina). L'ampiezza di questa zona metastabile è influenzata dalla presenza di sostanze che si oppongono al fenomeno della cristallizzazione e della crescita cristallina (cosiddetti inibitori). Oltre che dalla concentrazione dei singoli sali il PA è influenzato dal pH del mezzo: l'alcalinizzazione delle urine riduce il PA dell'acido urico e della cistina per cui aumenta la solubilità di questi sali a parità di concentrazione ionica, al contrario, la stessa alcalinizzazione aumenta il PA della struvite e del fosfato di calcio

riducendone così la solubilità; il contrario accade in corso di acidificazione. Le variazioni del pH urinario invece influenzano poco il PA dell'ossalato di calcio (3).

2) Deficit d'inibizione: si tratta della condizione tale per cui le urine hanno una minor capacità di contrastare il meccanismo di cristallizzazione, crescita e aggregazione cristallina. Le cause associate sono il deficit di citrato, magnesio, pirofosfato, glicosaminoglicani, alterazioni di macromolecole come Tamm-Horsfall e nefrocalcina. Le urine del soggetto normale non calcolotico infatti contengono sostanze a basso peso molecolare (inibitori micromolecolari) quali citrato, magnesio, pirofosfato, zinco, fluoro, stagno e sostanze ad alto peso molecolare (inibitori macromolecolari) quali i glicosaminoglicani, DNA, RNA, proteina di Tamm-Horsfall, nefrocalcina che contrastano la formazione di cristalli e frenano la loro crescita e aggregazione. Il loro meccanismo inibitorio si attua attraverso un legame e una stabilizzazione con questi aggregati cristallini portando alla formazione di composti più solubili (calcio citrato e magnesio ossalato): in tal modo agiscono direttamente sul PA aumentando la zona di metastabilità. Una ridotta escrezione di questi inibitori o un'alterazione qualitativa di essi portano a una maggior tendenza alla litogenesi (4).

3) Stasi urinaria: permette la deposizione di cristalli e la loro crescita e aggregazione, inoltre è una condizione che facilita l'insorgenza d'infezioni a loro volta promotrici litogene. Infine la stasi contribuisce ad alterazioni del metabolismo dell'urotelio che facilitano l'adesione cristallina.

4) Infezione delle vie urinarie (IVU): quelle implicate nella litogenesi sono ad opera di germi ureasi - produttori che portano alla formazione di elevate quantità di ammoniaca e bicarbonato attraverso la degradazione dell'urea con aumento del pH che conduce a una sovrasaturazione dei sali di struvite e di fosfato di calcio e quindi

alla formazione di calcoli di struvite e apatite. Non è ancora certa un'eventuale correlazione tra le IVU da germi non ureasi - produttori e litogenesi: molti microrganismi usano come substrato metabolico il citrato e per tale motivo causano ipocitraturia che potrebbe, se mantenuta a lungo, agevolare la formazione di calcoli di ossalato di calcio e fosfato di calcio.

5) Danno cellulare dell'epitelio delle vie urinarie: ereditario o acquisito, può facilitare la formazione di cristalli ma soprattutto accrescere la loro forza di adesione all'urotelio, creando in tal modo i presupposti per la genesi del calcolo. E' stato dimostrato negli eritrociti dei soggetti ipercalciurici un'eccessiva attività della pompa di membrana Ca- Mg ATPasi dipendente e della pompa Na- K dipendente; un alterato funzionamento di tali dispositivi di membrana potrebbe essere responsabile dello stato ipercalciurico di questi soggetti. Inoltre è stato trovato sempre negli eritrociti di questi pazienti un'anomalia nel trasporto cellulare dell'ossalato che potrebbe essere la spiegazione di moderati ma significativi aumenti dell'ossaluria. E' noto infine che la ritenzione di cristalli nella papilla renale, soprattutto al suo apice, avviene attraverso la fissazione all'epitelio tubulare: non sono ancora conosciuti i meccanismi tramite cui i cristalli aderiscono alla membrana basale tubulare, si ipotizza che ci sia un'alterazione del normale strato protettivo dell'urotelio o il rilascio di sostanze "collose" da parte delle cellule danneggiate. In tal modo potrebbero essere spiegate le deposizioni cristalline subepiteliali nella papilla renale (le cosiddette placche di Randall) che anche in condizioni di metastabilità possono accrescersi fino a formare calcoli compiuti (5).

METABOLISMO DEL CALCIO E DEL TESSUTO OSSEO

Il tessuto osseo è un tessuto dinamico che si rimodella costantemente durante tutto l'arco della vita; rappresenta anche una riserva di calcio, magnesio, fosforo, sodio e altri ioni necessari per le funzioni omeostatiche dell'organismo.(6)

In un soggetto adulto vi sono normalmente 1-2 kg di calcio; più del 99% si trova nello scheletro, dove conferisce stabilità meccanica e costituisce una riserva necessaria per mantenere la normale concentrazione di calcio nel liquido extracellulare (LEC). Il contenuto scheletrico globale di calcio cambia assai lentamente durante la vita; sono invece relativamente veloci i flussi giornalieri di calcio in entrata e in uscita dal tessuto osseo (circa 250-500 mg in ciascuna direzione). Tali flussi, strettamente bilanciati, sono mediati dall'attività coordinata di osteoblasti e osteoclasti. Un altro 0,5-1% del calcio scheletrico è liberamente scambiabile (cioè in equilibrio chimico) con quello del LEC.

Nel sangue, la concentrazione del calcio totale è normalmente di 2,2-2,6 mM (8,5 - 10,5 mg/dl). Circa il 50% è ionizzato; la rimanente quota forma legami ionici con proteine a carica elettrica negativa (principalmente l'albumina e le immunoglobuline), o complessi labili con ioni fosfato, citrato, solfato e altri anioni. Cambiamenti delle concentrazioni delle proteine sieriche modificano direttamente la concentrazione del calcio totale ematico, sebbene la concentrazione del calcio ionizzato rimanga normale.

In condizioni normali, la concentrazione del calcio ionizzato nel LEC viene controllata regolando la velocità di passaggio del calcio attraverso gli epiteli intestinale e renale. Questa regolazione si realizza principalmente attraverso la modulazione dei livelli ematici degli ormoni PTH e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Il calcio ionizzato ematico inibisce direttamente la secrezione di PTH, attivando i recettori sensibili al

calcio (calcium - sensing receptor, CaSR), e modula indirettamente la secrezione di PTH attraverso i suoi effetti sulla produzione di 1,25(OH)₂D. Questo metabolita attivo della vitamina D, infatti, inibisce la produzione di PTH attraverso un meccanismo di retroazione negativa non completamente chiarito.

L'assorbimento intestinale del calcio ingerito si realizza con meccanismi sia attivi (transcellulari), sia passivi (paracellulari). Il meccanismo passivo non è saturabile ed è responsabile dell'assorbimento di circa il 5% del calcio introdotto giornalmente. Il meccanismo attivo, controllato principalmente dalla 1,25 (OH)₂D, è responsabile invece dell'assorbimento di una quota variabile normalmente dal 20 al 70%.

L'assorbimento intestinale di calcio è regolato da ormoni inseriti in circuiti di feedback; tale regolazione ha come risultato un assorbimento netto giornaliero di calcio pari a circa 5-7,5 mmol/die (200-300 mg/die), che si mantiene relativamente costante a fronte di notevoli variazioni nell'introito alimentare. Questo carico giornaliero di calcio assorbito corrisponde alla quantità di calcio quotidianamente eliminata con le urine; anche l'escrezione renale è strettamente regolata dalle concentrazioni ematiche di calcio ionizzato. I glomeruli filtrano circa 8-10 g/die di calcio, dei quali solo il 2-3% si ritrova nelle urine. La maggior parte del calcio filtrato (65%) viene riassorbita nel tubulo prossimale con un meccanismo passivo, paracellulare, che è accoppiato con il concomitante riassorbimento di NaCl e non è regolato in modo specifico. Il segmento principale ascendente corticale dell'ansa di Henle (cortical thick ascending limb, cTAL) assorbe un altro 20% del calcio filtrato, anch'esso con un meccanismo paracellulare. Il riassorbimento di calcio nel cTAL necessita di una proteina delle giunzioni strette chiamata paracellina-1 ed è inibito da elevate concentrazioni ematiche di calcio o magnesio, che agiscono attraverso il CaSR (recettori sensibili al calcio), espresso ad alti livelli sulle membrane

basolaterali in questo segmento del nefrone. L'attivazione del CaSR renale rappresenta un meccanismo indipendente da quelli mediati dal PTH o dalla 1,25(OH)₂D; attraverso questo meccanismo, il calcio ionizzato sierico può controllare il riassorbimento di calcio renale. Infine, circa il 10% del calcio filtrato viene riassorbito nel tubulo contorto distale con un meccanismo transcellulare.

I meccanismi omeostatici che normalmente mantengono costante la concentrazione sierica di calcio ionizzato possono non essere sufficienti in presenza di un introito di calcio estremamente alto o basso, o quando i sistemi ormonali o gli organi coinvolti nella regolazione sono compromessi. Così, anche quando sia massimale l'attività del trasporto intestinale attivo dipendente dalla vitamina D, un prolungato apporto calcico inferiore a 5 mmol/die (<200 mg/die) non è in grado di assicurare un assorbimento netto di calcio sufficiente a bilanciare le perdite obbligate che avvengono attraverso l'intestino, i reni, il sudore e altre secrezioni. In questo caso, un aumento dei livelli ematici di PTH e 1,25(OH)₂D attiva il riassorbimento osseo da parte degli osteoclasti per fornire il calcio necessario; ciò porta a una progressiva perdita di massa ossea e a un bilancio calcico negativo. Elevati livelli di PTH e 1,25(OH)₂D stimolano anche il riassorbimento renale di calcio e l'1,25(OH)₂D ne aumenta l'assorbimento intestinale. Al contrario, per apporti di calcio molto alti (>100 mmol/die; >4 g/die), l'assorbimento intestinale passivo continua a introdurre calcio nel LEC, nonostante l'inibizione massimale del trasporto intestinale attivo e del riassorbimento tubulare renale. Questo può determinare grave ipercalciuria, nefrocalcinosi, insufficienza renale progressiva e ipercalcemia (è il caso, per es., della sindrome latte-alcali). Deficit ed eccessi di PTH o vitamina D, malattie intestinali e insufficienza renale sono altre condizioni di comune riscontro che alterano la normale omeostasi del calcio.(6)

BONE MINERAL DENSITY, OSTEOPOROSI E CALCOLOSI

L'osteoporosi è caratterizzata da una riduzione della densità minerale ossea, associata a fragilità dello scheletro ed a un aumento del rischio di frattura in presenza di traumi minimi. Si tratta di un importante problema di salute sia negli uomini sia nelle donne. E' ben nota una relazione diretta tra BMI e densità ossea: la massa scheletrica si adatta al carico che deve sostenere.

La perdita di massa ossea aumenta a seguito di inattività fisica, fumo, consumo di alcolici, dieta povera di calcio, mancanza di vitamina D, iperparatiroidismo secondario, acidosi metabolica, uso di farmaci anticonvulsivanti e di glucocorticosteroidi (7).

Sia l'osservazione che studi epidemiologici hanno dimostrato che pazienti aventi la tendenza a formare calcoli per ipercalciuria idiopatica, presentano dati di densità minerale ossea che sono significativamente inferiori a quelli osservati in soggetti normali aventi età e sesso comparabili o quelli di pazienti tendenti a formare calcoli non dovuti ad ipercalciuria.

Nel corso del loro svolgimento, questi studi hanno chiaramente mostrato un incremento del riassorbimento a livello osseo ed un alto tasso di turnover osseo in pazienti affetti da ipercalciuria progressiva. Nella maggioranza di questi studi, i pazienti con ipercalciuria idiopatica presentano un rischio maggiore di acquisire una perdita di densità ossea in paragone con soggetti non ipercalciurici. Anche se molti di questi studi sono stati svolti su pochi pazienti con scarsa ricerca per caratterizzare la natura della loro ipercalciuria, la consistenza dei ritrovamenti di bone mineral density (BMD) ridotta in pazienti aventi ipercalciuria idiopatica, supporta in forte misura un collegamento. Il significato di questa osservazione

risiede nel fatto che una bassa BMD è un forte fattore di rischio per l'insorgenza di frattura osteoporotica (8,9).

Le evidenze disponibili fanno pensare che i meccanismi potenziali implicati siano multifattoriali riconoscendo cause genetiche, metaboliche e nutrizionali.

MASSA CORPOREA E RISCHIO DI NEFROLITIASI

In un individuo sano la composizione corporea è espressa da: minerali, acqua extracellulare, acqua intracellulare, glicogeno, proteine (che rappresentano la massa magra) e grasso periviscerale e sottocutaneo (che rappresentano la massa grassa). La massa cellulare corporea è costituita dall'acqua intracellulare, glicogeno e proteine.

*L'indice di massa corporea (body mass index, BMI) e' il metodo piu' utilizzato per valutare l'obesita' e si ricava dal rapporto peso/altezza ² (kg/m²). Quando si utilizzano i dati delle tavole delle Metropolitan Life, i BMI dei punti medi di tutte le altezze e strutture scheletriche per uomini e donne sono compresi tra 19 e 26 kg/m²; a parita' di BMI le donne hanno piu' grasso corporeo degli uomini. In base a dati univoci sulla morbilita', un BMI pari a 30 è considerato il valore inferiore per l'obesita' per uomini e donne. Vasti studi epidemiologici suggeriscono che la morbilita' per tutte le cause, metaboliche e cardiovascolare, inizia ad aumentare (anche se lentamente) quando il BMI è uguale o superiore a 25. Si preferisce utilizzare il termine di *sovrappeso* (invece di *obeso*) per indicare gli individui con BMI compreso tra 25 e 30 (10).*

Un più alto indice di massa corporea (BMI), un maggior peso, una più ampia circonferenza addominale sono associati indipendentemente ad un aumento del rischio di calcolosi renale.

E' stato dimostrato che una aumentata massa corporea è associata con un aumento nella escrezione di elementi litogeni nelle urine ed un più alto rischio di nefrolitiasi è stato riscontrato in pazienti sovrappeso. L'ipotesi comune è che pazienti in sovrappeso, causa l'elevata assunzione di cibo, potrebbero avere una escrezione urinaria di composti chimici litogeni più alta, specialmente ossalato, calcio e acido urico (11).

La prevalenza di nefrolitiasi è andata implacabilmente aumentando nel corso dei passati 50 anni (12), parallelamente a significativi cambiamenti nelle abitudini dietetiche in tutte le società abbienti. Nello stesso tempo un'altra conseguenza non voluta nei cambiamenti di dieta dei Paesi Occidentali è stata la progressione epidemica verso l'obesità in tutti i paesi industrializzati nelle ultime decadi. Questa coincidenza temporale nella prevalenza di persone sovrappeso e di nefrolitiasi ha portato a sospettare che il sovrappeso possa essere un fattore di rischio per la formazione di calcoli renali. A sostegno di tale ipotesi, grazie a due studi epidemiologici su larga scala (13,14), è stata dimostrata l'associazione fra una maggiore massa corporea e l'aumento dell'incidenza della nefrolitiasi in entrambi i sessi, ma senza analizzare la composizione dei calcoli. In altri studi effettuati l'obesità era associata con aumentata escrezione renale di soluti litogeni incluso calcio, ossalato e acido urico (tutti potenziali fattori per la formazione di calcoli renali di ossalato di calcio) (15,16). Altri studi hanno riscontrato che la massa corporea rappresenta il più importante determinante dell'escrezione di ossalato nelle urine di adulti sani maschi e femmine. Di conseguenza vi è un buon consenso circa l'associazione della massa corporea con l'escrezione di ossalato nelle urine ed il rischio di formazione di calcoli di CaOx.(17)

DUAL ENERGY X-RAY ABSORBTIOMETRY

La misura in vivo della densità ossea (BMD) delle vertebre lombari e della testa del femore è un metodo standard per la diagnosi di osteopenia e osteoporosi.

Il termine DEXA è l'acronimo di Dual-energy X-ray absorptiometry (assorbimetria a raggi X a doppia energia). Si basa sul principio dell'attenuazione differenziale di un fascio di raggi X a due livelli energetici al passaggio attraverso i tessuti. Anche se è una tecnica che utilizza raggi X, questi sono dati in misura non pericolosa per la salute. Questa tecnica si è rivelata molto attendibile per quanto riguarda i valori di massa grassa, massa magra e valori riguardanti la densità ossea. Quindi un'analisi con la DEXA ha 2 indubbi vantaggi: il primo è che fornisce valori riguardanti la mineralizzazione ossea e il secondo è che dà una misura accurata della massa grassa e massa magra. La composizione corporea analizzata con la DEXA è riportata in termini di: BMD (densità minerale ossea), massa magra e massa grassa.

La DEXA è una metodica molto precisa con un errore dello 0,5%; un altro grande vantaggio è quello di restituire i valori inerenti ai vari distretti corporei. Ad esempio si può vedere la composizione del braccio destro, sinistro, di una sola gamba, del tronco, ecc.

I risultati della DEXA sono riportati come T-score e Z-score (figura 1). Il T-score indica il numero di deviazioni standard rispetto alla media di una popolazione di giovani adulti (per le donne valori premenopausali). Lo Z-score, invece, indica il numero di deviazioni standard rispetto ad una popolazione di riferimento analoga per età, peso e razza. Infine, la composizione corporea è espressa in grammi e la densità in g/cm^2 .

MASSA MAGRA, MASSA GRASSA, FATTORI URINARI DI RISCHIO LITOGENO E DENSITA' MINERALE OSSEA

Come sopra ricordato, il ruolo del peso corporeo, del BMI e della composizione corporea nel determinare il rischio litogeno è ancora dibattuto. Infatti anche se vari studi hanno documentato un aumento del rischio di sviluppare nefrolitiasi all'aumentare del BMI, tuttavia il contributo di massa magra e massa grassa nel determinare questo rischio è tuttora non chiaro.

Come detto, grandi studi epidemiologici (13,14) hanno documentato un aumento del rischio di calcolosi renale al crescere del peso, del BMI e della circonferenza addominale. Tuttavia, l'aumento del rischio si accompagna anche ad una redistribuzione del tipo di calcolosi rispetto alla popolazione generale con un decremento della prevalenza di calcolosi calcica e un aumento della calcolosi da acido urico (11,18,19). L'incremento della massa magra è stato associato ad un aumento dell'incidenza soltanto nei maschi (20). Inoltre la perdita di peso non è associata ad una riduzione del rischio (14).

Per quanto riguarda i fattori urinari di rischio litogeno è stato riportata una relazione inversa tra pH e BMI e tra pH e massa grassa (21). Inoltre l'escrezione di ossalato è stata correlata sia al peso corporeo che alla superficie corporea che alla massa magra (17). All'aumentare del BMI aumenta l'escrezione di ossalato, acido urico, sodio, fosfato e calcio (22-24); tuttavia il calcio non rimane significativo se si corregge per sodio e fosfato (22).

Anche studi retrospettivi recenti (25-27) hanno documentato una relazione positiva tra fattori urinari di rischio litogeno sovrappeso ed obesità. Tuttavia, spesso i valori delle sovrasaturazioni non si modificano poiché anche l'escrezione di inibitori e l'intake idrico aumentano al crescere dei percentili di peso e/o di BMI. Limitazione

comune a molti degli studi citati è il non aver valutato le abitudini alimentari, in particolare l'intake proteico.

Anche la relazione tra composizione corporea e densità minerale ossea è dibattuta. Infatti è documentato che al crescere del peso corporeo migliora la densità ossea ma il ruolo specifico della massa magra e della massa grassa non è del tutto chiaro. Esiste una relazione positiva tra massa grassa e densità ossea vertebrale documentata da molti studi mentre la massa magra sembra essere correlata ad una migliore densità ossea soltanto in alcuni distretti e risente molto dell'età e dell'attività fisica (28-30).

SCOPO DELLA TESI

Pertanto in questa tesi, eseguita su donne sane, abbiamo identificato due indici matematici che potessero evidenziare separatamente il ruolo della massa magra e della massa grassa per verificare: 1) se l'escrezione dei fattori di rischio litogeno è influenzata dal peso corporeo in toto o dalla sua composizione in massa magra e massa grassa; 2) come si comporta la densità minerale ossea; 3) in quali distretti corporei la densità ossea è influenzata maggiormente dalla massa magra o dalla massa grassa.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Presso l'Ambulatorio Calcolosi ed Infezioni delle Vie Urinarie del Dipartimento di Scienze Cliniche dell'Università di Parma sono state studiate 78 donne volontarie sane.

Tutte le donne hanno effettuato: 1) raccolta delle urine delle 24 h per il dosaggio dei fattori urinari di rischio litogeno secondo un protocollo consolidato e pubblicato; 2) valutazione della densità ossea e della composizione corporea tramite Dual-Energy X-Ray Absorptiometry con densitometro fan-beam Hologic QDR 4500A (Hologic, Bedford, Mass., USA); 3) compilazione di un diario alimentare di 3 giorni non consecutivi di cui uno corrispondente al giorno della raccolta urinaria analizzato con software dedicato (Dietosystem, DS Medica, Milano, Italy).

Definizione degli indici matematici per massa magra e massa grassa

INDEX OF LEAN MASS (ILM)

Si è definito un indice per poter ottenere due gruppi di soggetti che non differissero per peso corporeo e BMI ma unicamente per massa magra. Peso corporeo (BW), massa magra (LM) e massa grassa (FM) non sono indipendenti tra loro perchè possiamo stimare che il peso corporeo totale sia la somma di massa magra e massa grassa.

L'indice ILM è stato concepito per non essere influenzato dal peso corporeo e cioè:

dato che $BW = LM + FM$

allora $ILM = BW \times (LM - FM)$

che possiamo anche scrivere come $ILM = (LM + FM) \times (LM - FM)$ e cioè:

$$ILM = LM^2 - FM^2$$

Poichè ciascun soggetto in studio si caratterizza per avere una quantità di massa magra superiore alla massa grassa, mediante elevazione a potenza la loro differenza sarà maggiore tanto più alta è la massa magra.

A conferma di ciò abbiamo testato l'associazione dell'indice ILM con alcuni parametri: l'indice considerato si associa strettamente alla massa magra ($r = 0.667$; $p < 0.0001$), è associato negativamente con associazione più debole alla massa grassa ($r = -0.247$; $p = 0.0294$) e non si associa né al peso corporeo ($r = 0.169$; $p = 0.139$) né al BMI ($r = -0.082$; $p = 0.475$).

Pertanto abbiamo calcolato il valore dell'indice ILM per ogni soggetto coinvolto nello studio, abbiamo trovato la sua mediana e suddiviso la popolazione in 2 gruppi (gruppo A con valori inferiori alla mediana e gruppo B con valori superiori alla mediana).

I gruppi così ottenuti sono caratterizzati da una marcata differenza per massa magra ($p < 0.0001$) mentre non sono significativamente diversi per massa grassa, peso corporeo e BMI.

INDEX OF FAT MASS (IFM)

Si è definito un indice per poter ottenere due gruppi che non differissero per massa magra

$$\text{IFM} = \text{BW} / (\text{LM} - \text{FM}) \text{ e cioè } \text{IFM} = (\text{LM} + \text{FM}) / (\text{LM} - \text{FM})$$

Poiché nella popolazione studiata l'aumento del peso corporeo si accompagna mediamente ad un incremento sia della massa magra che della massa grassa ma l'entità dell'incremento è maggiore a carico della massa grassa, all'aumentare del peso incrementa il numeratore e la differenza tra LM e FM si riduce e conseguentemente il valore dell'IFM aumenta.

A conferma di ciò l'indice IFM si associa strettamente alla massa grassa ($r = 0.689$), al peso corporeo ($r = 0.553$) ed al BMI ($r = 0.561$) ($p < 0.0001$) mentre non vi è associazione significativa con la massa magra.

Pertanto abbiamo calcolato il valore dell'IFN per ogni soggetto in studio, abbiamo trovato la sua mediana e suddiviso la popolazione in due gruppi (gruppo C con valori inferiori alla mediana e gruppo D con valori superiori alla mediana).

I gruppi ottenuti sono caratterizzati da una forte differenza per massa grassa, peso corporeo e BMI ($p < 0.0001$) mentre non differiscono significativamente per la composizione in massa magra.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata con il software SPSS 16.0 (Chigago, IL, USA) utilizzando Spearman's rank test, correlazioni parziali, Student's T test or Fisher's χ^2 exact test quando appropriato.

RISULTATI

Le 78 donne arruolate avevano un'età media di 46 ± 6 anni (range 31-59). Il 24% (19 donne) era in menopausa da un periodo medio di circa un anno.

La tabella 1 mostra i valori della composizione corporea e la tabella 2 i fattori urinari di rischio litogeno dopo suddivisione delle donne in base alla mediana (1254) dell'Index of Lean Mass. I gruppi A e B non differiscono per peso corporeo e BMI ma i soggetti del gruppo B mostrano altezza e massa magra significativamente maggiori (159±6 vs 163 ±5 cm e 40±4 vs 45±5 Kg, $p < 0.0001$). Inoltre il gruppo con più alto ILM mostra una densità minerale ossea significativamente migliore a livello degli arti sia superiori che inferiori e a livello delle coste (tabella 1).

A livello urinario (tabella 2) i soggetti del gruppo B con maggiore massa magra mostrano escrezioni significativamente superiori di creatinina, potassio, fosforo, magnesio, citrato e ossalato. Anche l'acidità titolabile e l'acidità totale sono maggiori nel gruppo con più alto ILM e l'acidità titolabile correla significativamente con la massa magra ($r = 0.437$; $p < 0.0001$). E' ai limiti della significatività l'incremento dei valori medi di sodiuria, cloruria e calciuria del gruppo B.

L'analisi dei diari alimentari dei tre giorni non mostra differenze negli introiti alimentari di acqua, Potential Renal Acid Load (PRAL calcolato), protidi, glucidi, lipidi, sodio, potassio, calcio, fosforo, magnesio nei due gruppi a diverso ILM (data not shown). Anche la percentuale di soggetti che svolge regolare attività fisica non è significativamente differente (gruppo A 31% Vs gruppo B 49%, $p = 0.105$).

La tabella 3 mostra i valori della composizione corporea e la tabella 4 i fattori urinari di rischio litogeno dopo suddivisione delle donne in base alla mediana (3.28) dell'Index of Fat Mass. I due gruppi ottenuti non differiscono per altezza ma il gruppo a più alto IFM mostra valori significativamente maggiori di BMI, massa totale di tronco e gambe e massa grassa totale. La densità minerale ossea pelvica, lombare e del femore, e i relativi T- e Z-score sono significativamente migliori nel gruppo D con IFM maggiore (tabella 3)

I fattori urinari di rischio litogeno (tabella 4) non sono diversi nei due gruppi C e D a basso o alto IFM cosiccome gli introiti alimentari non mostrano differenze significative (data not shown). La percentuale di soggetti che svolge attività fisica è risultata invece significativamente superiore nei soggetti con Index of Fat Mass minore (gruppo C 54% vs gruppo D 26%, $p=0.01$).

DISCUSSIONE

L'escrezione urinaria di molti composti implicati nel rischio litogeno, sia in qualità di promotori come fosfato ed ossalato che di inibitori, come magnesio, potassio e citrato è aumentata in presenza di una maggior massa magra. Un trend positivo sembra essere presente anche a carico di altri analiti urinari come sodio, cloro, acido urico e solfato, anche se ai limiti della significatività possibilmente a causa della relativamente bassa numerosità del campione analizzato. Inoltre in letteratura la correlazione tra escrezione dei fattori urinari di rischio litogeno, peso corporeo e BMI è stata confermata nei calcolotici ma incostantemente documentata nei soggetti sani di controllo. Questi dati sostanzialmente concordano con i dati della letteratura (17). Nei nostri dati l'acidità titolabile si correla positivamente alla massa magra senza variazioni significative del pH; questo è legato al fatto che è presente una correlazione positiva tra massa magra e acidità titolabile con un incremento di quest'ultima dovuto ad un aumento principalmente dei fosfati e in minor misura del citrato.

L'originalità di questo studio sta nel fatto che è stata misurata direttamente la composizione corporea, valutata insieme con l'introito alimentare e con i dati urinari e sono stati definiti per la prima volta due indici matematici che hanno permesso di separare gli effetti della massa magra e della massa grassa sia sulla composizione

corporea che sull'escrezione urinaria dei fattori di rischio litogeno. A questo proposito, nella nostra popolazione di donne sane, la massa grassa sembra metabolicamente inerte nei confronti delle escrezione dei suddetti composti. Una differenza di peso corporeo di circa 13 kg in valore medio (quasi totalmente dovuta all'incremento della massa grassa) tra i due gruppi esaminati a basso ed alto Index of Fat Mass (gruppi C e D - tabella 4), non determina significative differenze a carico dei composti urinari implicati nel rischio litogeno a parità di apporto alimentare. Questo concorda con i dati di Taylor et al (14) che non hanno dimostrato un aumento del rischio litogeno nelle donne sia giovani che anziane per un peso corporeo fino a 67.7 Kg e/o un BMI di 27.7. D'altra parte è già stato dimostrato negli uomini che l'aumento della massa magra si associa ad un aumento dell'incidenza di nefrolitiasi calcica.

La densità minerale ossea ha dimostrato di essere influenzata da massa magra e da massa grassa in maniera peculiare. Anche i nostri dati confermano che una massa corporea maggiore si associa ad un osso migliore, particolarmente a livello dello scheletro assiale (28) (tabella 3). Nello specifico nel gruppo D di donne con IFM maggiore si osserva una densità ossea significativamente maggiore a livello dello scheletro "di sostegno" (vertebre lombari, pelvi, femore) e questo gruppo mostra inoltre una scarsa percentuale di soggetti che eseguono attività fisica abituale (26% vs 54%). Questo concorda con dati precedenti (31) che hanno dimostrato in donne in premenopausa sedentarie che la BMD correla con la massa grassa. Per converso il gruppo B con maggiore massa magra mostra una densità ossea migliore a livello degli arti e delle coste. Questo gruppo ha anche un'altezza in media maggiore ed è già stato dimostrato che l'altezza correla con la massa magra e la densità ossea delle ossa extrassiali (31,32). Pur non raggiungendo la

significatività statistica il gruppo B ad alto ILM mostra una percentuale di attività fisica maggiore del gruppo A a basso ILM (49% vs 31%). E' verosimile che la migliore densità ossea a livello degli arti e delle coste sia in parte da attribuire all'esercizio fisico con conseguente aumento delle masse muscolari e dello stimolo meccanico anabolico sull'osso (33,34).

Siamo consci che questo studio presenta alcune limitazioni. In primo luogo la numerosità del campione non è elevata, la suddivisione dei gruppi è stata eseguita sulla base di indici matematici costruiti per evidenziare massa magra e massa grassa e non è stata effettuata un'analisi separata tra donne in pre- e post-menopausa. In secondo luogo l'analisi dei diari alimentari dei tre giorni può non esprimere completamente le abitudini alimentari di un soggetto; tuttavia i diari sono stati interpretati da una dietista mediante un colloquio con i soggetti in studio e i risultati non cambiano anche dopo correzione per il peso corporeo.

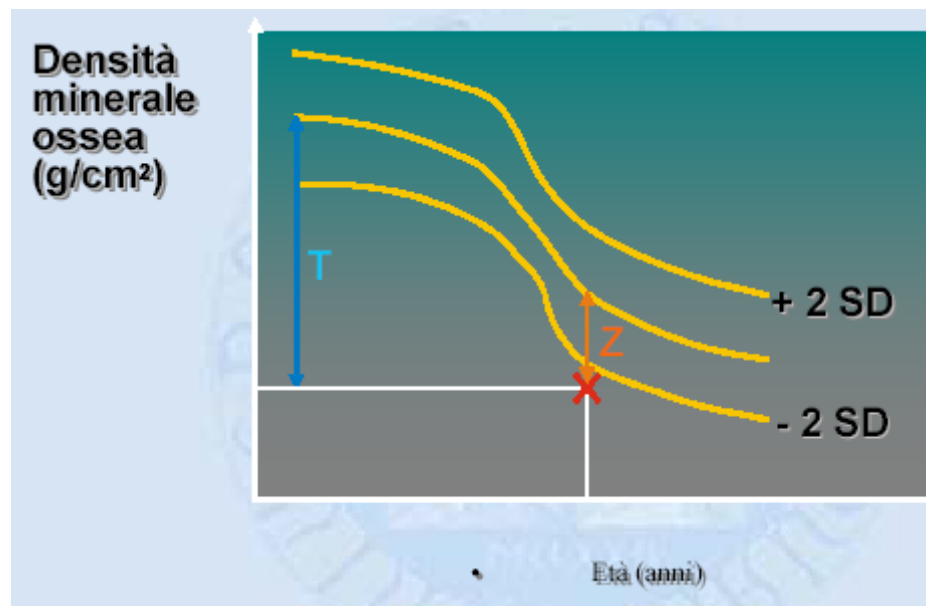
CONCLUSIONI

Questo studio suggerisce come in donne sane, a parità di introito alimentare, la massa grassa sembra non influenzare l'escrezione urinaria dei fattori di rischio litogeno che sembrano maggiormente dipendenti dalla massa magra. La densità minerale ossea, d'altra parte, sembrerebbe influenzata dalla massa grassa mentre la massa magra parrebbe esercitare un ruolo positivo soprattutto a livello dello scheletro extrassiale, verosimile espressione dell'attività muscolare. Ulteriori studi su popolazioni di maggiori dimensioni o su pazienti affetti da patologie del metabolismo minerale (calcolotici, osteoporotici) potranno confermare questi riscontri. In ogni caso anche con questi dati sperimentali si conferma l'opportunità di

consigliare a tutti i soggetti il mantenimento di un peso corporeo ideale e lo svolgimento di attività fisica regolare.

Figura 1. Densitometria ossea con assorbimetria a raggi X a doppia energia: parametri di riferimento

"T" o "Z" Score	Percentile Equivalente
+2.5	99.4%
+2.0	98%
+1.5	93%
+1.0	84%
+0.5	69%
0.0	50%
-0.5	31%
-1.0	16%
-1.2	12%
-1.4	8%
-1.6	5%
-1.8	4%
-2.0	2%
-2.2	1%
-2.5	0.6%



- ◆ **T - SCORE** misura in DS della differenza tra la densità del paziente e quella media dei giovani adulti dello stesso sesso
- ◆ **Z - SCORE** misura in DS della differenza tra la densità del paziente e quella media dei soggetti normali di pari età e sesso

Tabella 1. Composizione corporea in donne sane suddivise in base all'Index of Lean Mass (ILM)

	Gruppo A "BASSA" MASSA MAGRA ILM<1254 N. 39	Gruppo B "ALTA" MASSA MAGRA ILM>1254 N. 39	p
ILM	1035±205	1625±313	<0.0001
Età, anni	46±6	46±6	0.956
Menopausa, n., %	11 (28)	8 (21)	0.590*
Anni dalla menopausa	1.4±3	0.9±2	0.416
Peso, Kg	65±10	68±11	0.268
Altezza, m	159±6	163±5	<0.0001
BMI, Kg/m ²	26±4	25±4	0.612
Massa totale tronco, Kg	31±5	32±6	0.289
Massa totale gambe, Kg	22±4	23±4	0.460
Massa magra totale, Kg	40±4	45±5	<0.0001
Massa grassa totale, Kg	23±6	21±7	0.07
BMD braccia, g/cm ²	0.72±0.04	0.76±0.08	0.003
BMD coste, g/cm ²	0.64±0.08	0.68±0.07	0.035
BMD gambe, g/cm ²	1.10±0.07	1.15±0.1	0.026
BMD pelvi, g/cm ²	1.20±0.15	1.24±0.18	0.307
BMD lombare, g/cm ²	1±0.13	1.04±0.15	0.217
T-score vertebre lombari	- 0.42±1.21	- 0.06±1.34	0.214
Z-score vertebre lombari	0.16±1.15	0.52±1.37	0.215
BMD femore, g/cm ²	0.91±0.12	0.95±0.11	0.232
T-score femore	- 0.23±0.96	0.03±0.93	0.232
Z-score femore	0.15±0.95	0.41±0.94	0.233

* χ^2 test

BMD: Bone Mineral Density

Tabella 2. Fattori urinari di rischio litogeno sulle urine delle 24 h in donne sane suddivise in base all'Index of Lean Mass (ILM)

	Gruppo A "BASSA" MASSA MAGRA ILM<1254 N. 39	Gruppo B "ALTA" MASSA MAGRA ILM>1254 N. 39	p
Volume, ml	1603±698	1640±835	0.832
Creatinina, mg/24h	991±194	1138±191	0.001
Urea, mg/24h	22±6	23±6	0.486
Sodio, mEq/24h	124±49	143±45	0.072
Potassio, mEq/24h	47±13	60±18	<0.001
Calcio, mg/24h	156±62	188±91	0.076
Fosforo, mg/24h	520±174	665±186	<0.001
Magnesio, mg/24h	66±20	85±26	<0.001
Cloro, mEq/24h	131±50	151±49	0.074
Acido urico, mg/24h	456±136	508±116	0.077
Citrato, mg/24h	620±178	807±323	0.002
Ossalato, mg/24h	21±7	27±11	0.015
Solfato, mmol/24h	16±4	18±5	0.085
Ammonio, mmol/24h	27±11	30±9	0.275
pH 24h	5.95±0.51	5.96±0.45	0.961
Acidità titolabile, mEq/24h	10.51±4.66	13.6±4.98	0.006
Acidità totale, mEq/24	37.8±12.08	43.47±11.95	0.04

Tabella 3. Apporti alimentari in donne sane suddivise in base all'Index of Lean Mass (ILM)

	Gruppo A "BASSA" MASSA MAGRA ILM<1254 N. 39	Gruppo B "ALTA" MASSA MAGRA ILM>1254 N. 39	p
Acqua, ml	1470±560	1470±670	1.000
PRAL, mEq	12.75±17.45	6.69±18.85	0.145
Protidi, g/24h	82±22	89±30	0.215
Glucidi, g/24h	258±89	272±92	0.493
Lipidi, mEq/24h	82±29	93±29	0.101
Sodio, mEq/24h	80±44	95±61	0.212
Potassio, mEq/24h	66±18	73±23	0.150
Calcio, mg/24h	757±416	842±347	0-330
Fosforo, mg/24h	1150±418	1105±350	0.610
Magnesio, mg/24h	261±97	295±126	0.181

PRAL: Potential Renal Acid Load. *Il software Dietosystem (DS Medica) calcola il PRAL applicando il modello originale descritto da Remer e Manz (J Am Diet Assoc 1995;95(7):791-797)*

Tabella 4. Composizione corporea in donne sane suddivise in base all'Index of Fat Mass (IFM)

	Gruppo C "BASSA" MASSA GRASSA IFM<3.28 N. 39	Gruppo D "ALTA" MASSA GRASSA IFM>3.28 N. 39	p
IFM	2.50±0.42	5.14±4.03	<0.0001
Età, anni	45±6	47±6	0.23
Menopausa, n., %	8 (21)	11 (28)	0.429*
Anni dalla menopausa	0.8±3	1.5±3	0.336
Peso, Kg	60±7	73±10	<0.0001
Altezza, m	161±6	161±6	0.467
BMI, Kg/m ²	23±2	28±3	<0.0001
Massa totale tronco, Kg	28±4	35±6	<0.0001
Massa totale gambe, Kg	21±3	25±3	<0.0001
Massa magra totale, Kg	41±5	43±5	0.064
Massa grassa totale, Kg	17±3	27±5	<0.0001
BMD braccia, g/cm ²	0.74±0.08	0.73±0.06	0.347
BMD coste, g/cm ²	0.66±0.08	0.66±0.07	0.886
BMD gambe, g/cm ²	1.13±0.09	1.13±0.09	0.896
BMD pelvi, g/cm ²	1.18±0.15	1.27±0.17	0.013
BMD lombare, g/cm ²	0.98±0.13	1.06±0.14	0.018
T-score vertebre lombari	- 0.58±1.22	0.09±1.27	0.021
Z-score vertebre lombari	- 0.04±1.24	0.72±1.19	0.007
BMD femore, g/cm ²	0.90±0.10	0.96±0.12	0.025
T-score femore	-0.34±0.82	0.14±1.01	0.024
Z-score femore	0.01±0.85	0.55±0.98	0.012

* χ^2 test

BMD: Bone Mineral Density

Tabella 5. Fattori urinari di rischio litogeno sulle urine delle 24 h in donne sane suddivise in base all'Index of Fat Mass (IFM)

	Gruppo C "BASSA" MASSA GRASSA IFM<3.28 N. 39	Gruppo D "ALTA" MASSA GRASSA IFM>3.28 N. 39	p
Volume, ml	1692±793	1551±740	0.418
Creatinina, mg/24h	1034±201	1095±207	0.188
Urea, mg/24h	22±6	22±6	0.807
Sodio, mEq/24h	130±45	137±51	0.501
Potassio, mEq/24h	55±18	53±17	0.677
Calcio, mg/24h	178±90	167±67	0.537
Fosforo, mg/24h	574±196	611±192	0.402
Magnesio, mg/24h	80±28	71±21	0.138
Cloro, mEq/24h	138±48	144±53	0.622
Acido urico, mg/24h	469±120	495±136	0.363
Citrato, mg/24h	736±292	691±261	0.478
Ossalato, mg/24h	23±7	26±12	0.162
Solfato, mmol/24h	17±4	17±5	0.526
Ammonio, mmol/24h	28±9	29±12	0.881
pH 24h	6.00±0.43	5.92±0.53	0.451
Acidità titolabile, mEq/24h	11.56±4.77	12.5±5.30	0.398
Acidità totale, mEq/24	39.97±11.91	41.30±12.75	0.636

Tabella 6. Apporti alimentari in donne sane suddivise in base all'Index of Fat Mass (IFM)

	Gruppo C "BASSA" MASSA GRASSA IFM<3.28 N. 39	Gruppo D "ALTA" MASSA GRASSA IFM>3.28 N. 39	p
Acqua, ml	1530±650	1410±580	0.371
PRAL, mEq	11.30±16.60	6.10±20.02	0.217
Protidi, g/24h	90±29	81±20	0.131
Glucidi, g/24h	278±92	252±87	0.204
Lipidi, mEq/24h	93±32	82±25	0.112
Sodio, mEq/24h	92±59	82±25	0.112
Potassio, mEq/24h	71±23	68±19	0.521
Calcio, mg/24h	880±403	719±349	0.062
Fosforo, mg/24h	1199±440	1056±308	0.100
Magnesio, mg/24h	288±114	268±112	0.426

PRAL: Potential Renal Acid Load. *Il software Dietosystem (DS Medica) calcola il PRAL applicando il modello originale descritto da Remer e Manz (J Am Diet Assoc 1995;95(7):791-797)*

BIBLIOGRAFIA

- 1) Asplin JR, Coe FL, Favus MJ. Nefrolitiasi. In Harrison Principi di Medicina Interna. A cura di Kasper D, Braunwald D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J. 2005 XVI edizione, McGraw – Hill, Milano, Vol II, pp 1927-1928.
- 2) Dallera JE., Chandhoke PS. Epidemiology and incidence of stone disease. In Urinary Stone Disease: The practical Guide to Medical and Surgical Management. Edited by Marshall L. Stoller and Maxwell V. Meng. Humana Press Inc 2007. pp 27-34.
- 3) Taylor EN, Curhan GC. Role of nutrition in the formation of calcium – containing kidney stones, Nephrol Phys. 2004; 98: 55–63.
- 4) Schiavone PO, Herrmann U. Environmental factors in the pathophysiology of recurrent idiopathic calcium urolithiasis (RCU), with emphasis on nutrition, Urol Res, 1992; 20: 72–83.
- 5) Pak CYC, Skurla C, Harvey J. Graphic display of urinary risk factors for renal stone formation. J Urol 1985; 134: 867–870.
- 6) Bringhurst RF, Demay BM, Krane MS, Kronenberg HM. Metabolismo osseo e minerale normale e patologico. In Harrison Principi di Medicina Interna. A cura di Kasper D, Braunwald D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J. 2005 XVI edizione, McGraw – Hill, Milano, Vol II, pp 2526-2529.

- 7) Tugcu V, Ozbek E, Aras B, Ozbay B, Islim F, Tasci AI. Bone mineral density measurement in patients with recurrent normocalciuric calcium stone disease Urol Res 2007; 35:29-34.
- 8) Melton LJ III, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral density assessed at different skeletal sites. J Bone Miner Res. 1993;8:1227-1233.
- 9) Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, Genant HK, Palermo L, Scott J, Vogt TM. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. Lancet, 1993;341: 72-75.
- 10) Flier JS, Maratos-Flier E. Obesità. In Harrison Principi di Medicina Interna. A cura di Kasper D, Braunwald D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J. 2005 XVI edizione, McGraw – Hill, Milano, Vol II, pp 484-485.
- 11) Daudon M, Lacour B, Jungers P. Influence of body size on urinary stone composition in men and women. Urol Res 2006; 34(3): 193-199
- 12) Trinchieri A, Coppi F, Montanari E, Del Nero A, Zanetti G, Pisani E. Increase in the prevalence of symptomatic upper urinary tract stones during the last ten years. Eur Urol 2000; 37:23-29.
- 13) Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Speizer FE, Stampfer MJ. Body size and risk of kidney stones. J Am Soc Nephrol 1998; 9:1645-1652.

- 14) Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. *JAMA* 2005; 293(4): 455-462
- 15) Powell CR, Stoller ML, Schwartz BF et al. Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology* 2000; 55(6): 825-830
- 16) Siener R, Ebert D, Nicolay C, Hesse A. Dietary risk factors for hyperoxaluria in calcium oxalate stone formers. *Kidney Int* 2003;63:1037-1043.
- 17) Lemann jr J, Pleuss JA, Worcester EM, Hornick L, Schrab D, Hoffmann RG. Urinary oxalate excretion increases with body size and decreases with increasing dietary calcium intake among healthy adults. *Kidney Int* 1996; 49:200-208
- 18) Lee SC, Kim YJ, Kim TH, Yun SJ, Lee NK, Kim WJ. Impact of obesity in patients with urolithiasis and its prognostic usefulness in stone recurrence. *J Urol* 2008; 179: 570-574
- 19) Ekeruo WO, Tan YH, Young MD et al. Metabolic risk factors and the impact of medical therapy on the management of nephrolithiasis in obese patients. *J Urol* 2004; 172: 159-163
- 20) Curhan GC, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int.* 2001;59(6):2290-2298.

- 21) Remer T, Berkemeyer S, Rylander R, Vormann J. Muscularity and adiposity in addition to net acid excretion as predictors of 24-hour urinary pH in young adults and elderly. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61:605-609
- 22) Taylor EN, Curhan GC. Body size and 24-hour urine composition. *Am J Kid Dis* 2006; 48(6): 905-915
- 23) Siener R, Glatz S, Nicolay C, Hesse A. The role of overweight and obesity in calcium oxalate stone formation. *Obes Res* 2004; 12:106-113
- 24) Duffey BG, Pedro RN, Kriedberg C et al. Lithogenic risk factors in the morbidly obese population. *J Urol* 2008; 179: 1401-1406
- 25) Eisner BH, Eisenberg ML, Stoller ML. Relationship between body mass index and quantitative 24-hour urine chemistries in patients with nephrolithiasis. *J Urol* 2009; doi:10.1016/j.urology.2009.09.024
- 26) Negri AL, Spivacow FR, Del Valle EE, Forrester M, Rosende G, Pinduli I. Role of overweight and obesity on the urinary excretion of promoters and inhibitors of stone formation in stone formers. *Urol Res* 2008; 36: 303-307
- 27) Sarica K, Altay B, Erturhan S. Effect of being overweight on stone-forming risk factors. *Urology* 2008; 71(5): 771-775
- 28) Reid IR. Relationships between fat and bone. *Osteoporos Int* 2008; 19: 595-606
- 29) Elia M. Obesity in the elderly. *Obes Res* 2001; 9: 244S-248S

- 30) Haroun D, Wells JCK, Williams JE, Fuller NJ, Fewtrell MS, Lawson MS. Composition of the fat-free mass in obese and nonobese children: matched case-control analyses. *Int J Obes* 2005; 29: 29-36
- 31) Reid IR, Legge M, Stapleton JP, Evans MC, Grey AB. Regular exercise dissociates fat mass and bone density in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995 ;80(6):1764-1768.
- 32) Makovey J, Naganathan V, Sambrook P. Gender differences in relationships between body composition components, their distribution and bone mineral density: a cross-sectional opposite sex twin study. *Osteoporos Int.*;16(12):1495-1505.
- 33) Ozcivici E, Luu YK, Adler B, Qin YX, Rubin J, Judex S, Rubin CT. Mechanical signals as anabolic agents in bone. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(1):50-59.
- 34) Ozcivici E, Luu YK, Rubin CT, Judex S. Low-level vibrations retain bone marrow's osteogenic potential and augment recovery of trabecular bone during reambulation. *PLoS One.* 2010 Jun 17;5(6):e111178, 1-10.