



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PAVIA

Scuola di Dottorato in Scienze della Vita

Dottorato di Ricerca in PSICOLOGIA, SCIENZE STATISTICHE E SANITARIE

XXIX CICLO

Effetti della supplementazione con un alimento a fini medici speciali (composto da proteine del siero del latte, aminoacidi e vitamina D) associato all'attività fisica, sull'incremento della massa magra, della forza e della funzionalità e sulla riduzione dell'infiammazione in soggetti anziani sarcopenici

Relatore:

Prof.ssa Mariangela Rondanelli

Tesi di Dottorato di Ricerca di

Faliva Milena Anna

Matricola 424303

Anno Accademico 2015/2016

INTRODUZIONE	1
1. I cambiamenti della composizione corporea nel soggetto anziano	2
2. I Fabbisogni nutrizionali nei soggetti anziani	5
3. La Sarcopenia	14
3.1. Definizione ed epidemiologia	14
3.2.eziopatogenesi e fattori di rischio	15
3.3. Diagnosi	21
4. Trattamento della sarcopenia	27
4.1 Gli Aminoacidi	27
4.2. Le proteine del siero del latte	28
4.3 La vitamina D	29
4.4 L'attività fisica	31
5. Scopo dello studio	32
6. Materiali e metodi	33
7. Risultati	41
8. Discussione	45
9. Conclusioni	48
10. Bibliografia	49

Introduzione

Con il progredire dell'età gli individui vanno incontro ad una serie di cambiamenti strutturali e funzionali che riguardano la composizione corporea. Si assiste ad una progressiva perdita della massa muscolare con conseguente diminuzioni delle funzioni fisiche, maggior dipendenza ed un peggioramento generale della qualità della vita. Il termine "sarcopenia" è stato utilizzato per descrivere questa condizione caratterizzata dalla perdita di massa muscolare e forza muscolare correlata all'età. L'eziologia è complessa e multifattoriale: può essere primaria (dovuta ad una riduzione delle funzioni neurologiche o ad un aumento del turnover proteico) oppure secondaria (causata da inattività o da problematiche di tipo endocrinologico). L'alimentazione gioca un ruolo fondamentale, soprattutto agendo in modo positivo o negativo sulla sarcopenia secondaria: i nutrienti infatti possono avere un impatto importante sull'anabolismo proteico. Incrementare le quantità di proteine e scegliere la qualità degli aminoacidi può stimolare la sintesi proteica muscolare nei soggetti anziani. Non solo i macronutrienti ma anche le vitamine giocano un ruolo fondamentale: un apporto adeguato di vitamina D infatti può avere effetti positivi sull'aumento della forza muscolare. Oltre all'alimentazione anche l'attività fisica può risultare utile nel mantenimento della massa muscolare e nel miglioramento delle funzionalità fisiche generali.

Anche l'infiammazione cronica, situazione comune a molti soggetti anziani con patologie multiple, può influenzare negativamente la sintesi proteica muscolare favorendo l'accumulo di grasso a livello del muscolo scheletrico; questo comporta una riduzione della forza favorendo l'inattività muscolare.

1. I cambiamenti della composizione corporea nel soggetto anziano

Le modificazioni fisiche del soggetto durante l'invecchiamento riguardano la statura, il peso corporeo e la composizione corporea.

Dopo i 50 anni la statura tende progressivamente a ridursi. Le principali cause possono essere: atteggiamenti viziati, modificazioni vertebrali, in quanto le vertebre si riducono in altezza per il rallentamento fisiologico del turnover osseo dei corpi vertebrali, riduzione degli spazi articolari (grandi articolazioni e dischi intervertebrali per perdita di acqua e progressiva degenerazione del nucleo polposo), cedimento della volta plantare (Capurso A, 1992; Hazzard WR et al, 1996).

Il peso corporeo tende a ridursi nelle persone anziane. Negli uomini si osserva un incremento ponderale fino all'età di 50 anni, cui fa seguito un calo ponderale progressivo che si accentua dopo i 70 anni. Nelle donne il peso tende ad aumentare fino ai 60 anni e successivamente a ridursi (Capurso A, 1992).

Oltre a queste variazioni, facilmente visibili e intuibili, nel soggetto anziano avvengono cambiamenti significativi riguardanti la composizione corporea, la distribuzione del grasso e il metabolismo basale (Forbes GB, 1999.).

Si assiste infatti ad un aumento del tessuto adiposo (con localizzazione prevalentemente addominale) ed alla diminuzione sia del volume plasmatico e dell'acqua corporea, sia delle masse muscolari (comprovata dalla ridotta escrezione urinaria di creatinina e di metilistidina), come mostrato nella tabella 1 (Zamboni M et al, 2005).

Studi sia di tipo cross-sectional sia longitudinali evidenziano come la perdita di massa magra nell'uomo avvenga in misura preponderante tra i 40 ed i 60 anni, mentre nelle donne questa diminuzione è più marcata dopo i 60 anni (Janssen I, 2006).

Questo processo ha importanti implicazioni sullo stato nutrizionale in quanto la perdita di massa magra risulta correlata alla diminuzione del metabolismo basale e del fabbisogno energetico.

I consumi energetici basali sono da attribuire principalmente all'attività della massa magra: infatti i muscoli sono responsabili del 22% della spesa energetica mentre il tessuto adiposo contribuisce solo per il 4% (Roggi C & Turconi G, 2009).

La diminuzione della massa magra che si verifica con l'avanzare dell'età spiega la progressiva diminuzione del Metabolismo Basale (ovvero la quantità di energia consumato dal nostro

organismo stando completamente a riposo) che si verifica in ambo i sessi a partire dai 50 anni, con una riduzione del 2-4% per decade di età (Keys A et al, 1973; Chernoff R, 1990).

A questa riduzione, relativamente modesta per fasce progressive di età (del 7-8% dai 50 ai 70 anni e del 7-10% tra i 70 e gli 80 anni), ma assai prossima al 30-40% rispetto ad un giovane adulto, va aggiunto il progressivo declino dell'attività fisica volontaria che si traduce percentualmente in una caduta di spesa energetica. Negli ultimi anni sono stati effettuati numerosi studi che hanno tenuto conto del rapporto massa grassa/massa magra nell'anziano e che hanno introdotto il concetto di obesità sarcopenica (Stramaglia G et al, 2007; Baumgartner RN et al, 2004). Tale condizione, caratterizzata da un aumento corporeo della massa grassa e da una riduzione della massa muscolare causata da un'iperproduzione di citochine proinfiammatorie da parte del tessuto adiposo periviscerale, si esprime clinicamente con una riduzione della forza fisica (Stramaglia G et al, 2008).

Con l'invecchiamento infatti si determina una riduzione dell'acqua corporea totale (ATC), anche se non è ancora completamente chiaro se la perdita di acqua sia a carico prevalentemente del liquido intracellulare (LIC) o del liquido extracellulare (LEC) o di entrambi.

Queste variazioni della composizione corporea (Body composition BC) hanno implicazioni significative per la salute e per le funzioni dell'individuo e presentano una associazione con malattie croniche, immobilità, cadute, elevato rischio di fratture e declino funzionale (Janssen I, 2006).

Le evidenze scientifiche suggeriscono che le modificazioni della composizione corporea dovute all'età sono correlate ad un eccessivo introito energetico o ad una riduzione del dispendio energetico per diminuita attività fisica o ad entrambi i fattori. In aggiunta, uno scarso consumo di alcuni macro-nutrienti contribuisce alla perdita di massa ossea e muscolare (Fiatarone Singh MA, 2002).

Anche se non ci sono evidenze che l'attività fisica abituale agisca sui cambiamenti della composizione corporea, l'esercizio ha mostrato comunque un effetto positivo sulla funzione muscolare (Westertep KR & Meijer EP, 2001).

Infatti, i centri specializzati nella cura dell'anziano fortemente raccomandano e promuovono uno stile di vita molto attivo rispetto ad una vita sedentaria (Christmas C & Andersen RA, 2000).

E' quindi fondamentale nell'anziano andare oltre il calcolo del BMI, considerando sempre di effettuare la valutazione della composizione corporea, utilizzando specifiche metodiche

strumentali, quali ad esempio la DEXA che rappresenta lo strumento gold standard per la valutazione della composizione corporea (Garcia AL, et al, 2006).

Tabella 1. Variazioni della composizione corporea negli anziani

Tessuti e compartimenti corporei	Cambiamenti in percentuale
Tessuto adiposo	+35%
Muscolo scheletrico	-40%
Volume plasmatico	-8%
Acqua corporea totale	-17%
Acqua extracellulare	-40%

2. I fabbisogni nutrizionali

Le modifiche alla composizione corporea sopra elencate hanno inevitabilmente un importante impatto sul tipo di alimentazione consigliata per il soggetto anziano e su come i nutrienti introdotti con l'alimentazione vengano utilizzati

Per essere equilibrata quantitativamente e qualitativamente l'alimentazione deve tener conto di molteplici aspetti: deve valutare il dispendio energetico e lo stato di salute del soggetto, deve essere varia per appagare aspetti edonistici come il gusto e l'olfatto e deve considerare aspetti pratici per la preparazione e l'assunzione dei cibi (Russel RM et al, 1999).

Il fabbisogno energetico giornaliero stimato, che è compreso fra le 20 e le 35 kcal/kg/die, deve poi essere considerato in funzione dei fattori di attività e dei valori correttivi dei fattori di stress.

•Fattori di attività:

-1,2 paziente allettato;

-1,3 paziente deambulante.

•Fattori di stress:

-1-1,1 post-operatorio con complicanze;

-1,1-1,3 trauma;

-1,2-1,7 sepsi acuta;

-1,2 cancro;

-1,5-2,1 ustioni (Kinney JM et al, 1970).

Oltre al calcolo del fabbisogno energetico, per definire di cosa e di quanto il nostro paziente necessita bisogna effettuare anche un calcolo appropriato dei liquidi, dei lipidi, dei protidi e dei glucidi da somministrare in relazione all'eventuale stato di malnutrizione del paziente ed alla patologia da cui è affetto.

Acqua: Negli anziani l'equilibrio idrico è un fattore importante nell'omeostasi dell'organismo ancora più che per l'adulto. In generale possiamo affermare che l'anziano non è capace di risparmiare acqua e va facilmente incontro a situazioni di disidratazione con relativi problemi di ipovolemia (diminuzione della parte liquida del sangue), specie in presenza di febbre e di restrizioni di liquidi. Poiché con l'età il meccanismo della sete è poco sensibile e la disidratazione tissutale aumenta, è utile che le persone anziane senza particolari problemi di

salute bevano in abbondanza acqua minerale naturale, prevalentemente calcica o bicarbonato-calcica, in modo di coprirne i fabbisogni.

Disciolti nei liquidi corporei si trovano i minerali. Nelle cellule prevalgono ioni potassio, magnesio e fosfati, mentre nel plasma e nell'interstizio ioni sodio, cloruri e bicarbonati. Potassio, magnesio, sodio, calcio e fosfati hanno un ruolo fondamentale per i processi metabolici, per l'equilibrio cellulare (omeostasi), per la contrazione dei muscoli e per la conducibilità del sistema nervoso.

L'entrata di acqua deve compensarne a breve termine l'uscita (bilancio idrico), poiché possono risultare gravi per l'organismo bilanci anche moderatamente negativi di acqua. Basta una diminuzione dell'acqua corporea totale corrispondente al 2% del peso del corpo per determinare alterazioni della termoregolazione ed influire negativamente sul volume plasmatico, limitando l'attività e le capacità fisiche e cognitive del soggetto. Una diminuzione del 5% determina crampi; una diminuzione del 7% del peso del corpo può provocare allucinazioni e perdita di coscienza. Perdite idriche vicine al 20% del peso corporeo totale risultano incompatibili con la vita.

Oltre al bilancio negativo acuto di acqua, anche uno stato persistente di disidratazione compromette sia le capacità fisiche che quelle mentali del nostro organismo. Inoltre, aumenta il rischio di calcoli renali, il rischio di sviluppare cancro del colon e dell'apparato urinario (vescica, prostata, reni) ed il rischio di prolasso della valvola mitrale.

Un apporto insufficiente di liquidi può determinare un peggioramento della formazione strutturale meccanica (tendini, legamenti) e ipotonicità della muscolatura liscia e striata (Raimondi A, 1992; SINU, 2012).

Il fabbisogno di acqua varia molto da individuo ad individuo, e dipende inoltre anche da altri fattori ambientali, quali la composizione della dieta, il clima e l'attività fisica. In condizioni fisiologiche il turnover giornaliero di acqua corrisponde al 15% del peso corporeo nei primi mesi di vita ed al 6-10% del peso corporeo nell'adulto.

Nell'adulto un apporto giornaliero di acqua pari a 1 ml/kcal di energia spesa permette di bilanciare le perdite insensibili attraverso i polmoni e la pelle (che variano a seconda della temperatura, dell'altitudine e dell'umidità dell'aria) e di mantenere un carico di soluti tollerabile per il rene (tale carico varia in funzione della composizione della dieta ed in particolare del contenuto in proteine). Tuttavia, in considerazione della forte variabilità legata all'attività fisica, alla sudorazione ed al carico di soluti, si può aumentare la raccomandazione

a 1,5 ml/Kcal (National Research Council (US) Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, 1989).

La perdita di liquidi avviene attraverso l'urina, le feci, la sudorazione e la respirazione.

A tutte le età è importante bere prima di avere sete. Quando si ha sete c'è già un segnale di allarme, che indica un deficit di liquidi. Quando abbiamo sete, vuol dire che le varie sostanze presenti nel nostro organismo, sia nelle cellule che nei liquidi corporei, come il sangue, sono troppo concentrate e c'è bisogno di acqua per diluirle: l'acqua è quindi la bevanda che risponde meglio allo scopo. Pertanto si raccomanda di bere spesso, soprattutto a quelle persone che hanno una soglia della sensazione di sete bassa, come nel caso degli anziani.

Proteine: Per mantenere e recuperare il muscolo, gli anziani hanno bisogno di assumere un quantitativo maggiore di proteine con la dieta rispetto ai giovani; le persone anziane dovrebbero consumare un apporto medio giornaliero di proteine pari a un range di 1,0-1,2 g/kg di peso corporeo/die, valore leggermente aumentato rispetto all'adulto sano per far fronte alla progressiva perdita di massa muscolare.

In situazioni di grave stress metabolico (infezioni, fratture ossee, interventi chirurgici, piaghe da decubito, sarcopenia ecc.) il fabbisogno proteico può arrivare anche a 1,2-1,5 g/Kg/die (Campbell WW et al, 1994; Silver AJ, 2006).

È ancora fonte di controversie se un alto contenuto proteico nella dieta possa favorire o meno la compromissione della funzione renale, che è una situazione frequente nel soggetto anziano (Silver AJ, 2006; Meyer TW et al, 1983).

Pertanto è necessario privilegiare e incoraggiare l'utilizzo di alimenti con proteine ad alto valore biologico, complete degli aminoacidi essenziali, evitando però di superare il fabbisogno proteico considerando le difficoltà di smaltimento ed il possibile accumulo di metaboliti azotati (Kurpad AV & Vaz M, 2000).

La lista degli aminoacidi essenziali è identica per i giovani e per gli anziani. Non ci sono evidenze che indichino che la digestione delle proteine e la capacità di assorbimento cambi in modo significativo con l'età. L'assunzione di proteine ad assorbimento veloce possono rappresentare un vantaggio rispetto alle proteine ad assorbimento lento.

Lipidi: L'apporto dell'anziano deve ricoprire circa il 20-35% della quota calorica giornaliera. Di fondamentale importanza è la composizione dei grassi assunti. I grassi saturi di origine animale non devono superare il 10% del totale energetico; gli acidi grassi essenziali (AGE)

polinsaturi della serie omega-6, derivati dell'acido linoleico e contenuti in oli vegetali, e della serie omega-3, derivati dell'acido α -linolenico e presenti nell'olio di pesce, devono essere presenti almeno per il 2-6%; il resto è rappresentato dai monoinsaturi (SINU 2012.).

Gli acidi grassi sono indispensabili per l'assorbimento delle vitamine liposolubili e gli omega-3 hanno anche un effetto positivo sul metabolismo lipidico ed un ruolo protettivo per l'apparato cardiovascolare. Il colesterolo ed i fosfolipidi sono costituenti delle membrane cellulari ed il colesterolo è il precursore di vitamine, di ormoni e di acidi biliari svolgendo, pertanto, funzioni essenziali nel nostro organismo. Tuttavia, la mortalità e la morbilità da malattie cardiovascolari, che hanno come causa principale l'aterosclerosi, hanno indotto le Consensus Conference a redigere linee guida che prevedono una riduzione del consumo di grassi saturi per controllare i livelli di colesterolo ematico (Rondanelli M, 2014).

Negli anziani si assiste ad un incremento dei livelli di lipidi e di lipoproteine in circolo, ma diminuisce il rischio relativo dell'ipercolesterolemia. Per questo vi è un atteggiamento meno drastico nel ridurre i livelli di colesterolo nell'anziano, a meno che non si debba attuare una prevenzione secondaria (Russel RM et al, 1999; Sullivan DH & Johnson LE, 2003; Curb JD et al, 2004).

Glucidi: La quantità raccomandabile di glucidi nella dieta dell'anziano deve essere compresa tra il 45 e il 60%, preferibilmente non inferiore al 55%

L'introduzione di carboidrati nella dieta deve tener conto dell'alta prevalenza di intolleranza glucidica e di intolleranza al lattosio nella popolazione anziana. Vanno preferiti i carboidrati complessi e la percentuale di zuccheri semplici, deve restare il più possibile bassa (10-12%) per i frequenti problemi di insulino-resistenza dell'anziano e la conseguente iperglicemia.

Bisogna però ricordare che i carboidrati oltre a fornire energia, consentono un risparmio di proteine, utili per la sintesi di nuovi tessuti e prevengono inoltre l'acidosi (Russel RM et al, 1999; Sullivan DH & Johnson LE, 2003).

Fibra: Nell'anziano, a causa della riduzione sia del tono muscolare intestinale che della peristalsi, la stipsi è una condizione frequente. Per questo motivo l'apporto regolare di fibra raccomandato nella dieta dell'anziano varia tra i 20-30 g/die, con un rapporto di assunzione consigliato di 3:1 tra fibra solubile e fibra insolubile (Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber, 2002).

Per ottimizzare l'integrazione in fibre occorre raccomandarne un incremento lento e progressivo sino a raggiungere la quota ottimale, per evitare i fastidiosi disturbi legati alla distensione addominale, alla flatulenza ed al dolore addominale.

Quando si incrementa il consumo di fibre è importante garantire un adeguato apporto di liquidi che dovrà esser maggiore in chi assume diuretici ed in particolare nei mesi estivi, quando la perdita di liquidi è più elevata.

Tuttavia la quantità di fibra non deve eccedere, per limitare gli effetti indesiderati, quali flatulenza, possibile ostruzione intestinale se non adeguato apporto idrico, ed interferenza con l'assorbimento di oligoelementi, che vengono assorbiti dai fitati presenti nelle fibre stesse (Sullivan DH & Johnson LE, 2003).

I succhi enterici umani, a differenza di altri animali (ruminanti), contengono enzimi capaci di scindere solo i legami alfa presenti nell'amido e nei suoi derivati, mentre non idrolizzano i legami beta, per cui i carboidrati che hanno esclusivamente legami beta, come le cellulose, le emicellulose, non vengono digeriti e passano pressoché inalterati fino al tratto dell'ileo distale e nel colon ove possono venire fermentati dai microbi residenti.

I vari tipi di fibra alimentare possono essere suddivisi in base alla loro fonte di derivazione, alla loro solubilità, al loro grado di fermentazione ed agli effetti fisiologici prodotti sull'organismo, ma la classificazione maggiormente utilizzata riguarda la solubilità in acqua, quindi le fibre sono classificate in 2 gruppi: fibre solubili e fibre insolubili (Mudgil D & Barak S, 2013).

Negli alimenti sono sempre presenti entrambi i tipi di fibra, anche se, a seconda dell'alimento, vi è prevalenza di un tipo di fibra rispetto all'altro. Quindi nei cereali integrali è prevalente la fibra insolubile, mentre nella frutta e nella verdura e nei legumi è prevalente la fibra solubile.

Fanno parte del gruppo delle fibre non idrosolubili la cellulosa, l'emicellulosa e la lignina. Le fibre non idrosolubili presentano le seguenti caratteristiche: grado di fermentabilità molto basso; elevata proprietà igroscopica; incremento della massa e pastosità fecale; aumentato transito intestinale. Agiscono prevalentemente nella parte terminale del digerente.

Fanno parte del gruppo delle fibre idrosolubili le mucillagini, le pectine, le gomme e i galattomannani.

Le fibre idrosolubili presentano le seguenti caratteristiche: grado di fermentabilità elevato; fermentazione localizzata prevalentemente nel cieco e nel colon destro; incremento, ma non significativo, della massa fecale per aumento della massa batterica; produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA) acetato (60%), propionato (25%), butirato (15%); produzione di gas

come idrogeno e anidride carbonica; produzione di composti minori: indoli, fenoli, amine, lattato; rallentamento della velocità di transito intestinale.

Agiscono prevalentemente nel primo tratto del digerente.

Le fibre solubili inglobano nel gel che formano a livello intestinale acidi grassi, fosfolipidi e colesterolo e conseguentemente ne diminuiscono l'assorbimento. Inoltre, possono legarsi agli acidi biliari sequestrandoli e aumentandone l'escrezione.

Una maggiore eliminazione di acidi biliari provoca una sintesi de novo di questi composti: tutto ciò avviene a spese del colesterolo circolante, il cui livello ematico si abbassa di conseguenza. Infine, il gel che si forma lega i sali biliari nel lume dell'ileo con mancata formazione di micelle necessarie per l'assorbimento di colesterolo e grassi.

Alcune fibre necessariamente fermentabili, che giungono indigerite a livello del colon, favoriscono lo sviluppo per un numero limitato di batteri probiotici (lattobacilli e bifidobatteri) modificando il microbiota del colon a favore della flora batterica utile e producendo effetti luminali o sistemici in grado di migliorare lo stato di salute del soggetto anziano, e possono essere considerate prebiotici.

Vitamine e minerali: è probabile che con l'età possa determinarsi un aumento nella necessità di vitamine e minerali causato da un assorbimento intestinale meno efficiente, un ridotto introito calorico, l'uso di alcuni farmaci e una più frequente condizione di malattia. Per esempio, come evidenziato dall'ultima revisione dei LARN, dovrebbero essere aumentati i fabbisogni per le vitamine B12, D e il calcio, mentre per la vitamina A dovrebbero essere ridotti (SINU, 2012).

Nella tabella 2 vengono riassunte le principali manifestazioni cliniche da deficit vitaminico (Wilson JD, 1998; Falchuk KH, 1998).

Particolarmente significativo nell'anziano è il deficit di vitamina D. L'osteoporosi involutiva o senile di tipo II, che si verifica al di sopra dei 70 anni, ha infatti come primum movens il deficit di vitamina D, legato alla riduzione dell'esposizione ai raggi solari frequente nella popolazione anziana (Vergani C & Lucchi T, 2006).

Per riassumere quanto specificato in questo capitolo, alcuni autori hanno elaborato una piramide alimentare modificata per gli ultrasessantenni che tiene conto di alcune caratteristiche peculiari della popolazione anziana (figura 1) (Lichtenstein AH et al, 2008; Russel RM et al, 1999).

La piramide alimentare per il soggetto anziano tende a privilegiare per ciascuna categoria di alimenti quelli con un più alto rapporto quantitativo tra nutrienti e calorie; ha infatti una base più stretta, e ciò riflette la minore richiesta energetica.

Enfatizza l'uso di alimenti a maggiore densità nutritiva, l'apporto di fibra e l'introduzione di acqua e raccomanda moderazione nell'assunzione di grassi, dolci, sale e alcolici.

La bandierina al vertice della piramide evidenzia la necessità di integrazione di particolari micronutrienti come il calcio, la vitamina D e la vitamina B12.

Figura 1: piramide alimentare per la popolazione anziana

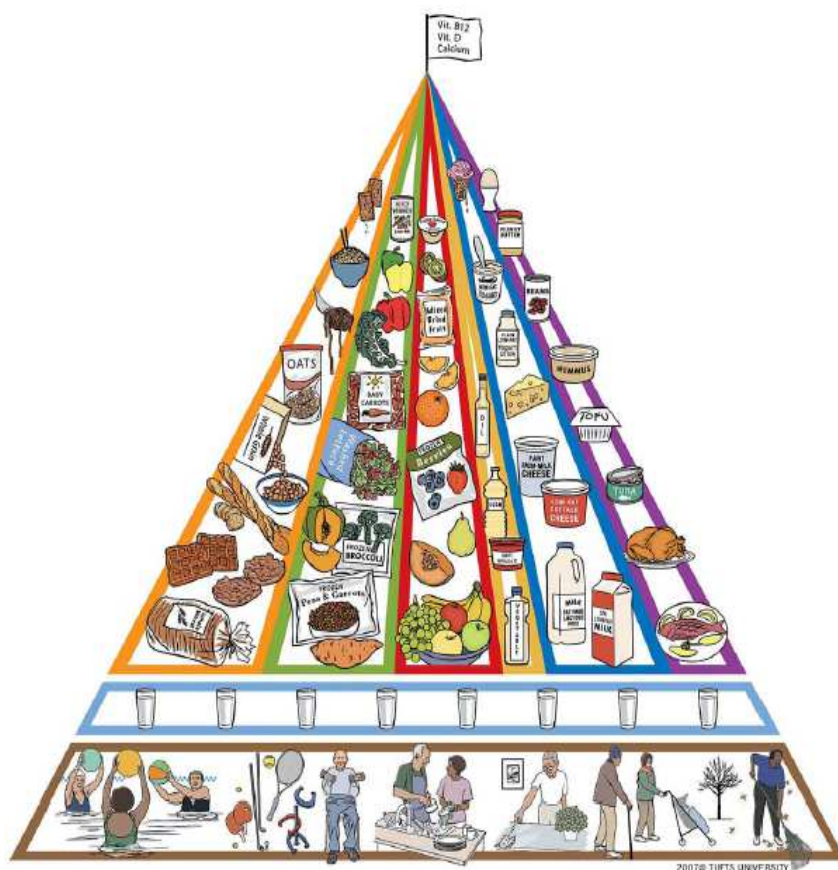


Tabella 2. Manifestazioni cliniche da carenza di vitamine e minerali nel soggetto anziano.

Vitamina/Minerale	Manifestazione clinica
Vitamina A (Retinolo)	Carenza rara. Cecità notturna, ipercheratosi follicolare, ritardata cicatrizzazione delle ferite, possibile aumento del rischio di neoplasie cutanee, soprattutto da deficit di β carotene (precursore della vitamina A).
Vitamina D3 (Colecalciferolo) Vit. D2 (Ergocalciferolo)	Carenza frequente, anche iatrogena (anticonvulsivanti, barbiturici). Osteomalacia con dolori ossei e muscolari, astenia e rischio di fratture.
Vitamina E (Tocoferolo)	Carenza rara. Segni neurologici aspecifici (areflessia, \downarrow sensibilità propriocettiva e vibratoria, disturbi dell'andatura). Diminuita protezione antiossidante: può aumentare il rischio di degenerazione neoplastica.
Vitamina K2 (Menachinone) K1 (Fitonadione) K3 (Menadione)	Carenza spesso iatrogena (anticoagulanti e antibiotici). Emorragie gastroenteriche, sottocutanee e intracraniche.
Vitamina B1 (Tiamina)	Carenza da abuso alcolico, da malnutrizione (beriberi) e iatrogena (emodialisi, dialisi peritoneale, diuretici ad alte dosi). Cefalea, nausea, debolezza muscolare, depressione, irascibilità, neuropatia periferica. Sindrome di Wernicke-Korsakov (oftalmoplegia, nistagmo, atassia, amnesia, confusione, confabulazione).
Vitamina B2 (Riboflavina)	Carenza da malnutrizione. Cheilosi, stomatite, glossite; dermatite seborroica; neuropatia periferica, cataratta ariboflavinica.
Vitamina B6 (Piridossina)	Carenza spesso iatrogena (isoniazide, cicloserina). Nausea, vomito, anoressia, glossite, astenia, debolezza muscolare, neuropatia periferica, capogiro, confusione, depressione, dermatite seborroica.
	Carenza da malnutrizione. Anemia perniciosa di facile

Vitamina B12 (Cobalamina)	riscontro negli anziani (deficit di fattore intrinseco da gastrite atrofica), anoressia, glossite, neuropatia periferica, atassia, depressione, demenza.
Acido folico	Carenza da malnutrizione e da abuso alcolico. Anemia megaloblastica, leucopenia, trombocitopenia, anoressia, glossite, malassorbimento.
Niacina	Carenza da malnutrizione (pellagra). Disfagia, glossite, stomatite, diarrea, dolore addominale, proctite, dermatite, vaginite, depressione, demenza.
Biotina	Carenza da malnutrizione. Congiuntivite, dermatite periorale, sintomi gastroenterici e neuromuscolari specifici.
Acido pantotenico	Carenza rara. Neuropatia aspecifica (degenerazione mielinica).
Vitamina C (Acido ascorbico)	Carenza da malnutrizione (scorbuto) e fumo. Petecchie con porpora, emorragie, gengivite, ipercheratosi follicolare, anemia, ritardata cicatrizzazione delle ferite, irritabilità.
Calcio	Carenza frequente. Osteoporosi, osteomalacia, aumentato rischio di fratture.
Ferro	Carenza frequente. Anemia microcitica, ipocromica. Astenia, apatia, glossite, disfagia, fragilità ungueale.
Zinco	Carenza da malnutrizione ed abuso alcolico. Ritardata cicatrizzazione delle ferite, diminuita immunocompetenza, alterazioni della sensibilità gustativa, anoressia, diarrea, diminuzione della libido.
Selenio	Carenza rara. Cardiomiopatia, scompenso cardiaco congestizio, degenerazione muscolatura striata.
Rame	Carenza da malnutrizione. Anemia, ipotermia, deterioramento cognitivo

3. Sarcopenia

3.1. Definizione ed epidemiologia

La sarcopenia (dal greco: carenza di carne), è definita dall'European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) (Cruz-Jentoft AJ et al, 2010) come una sindrome caratterizzata dalla perdita progressiva e generalizzata di massa e forza muscolare.

La prima definizione di sarcopenia venne posta nel 1931: era indicata come una perdita di massa muscolare, in particolare a livello di mani e piedi ma è solo nel 2009 che viene data da Pahor et al una definizione più completa, intesa come riduzione della massa muscolare, accumulo di grasso nel muscolo, riduzione della forza muscolare e modificazione dei marcatori biologici (Pahor M et al, 2009).

La sarcopenia è un fenomeno fisiologico che generalmente inizia attorno ai 50 anni.

Abellan van Kan GJ, nel 2009, ha indagato la prevalenza della sarcopenia nella popolazione tra i 60-70 anni: tale prevalenza è compresa in un range pari al 5-13% in questa fascia di età, ma aumenta fino al 11-50% nei soggetti con un'età superiore agli 80 anni (Abellan van Kan G, 2009).

Nel 2000 la popolazione con età superiore a 60 anni, affetta da una condizione di sarcopenia, era stimata pari a circa 600 milioni. Una cifra destinata a raddoppiare nel 2025 visto l'aumento della fascia anziana della popolazione e stabilizzarsi nel 2050 intorno ai 2 miliardi (Abellan van Kan G, 2009).

Secondo il risultato di questi studi epidemiologici risultano particolarmente esposti al rischio di sarcopenia gli individui sedentari, con uno scarso apporto alimentare sia proteico sia di vitamina D, affetti da malattie croniche e fumatori.

In ogni caso, è difficile stimare la prevalenza della sarcopenia, soprattutto a causa delle difficoltà di valutazione della massa muscolare.

3.2 Eziopatogenesi e fattori di rischio

Nella maggior parte dei pazienti anziani, l'insorgenza della sarcopenia è multi-fattoriale, come illustrato nella figura 2 (Cruz-Jentoft AJ, 2010).

Come avviene in tutti i tessuti corporei, le proteine muscolari sono sottoposte ad un processo continuo di sintesi e di degradazione; nell'adulto sano (con un apporto proteico adeguato al suo fabbisogno) questo turnover risulta essere in equilibrio, consentendo di mantenere un bilancio azotato ed una massa muscolare costanti (Frontera WR et al, 2000; Delmonico MJ et al, 2007).

Nel corso dell'invecchiamento (a cominciare già dai 40 anni) si assiste al disequilibrio di tale processo e la degradazione proteica muscolare tende a divenire più elevata della sintesi. Diversi studi hanno riportato come la sintesi proteica muscolare nei soggetti anziani sia ridotta del 30% rispetto ai giovani con un notevolmente aumentato del catabolismo, soprattutto a causa della mancanza di attività fisica (Paddon-Jones D, 2006).

Si arriva ad una perdita progressiva di massa muscolare pari a circa lo 0,5-2% per anno e quando questa scende al di sotto del limite di 10,75 kg/m² nell'uomo e di 6,75 kg/m² nella donna si vengono a creare quelle condizioni tipiche della sarcopenia primaria.

Infine, nel muscolo aumenta il contenuto di tessuto adiposo e di connettivo fibroso.

L'eziopatogenesi della sarcopenia primaria vede quindi come causa principale l'alterazione del metabolismo proteico a livello del tessuto muscolare, nel quale i processi proteolitici non sono accompagnati da un'adeguata proteino-sintesi all'interno del fisiologico turnover.

A questo fenomeno primario possono associarsi altri fattori di natura ormonale, funzionale, nutrizionale, ciascuno dei quali può contribuire in misura più o meno importante, a seconda del sesso, dell'età e delle condizioni cliniche del paziente, nella progressione della patologia stessa, definendo successivamente il quadro di sarcopenia secondaria (Robbins and Cotran, 2010).

Le principali cause identificate sono quindi di natura metabolica, infiammatoria, ormonale, neurologica, nutrizionale e funzionale.

Cause metaboliche

Il metabolismo proteico varia, nel corso della giornata, in funzione dei pasti. Si è osservato che le proteine corporee vengono sintetizzate principalmente nella fase post-prandiale e successivamente perse nel corso della fase di post-assorbimento. In conseguenza di ciò, al fine di mantenere costante il livello di massa magra, la perdita di proteine muscolari nella fase di post-assorbimento dovrebbe essere necessariamente compensato da un identico recupero proteico durante la fase post-prandiale. Nell'uomo adulto si è osservato che l'assunzione alimentare risulta essere associata ad un aumento della sintesi proteica e ad una diminuzione della degradazione delle proteine e che l'apporto aminoacidico è in grado di svolgere un ruolo determinante nel processo di sintesi proteica durante la fase post-prandiale (Migliore L & Coppedè F, 2009; Suttanon P et al, 2013).

Nel soggetto anziano, al contrario, si è riscontrata un'alterazione dei fenomeni che regolano il metabolismo proteico nell'intervallo tra la fase di post-assorbimento e quella post-prandiale, facendo sì che l'assunzione alimentare abbia una minore capacità d'inibire la proteolisi in entrambi i sessi (Migliore L & Coppedè F, 2009; Suttanon P et al, 2013).

È molto probabile che nel soggetto anziano si assista ad una minore disponibilità aminoacidica dopo il pasto e che questa sia dovuta ad una maggiore estrazione splancnica (fegato e tubo digerente) degli aminoacidi, capace di determinare una loro minore disponibilità a livello muscolare, come dimostrato nel modello animale (Gauthier S, 2012; Bateman RJ et al, 2006).

Non bisogna inoltre dimenticare che nel soggetto anziano si assiste alla riduzione dello stimolo esercitato dall'aminoacido essenziale leucina sulla proteo-sintesi muscolare, il fenomeno della "resistenza anabolica"; per ottenere una sensibilità muscolare (utile alla sintesi proteica), analoga a quella presente nel soggetto adulto, è indispensabile un apporto quantitativamente e qualitativamente (percentuale di leucina) maggiore di aminoacidi, come già dimostrato nel modello animale (Dardevet D et al, 2012).

Cause infiammatorie

Con aumento del tessuto adiposo, al quale si assiste con l'avanzare dell'età, si ottiene un aumento del tasso ematico di alcune citochine, in particolare tumor necrosis factor-alfa (TNF- α), interleuchina-1 (IL-1) e interleuchina-6 (IL-6), i cui livelli circolanti possono aumentare da 2 a 4 volte nel corso dell'invecchiamento (Krabbe KS et al, 2004).

Questo porta l'organismo di un soggetto anziano verso una situazione d'infiammazione cronica, definita "inflammaging", la quale inibisce la sintesi proteica muscolare .

Recentemente, è stato dimostrato che il muscolo scheletrico produce una varietà di molecole denominate "miochine", che agiscono in modo autocrino, paracrino ed endocrino (Pedersen BK, 2011).

Le più importanti tra queste sono le interleuchine IL-6, IL-8, IL-15, Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), e Leukemia Inhibitory Factor (LIF). L'attività fisica ha un ruolo favorevole nel delicato equilibrio tra miochine, che è decisamente spostato verso uno stato pro-infiammatorio da uno stile di vita sedentario: l'infiammazione peggiora la sarcopenia e favorisce l'accumulo di grasso nel contesto del muscolo scheletrico, creando un circolo vizioso che riduce la forza muscolare e favorisce l'inattività muscolare (Pedersen BK, 2009).

Nel corso degli ultimi decenni, molti studi hanno mostrato un effetto protettivo di una regolare attività fisica sulla morbilità e mortalità (Nocon M et al, 2008); le miochine rilasciate dal muscolo durante la contrazione, creano un ambiente anti-infiammatorio sistemico ed esercitano effetti endocrini sul grasso viscerale e sul metabolismo glucidico e lipidico, che potrebbe spiegare in parte i benefici legati all'esercizio (Pratesi A et al, 2013).

Stress ossidativo

La produzione mitocondriale di specie reattive dell'ossigeno aumenta nel corso dell'invecchiamento e le difese antiossidanti sono sempre meno efficienti. Questo comporta crescenti fenomeni di stress ossidativo e perossidazione lipidica che danneggiano le fibre muscolari (Marzani B et al, 2004).

I danni cellulari da radicali liberi colpiscono prevalentemente le fibre muscolari di tipo I (ossidative) come conseguenza della maggior presenza di mitocondri in questo tipo di fibre, ma non si esclude che tali danni possano interessare anche le fibre di tipo II (Rossi P et al, 2008).

Cause ormonali

Nell'uomo il 20% dei soggetti oltre i 60 anni ed il 50% di quelli oltre gli 80 anni presentano un quadro ipofunzionale del testosterone responsabile di una riduzione della massa muscolare (Briacon D et al, 2004; Fitzpatrick LA, 2002).

Nella donna l'abbassamento dei livelli funzionali di estradiolo, durante la menopausa, è un

elemento che contribuisce alla comparsa della sarcopenia (Lips P, 2001).

Anche la sintesi del Growth Hormon (GH), e dell'Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), ormoni a ben noto effetto anabolizzante, si riduce in modo progressivo nei due sessi con il procedere dell'età (dopo i 30 anni si assiste ad un calo dei suoi livelli plasmatici pari a circa il 15% per ogni decennio) (Van Staa TP et al, 2000).

Inoltre l'aumento dell'età è stato associato ad elevati livelli serali di cortisolo negli uomini. Questa esposizione ai glucocorticoidi con l'invecchiamento, da parte di diversi tessuti, può contribuire all'accumulo di grasso viscerale età-dipendente (Nass R & Thorner MO, 2002), cui consegue un aumento dello stato infiammatorio per aumentata sintesi delle citochine proinfiammatorie.

Cause neurologiche

La perdita di neuroni è un processo progressivo, irreversibile che aumenta con il progredire dell'età (Malafarina V et al, 2012).

La neurodegenerazione età-correlata può influenzare negativamente sull'attività della muscolatura scheletrica. Anche la corteccia motoria, il midollo spinale, i neuroni periferici e le giunzioni neuromuscolari sono influenzate in modo negativo dall'età. Nello specifico: si può avere una sostanziale riduzione dei motoneuroni alfa; ci può essere una perdita preferenziale di quei motoneuroni che forniscono unità motorie veloci; si manifestano cambiamenti nelle guaine mieliniche delle fibre nervose periferiche; vi può essere un aumento delle dimensioni delle aree terminali delle giunzioni neuromuscolari, ma con una riduzione del loro numero e delle vescicole sinaptiche (Lang T et al, 2010; Kullberg S et al, 1998).

Questo processo neuropatico cronico, in associazione ai cambiamenti morfologici muscolari, contribuisce nell'anziano a ridurre il numero di fibre muscolari e la massa muscolare (Doherty TJ et al, 1993).

Cause nutrizionali

Circa il 40% dei soggetti con età superiore ai 70 anni non assume le attuali RDA (Recommended Dietary Allowances) relative all'apporto proteico minimo consigliato (0,8 g/kg/die) (Tarantino U et al, 2007).

Il fenomeno è senza dubbio secondario a numerosi fattori, ciascuno dei quali può esercitare un peso variabile (ad esempio difficoltà alla masticazione di alimenti contenenti proteine o una diminuita capacità digestiva e assorbitiva).

È necessario aggiungere che, sulla base degli studi oggi presenti in letteratura, si rende quanto mai indispensabile una riconsiderazione delle attuali recommended dietary allowance (RDA) che definiscono l'apporto proteico nella popolazione anziana, in quanto, per un insieme di motivi (molti dei quali già esaminati), essi risultano spesso inadeguati sia in termini quantitativi che qualitativi (ruolo specifico di alcuni aminoacidi essenziali e di quelli condizionatamente essenziali; differente velocità di assimilazione delle diverse proteine e quindi concetto di proteine veloci e lente) (Reginster JY & Burlet N, 2006; Albanese CV & Passariello R, 2009; Bonura F, 2009; Varesini G et al, 2008).

La FAO e l'OMS indicano un apporto di sicurezza pari a 0,75 g di proteine di elevata qualità per ogni chilo di peso corporeo, ma per il soggetto anziano, al fine di evitare il problema sarcopenia, è stato proposto di aumentare questo valore a 1,25 g/kg di peso/die, tenendo comunque conto della funzione renale che molto spesso si riduce con l'età (Rondanelli M, 2014).

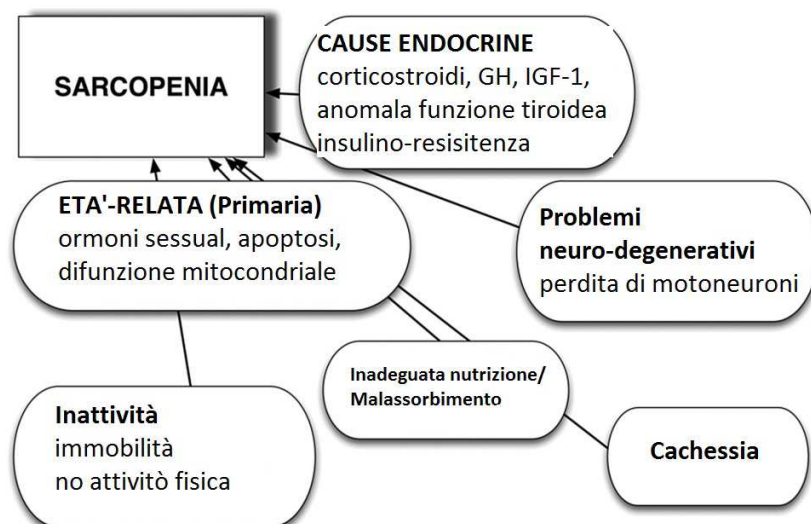
Lo stato di nutrizione può essere influenzato negativamente anche dall'assunzione di alcuni farmaci, che fanno frequentemente parte delle polifarmacoterapie dell'anziano.

Cause funzionali

Con il procedere dell'età si riduce il livello d'attività fisica capace di mantenere attivi gli stimoli utili alla sintesi proteica muscolare (Bailey DA et al, 2000).

L'inattività aumenta il catabolismo proteico, riduce la capacità di reclutamento muscolare e facilita i fenomeni di denervazione conducendo i soggetti ad un più rapido declino delle abilità motorie. Da questo punto di vista l'attività fisica pregressa (soprattutto con carichi di forza/potenza) sembra possa costituire un fattore di protezione per la sarcopenia, rallentandone insorgenza ed evoluzione (Zacker RJ, 2006).

Figura 2. Meccanismi della sarcopenia



3.3. Diagnosi

Per poter diagnosticare la sarcopenia e determinarne la severità, devono essere valutate la massa muscolare, la forza/resistenza muscolare e le capacità funzionali del soggetto; queste valutazioni possono essere effettuate attraverso l'utilizzo di metodiche strumentali e cliniche (molte delle quali anche ambulatoriali).

Valutazione della massa magra

Per la misura effettiva della massa magra sono due le metodiche strumentali da prediligere:

- La tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica nucleare (RM) rappresentano il gold standard nella misurazione della massa muscolare nell'ambito della ricerca scientifica, a causa degli alti costi di attività;
- la DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry), con il medesimo livello qualitativo d'indagine della TC e della RM, offre il vantaggio di poter essere uno strumento gold standard da utilizzare anche clinicamente per i minor costi rispetto a TC e RM.

In caso di impossibilità all'utilizzo di queste metodiche è possibile ricorrere a valutazioni più semplici e meno costose che permettono di ottenere una stima della massa magra:

L'analisi di bioimpedenza o BIA (Bioelectric Impedance Analysis) e l'analisi vettoriale (BIVA) sono in grado di valutare accuratamente l'entità della massa cellulare, del suo livello d'idratazione e del volume di massa grassa. La metodica offre risultati altamente riproducibili che, quando ottenuti in condizioni standard (livello d'idratazione), sono correlabili a quelli della risonanza magnetica (Janssen I et al, 2002).

Per questi motivi nella valutazione clinica quotidiana del paziente la BIA può essere considerata un' alternativa alla DEXA.

Le misure antropometriche sono basate sulla misurazione dell'area muscolare del braccio, della coscia e del polpaccio, consentendo una valutazione della massa muscolare del paziente.

Per esempio, una circonferenza del polpaccio minore di 31 cm viene associata ad un possibile stato di disabilità (Abellan van Kan G, 2009). Tuttavia nel soggetto anziano possono essere presenti significative variazioni sia dei depositi adiposi, che di 'elasticità cutanea; inoltre non esiste un numero sufficientemente ampio di studi di validazione relativo ai dati antropometrici in questo range d'età. Queste misurazioni inoltre sono strettamente operatore-dipendenti.

Valutazione della forza/resistenza muscolare

La misurazione della forza muscolare isometrica della mano avviene mediante l'utilizzo dell'handgrip: un dinamometro che è in grado di valutare oggettivamente i parametri fisici della funzione muscolare a livello degli arti superiori.

Alcuni autori hanno individuato una correlazione lineare tra la forza muscolare misurata con l'handgrip e l'incapacità a svolgere alcune delle normali mansioni giornaliere (Paddon-Jones D, 2006). Nello studio InChianti è stato definito come critico nell'uomo un valore inferiore a <30 kg, nella donna inferiore a <20 kg (Laurentani F et al, 2003).

Misura della capacità funzionale

Sono noti diversi test per la valutazione di questo parametro:

La cosiddetta SPPB (Short Physical Performance Battery) comprende un insieme di test atti a valutare l'equilibrio posturale (capacità di mantenersi in posizione eretta per 30 secondi poggiando il peso del corpo su di un solo piede oppure ponendo il tallone di un piede davanti all'alluce dell'altro), la velocità del passo (tempo impiegato a percorrere un percorso lineare di 6 m), la forza e la resistenza (tempo impiegato a sollevarsi dalla sedia e ritornare nella posizione seduta per cinque volte) (Working Group on Functional Outcome Measures for Clinical Trials, 2008).

- La misura della velocità del passo (Buchner DM et al, 1996) può rappresentare da sola un parametro con un alto valore predittivo prognostico di alterazione funzionale del paziente sarcopenico (Roth SM et al, 2000; Van Den Beld AW et al, 2000). Consiste nel misurare la velocità in cui si compie un percorso di 6 metri. Se la velocità è inferiore a 0,8 metri al secondo si presuppone una alterazione funzionale, se invece è superiore a 0,8 metri al secondo viene considerata una funzione adeguata.
- Un altro test utile per valutare la funzione è il timed get-up-and-go (TGUG): il test misura il tempo necessario per completare una serie di attività legate alla funzione. TGUG richiede al soggetto di alzarsi da una sedia, camminare per 3 metri, girare intorno, tornare e sedersi di nuovo. Serve quindi come valutazione di equilibrio dinamico. La funzione di bilanciamento è osservata e segnata su una scala di cinque punti (Mathias S et al, 1986). Se per compiere questa attività vengono impiegati dieci secondi o meno, ciò indica una normale mobilità; 11-20 secondi sono nei limiti della norma per i pazienti anziani e disabili fragili; un tempo maggiore di 20 secondi, indica che la persona ha bisogno di aiuto esterno e richiede un ulteriore approfondimento. Un punteggio pari o superiore a 14

secondi suggerisce che la persona può essere soggetta a cadute. In alternativa, un pratico valore di cut-off per definire il normale rispetto delle prestazioni è 12 secondi. Valori maggiori indicano disabilità.

Utilizzando le metodiche appena illustrate la diagnosi di sarcopenia può quindi essere eseguita ambulatorialmente attraverso un preciso percorso diagnostico che è stato definito dal Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People riportato nella figura 3.

La diagnosi di sarcopenia viene effettuata quando si riscontra una riduzione della massa muscolare associata a riduzione della forza muscolare o riduzione della performance fisica.

L'EWGSO (European Working Group on Sarcopenia in Older People) categorizza questa patologia in tre livelli: presarcopenia (perdita di massa muscolare); sarcopenia (perdita di massa muscolare e forza muscolare o rendimento fisico); sarcopenia severa (perdita di massa muscolare, forza muscolare e rendimento fisico). Riconoscere le fasi della sarcopenia può aiutare nella scelta dei trattamenti riabilitativi e nella definizione degli obiettivi per un recupero adeguato (Cruz-Jentoft AJ et al, 2010).

In letteratura sono inoltre presenti altri indici che permettono di identificare la presenza di sarcopenia.

Ad esempio può essere utilizzato il relative skeletal muscle mass (RSMM); il calcolo di questo indice è il seguente:

RSMM: Tessuto magro misurato con DXA (kg) (BRACCIO SX + DX + GAMBA SX + DX) / altezza(m)².

Si considerano, secondo il Rosetta study (Baumgartner RN et al, 1998), i seguenti cut off, riferiti a 2 deviazioni standard in meno rispetto alla media del giovane adulto:

si effettua diagnosi di sarcopenia quando i valori di RSMM sono inferiori a 7,25 kg/m² per l'uomo e a 5,5 kg/m² per la donna.

Nel caso in cui non vi sia la possibilità di effettuare la misura della massa muscolare con DXA è possibile utilizzare un altro indice, lo Skeletal Muscle Mass Index (SMI) che esprime la massa muscolare (MM), ricavata mediante apposita formula, come percentuale del peso corporeo (SMI%= MM/PC x 100).

$$MM \text{ (in Kg)} = [(h^2/R \times 0,401) + (\text{sexo} \times 3,825) + (\text{età} \times -0,071)] + 5,102$$

dove h è l'altezza del soggetto espressa in centimetri; R è la resistenza in ohms ottenuta tramite impedenziometria; per il sesso, l'uomo = 1 e la donna = 0 e l'età è espressa in anni (Janssen I et al, 2000; Janssen I et al, 2002).

I cutoff del SMI identificati sono i seguenti:

Uomini:

Elevato rischio sarcopenia: $<8,50 \text{ kg/m}^2$

A rischio sarcopenia: tra $8,51$ e $10,75 \text{ kg/m}^2$

Non a rischio sarcopenia: $>10,76 \text{ kg/m}^2$

Donne:

Elevato rischio sarcopenia: $<5,75 \text{ kg/m}^2$

A rischio sarcopenia: tra $5,76$ e $6,75 \text{ kg/m}^2$

Non a rischio sarcopenia: $>6,76 \text{ kg/m}^2$ 88.

Secondo questo schema, in un soggetto anziano la diagnosi di sarcopenia si pone quando il suo SMI è una o due deviazioni standard al di sotto della media della popolazione di riferimento.

Se consideriamo SMI% ($\text{MM/PC} \times 100$) i valori di cut-off riportati sono

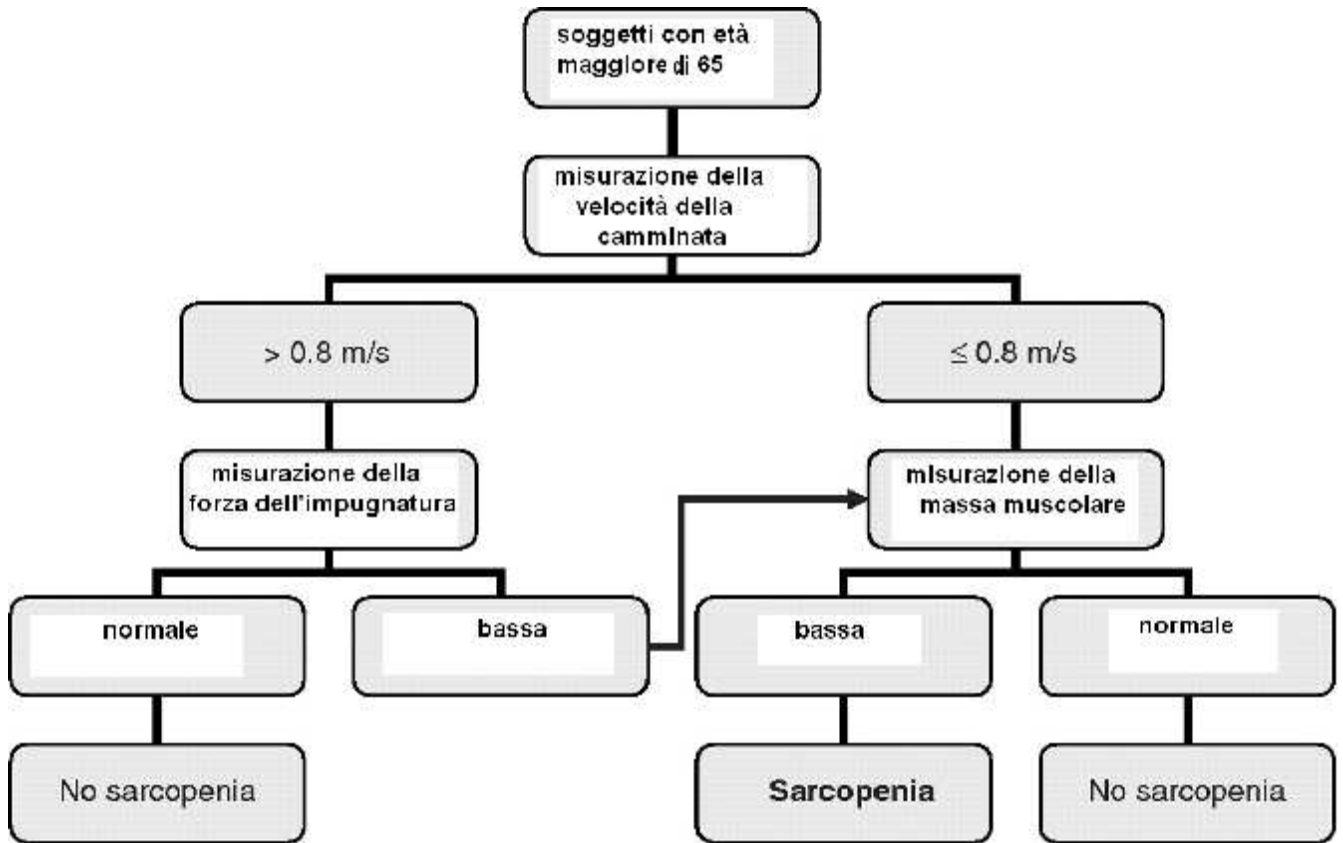
- pari a 37% e 31% per gli uomini,
- 28% e 22% per le donne.

Per quanto riguarda gli esami ematochimici, non esistono indici specifici. In alcuni casi possono essere di aiuto alcune determinazioni:

- albumina: è il miglior indice di malnutrizione e quindi anche di rischio sarcopenico;
- testosterone: la determinazione del testosterone libero è indice di ridotta funzionalità gonadica maschile, associata a minor massa muscolare;
- GH: un abbassamento dei livelli di GH è associato all'aumento di sarcopenia;
- DHEA'S: principale ormone a basso potere androgenico corticosurrenale la cui diminuzione è associata a sarcopenia (Rondanelli M, 2014).

In letteratura sono presenti anche altri indici, oltre quelli già citati, che permettono di identificare la presenza di sarcopenia. Un elenco completo è rappresentato nella Figura 4 (Cruz-Jentoft AJ et al, 2010).

Figura 3. Algoritmo utilizzato per la diagnosi di sarcopenia proposto dall'European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP).



*Devono essere prese in considerazione tutte le comorbidità individuali

+Questo algoritmo può essere applicato anche ai soggetti giovani \ adulti

Figura 4. Diagnosi di sarcopenia: variabili misurabili e punti di cut-off

Criterion	Measurement method	Cut-off points by gender	Reference group defined
Muscle mass	DXA	Skeletal muscle mass index (SMI) (Appendicular skeletal muscle mass/height ²) Men: 7.26 kg/m ² Women: 5.5 kg/m ²	Based on 2 SD below mean of young adults (Rosetta Study)
		SMI (ASM/height ²) Men: 7.25 kg/m ² Women: 5.67 kg/m ²	Based on sex-specific lowest 20% of study group (<i>n</i> = 2,976)
		SMI (ASM/height ²) Men: 7.23 kg/m ² Women: 5.67 kg/m ²	Based on sex-specific lowest 20% (Health ABC Study)
		Residuals of linear regression on appendicular lean mass adjusted for fat mass as well as height Men: -2.29 Women: -1.73	Based on sex-specific lowest 20% (Health ABC Study)
Muscle mass	BIA	SMI using BIA predicted skeletal muscle mass (SM) equation (SM/height ²) Men: 8.87 kg/m ² Women: 6.42 kg/m ²	Based on 2 SD below mean of young adults in study group (<i>n</i> = 200)
		SMI using absolute muscle mass, not appendicular muscle mass (absolute muscle mass/height ²) Men: Severe sarcopenia ≤8.50 kg/m ² Moderate sarcopenia 8.51–10.75 kg/m ² Normal muscle ≥10.76 kg/m ² Women: Severe sarcopenia ≤5.75 kg/m ² Moderate sarcopenia 5.76–6.75 kg/m ² Normal muscle ≥6.76 kg/m ²	Based on statistical analysis of NHANES III data on older (≥60 years) men and women
Muscle strength	Handgrip strength	Men: <30 kg Women: <20 kg Men: BMI ≤ 24 ≤ 29 kg BMI 24.1–26 ≤ 30 kg BMI 26.1–28 ≤ 30 kg BMI > 28 ≤ 32 kg Women: BMI ≤ 23 ≤ 17 kg BMI 23.1–26 ≤ 17.3 kg BMI 26.1–29 ≤ 18 kg BMI > 29 ≤ 21 kg	Based on statistical analysis of study group (<i>n</i> = 1,030) Based on quartiles of study group (<i>n</i> = 5,317)

4. Trattamento della sarcopenia

L'approccio più razionale da seguire per rallentare il decorso della sarcopenia vede l'abbinamento di un'adeguata nutrizione, eventualmente associata all'utilizzo di integratori e/o alimenti a fini medici speciali, e di un regolare programma di esercizio fisico. Trattamenti alternativi basati su somministrazioni di preparati ormonali, quali testosterone, GH, estrogeni trovano ancora qualche controversia e richiedono ulteriori indagini (Von Haehling S et al, 2012).

4.1. Aminoacidi

È noto che gli aminoacidi, tra cui gli aminoacidi a catena ramificata (branch chain aminoacids, BCAA), sono necessari per il mantenimento della salute muscolare negli anziani. (Millward DJ, 2008).

La biodisponibilità degli aminoacidi gioca un ruolo determinante nella regolazione del metabolismo proteico del soggetto anziano ed è per questo motivo che una terapia nutrizionale deve necessariamente essere tesa al recupero della sensibilità muscolare ed allo stimolo proteino-sintetico indotto dagli aminoacidi.

La lista degli aminoacidi essenziali è identica per i giovani e per gli anziani.

Diversamente da molti altri aminoacidi, i BCAA sono metabolizzati solo nel muscolo scheletrico, poiché l'enzima BCAA amino-transferasi non è presente nel fegato, sito in cui sono presenti gli enzimi di tutti gli altri aminoacidi in concentrazioni massime.

Gli aminoacidi a catena ramificata (leucina, isoleucina e valina) rappresentano il 14-18% del totale degli aminoacidi presenti nei muscoli scheletrici (Riazi R et al, 2003).

A riposo, BCAA, ed in particolare la leucina, hanno un effetto anabolico attraverso una maggiore sintesi proteica e/o un tasso ridotto di degradazione proteica, risultando in un bilancio proteico muscolare netto positivo (Kimball SR. & Jefferson LS, 2006).

È stato suggerito che la leucina, che è un aminoacido essenziale appartenente alla categoria degli aminoacidi ramificati (insieme alla valina ed alla isoleucina, il cui fabbisogno medio è di 40 mg/Kg/die), sia fondamentale per mantenere un sano tessuto muscolare ed epatico. Le principali fonti di leucina sono: pollo e pesce, ricotta, lenticchie, sesamo, arachidi.

È stato riconosciuto che il contenuto di leucina nei pasti è un importante regolatore della sintesi proteica muscolare e produce diversi risultati sulla composizione corporea a lungo termine (Norton LE, 2010).

Ulteriori ricerche hanno comparato l'assunzione di 10 grammi di proteine con il 18% di leucina, con una bevanda simile contenente il 35% di leucina, concludendo che la bevanda con la concentrazione più alta di leucina determina una maggiore segnalazione della sintesi proteica, traducendosi in un'inferiore catabolismo muscolare ad opera del cortisolo (Glynn EL et al, 2010).

Anche se la leucina viene descritta come il più importante tra i tre BCAA, viene suggerito di non scartare isoleucina e valina. Anche se questi ultimi non hanno dimostrato le stesse potenzialità, tali componenti svolgono un ruolo fondamentale come elementi di "costruzione". Infatti, l'ipertrofia indotta dalla leucina scende a zero non appena la presenza degli altri due BCAA è scarsa: non importa quanta leucina viene messa a disposizione per i muscoli, poiché la crescita muscolare non si verifica se gli altri due BCAA scendono al di sotto di un certo livello (Layman DK, 2003).

4.2. Le proteine del siero del latte

Circa 300-600 grammi di proteine muscolari sono quotidianamente degradate e risintetizzate nelle 24 ore, con completo rinnovo del pool delle proteine muscolari del corpo umano che avviene ogni 3-4 mesi. L'assunzione di cibo stimola il grado di sintesi muscolare proteica, determinando un bilancio proteico positivo. Dopo l'assunzione di un pasto contenete proteine, il grado di sintesi proteica rimane elevato per oltre 5 ore, con un picco 2-3 ore dopo l'assunzione (Moore D et al, 2009). È stato dimostrato che nel soggetto adulto una dose pari a circa 15-20 grammi di proteine (o 7,5 grammi di aminoacidi essenziali) è sufficiente a stimolare la massimalizzazione del grado di sintesi muscolare proteica (Bohe J et al, 2003). Probabilmente nell'anziano per ottenere la medesima massimalizzazione della sintesi proteica rispetto al giovane è necessaria una quantità maggiore di proteine, probabilmente 35 grammi come dimostrato da Pennings B et al (Pennings B et al, 2012).

Nel soggetto anziano una ripartizione del fabbisogno proteico suddivisa su più pasti durante la giornata non è sufficiente a determinare un picco plasmatico di aminoacidi capace d'indurre uno stimolo proteino-sintetico in un tessuto muscolare che ha significativamente ridotto la sua sensibilità a tale stimolo.

Non tutte le proteine alimentari possiedono le stesse proprietà in termini di cinetica: la velocità d'assimilazione degli aminoacidi alimentari ed il loro effetto sulla regolazione del metabolismo proteico son in funzione delle caratteristiche molecolari della proteina.

Questa caratteristica ha dato luogo alla distinzione delle proteine alimentari in veloci e lente.

L'assunzione di proteine ad assorbimento veloce possono rappresentare un vantaggio rispetto alle proteine ad assorbimento lento.

Le proteine alimentari a veloce assorbimento sono quelle di siero di latte (whey), che sono la frazione beta-globulinica, caratterizzate da ottima digeribilità, basso contenuto in lattosio ed elevato valore biologico.

Le proteine idrolizzate risultano più facilmente assimilabili rispetto a quelle intatte e, tra le idrolizzate, le proteine ottenute dal siero del latte (frazione β -globulinica) possiedono la più alta velocità d'assimilazione

4.3 La Vitamina D

Il deficit di vitamina D è comune tra i pazienti geriatrici (2-60%) (Marzani B et al, 2004; Souberbielle JC et al, 2001).

La vitamina D3 (coleciferolo) è sintetizzata a livello della cute sotto l'influenza dei raggi UV (Holick MF, 1990).

La formazione della vitamina D3 nella pelle è molto meno efficiente nella popolazione anziana rispetto a quella giovane. Un'irradiazione dell'intero corpo con raggi UV artificiali in sei giovani adulti bianchi e sei anziani bianchi con lo stesso tipo di pelle ha mostrato che l'aumento della concentrazione di vitamina D3 nel siero dei giovani adulti era 4 volte maggiore rispetto agli anziani (Holick MF et al, 1989).

Tuttavia, anche negli anziani, la vitamina D prodotta a livello cutaneo rimane molto efficace. L'irradiazione con raggi UV pari a 1000 cm² della pelle del dorso aumenta i livelli di 25(OH)D da 20 a 60 nmol/l in 3 mesi, con un'esposizione di 3-7 minuti tre volte alla settimana. Questo suggerisce che un'esposizione di 10 minuti della testa e delle braccia (non protette) tre volte alla settimana è adeguata per prevenire il deficit di vitamina D (Chel VG et al, 1998).

Quando l'esposizione solare non è adeguata, si dovrebbe compensare con l'apporto dietetico, in quanto l'assorbimento della vitamina D è adeguato anche in età molto avanzate (Lips P, 2001). La vitamina D viene idrossilata nel fegato a 25(OH)D. Questo step è ben funzionante nell'anziano, ma può essere compromesso dalle malattie epatiche (Skinner RK et al, 1977; Farrington K et al, 1979).

Un'ulteriore idrossilazione avviene a livello renale con la formazione di 1,25-(OH)₂D; l'attività di idrossilazione del rene potrebbe ridursi con l'invecchiamento, parallelamente al declino della funzionalità renale (Gallagher JC et al, 1979).

Molti studi hanno mostrato che bassi livelli di 1,25-(OH)D e 25-(OH)D sono correlati a minor forza muscolare, maggior instabilità corporea, cadute e disabilità in uomini e donne anziani (Bischoff HA et al, 1999; Dhese JK et al, 2002).

È stata osservata inoltre una significativa associazione tra i genotipi del recettore per la vitamina D con la forza dei quadricipiti (Garland FC et al, 1990).

In più, studi sulla supplementazione di vitamina D in soggetti anziani con deficit di vitamina D, hanno mostrato un miglioramento nella funzione fisica e nell'estensione isometrica del ginocchio vs placebo (Gloth FM 3rd et al, 1995; Verhaar HJ et al, 2000).

Parallelamente al declino della massa muscolare e della funzionalità con l'invecchiamento, si verifica una riduzione dell'espressione dei recettori VDR (vitamin D receptor) a livello del muscolo scheletrico (Bischoff-Ferrari HA et al, 2004).

Ricerche precedenti hanno legato alcuni polimorfismi VDR alla riduzione di massa e funzione muscolare negli anziani (Roth SM, Zmuda JM, Cauley JA, Shea PR, Ferrell RE. Vitamin D receptor genotype is associated with fat-free mass and sarcopenia in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004; 59:10-5.), suggerendo che la vitamina D gioca un ruolo nello sviluppo e nella progressione della sarcopenia.

L'attività fisica all'aperto migliora i livelli di 25OHD negli anziani (Scragg R & Camargo CA, 2008).

Pfeifer et al (Pfeifer M et al, 2002) hanno riconosciuto che gli esercizi di costruzione muscolare possono aumentare i livelli di 25OHD, ma ulteriori studi sono necessari (Sorensen OH et al, 1979).

Gli studi condotti al fine di valutare l'efficacia di assunzione di supplementi di vitamina D sulle capacità funzionali sono parzialmente contraddittori. Alcuni studi non hanno dimostrato che l'assunzione di vitamina D ha migliorato la performance fisica (Sorensen OH et al, 1979; Kenny AM et al, 2003).

Peraltro questi studi sono stati condotti in soggetti con livelli sia diminuiti che normali di vitamina D. Viceversa studi condotti in 122 soggetti anziani con bassi livelli di vitamina D hanno dimostrato di beneficiare in modo significativo della supplementazione con vitamina D. In particolare, Dhese (Dhese JK et al, 2002) ha dimostrato in un gruppo di soggetti, con età media di 77 anni, storia di caduta e valori di vitamina D ematici inferiori o uguali a 12 microgrammi/litro, che una supplementazione quotidiana con 600UI di ergo calciferolo determinava un miglioramento del 3% della performance fisica, valutata mediante l'Aggregate Functional Performance Time (AFPT) (Hurley M, 1998), mentre nel gruppo di

controllo vi era un deterioramento del 9%. Per quanto riguarda la stabilità posturale, che ricordiamo è correlata allo stato della vitamina D (Lord SR et al, 1994; Nguyen T et al, 1993), lo studio ha dimostrato un miglioramento del 13%, mentre il gruppo di controllo ha avuto un peggioramento del 3%. In termini di tempi di reazione, il gruppo trattato ha avuto un miglioramento del 13% rispetto a un deterioramento del 3% del gruppo placebo. Non è stato però dimostrato un miglioramento della forza muscolare (Sohl E et al, 2013).

4.4 L'attività fisica

Fiatarone et al, hanno mostrato su uomini e donne molto anziani, da 72 a 98 anni, un netto guadagno di forza muscolare nei soggetti che abbinavano una supplementazione alimentare ad un'attività fisica aerobia regolare di 3 volte la settimana (Fiatarone MA et al, 1994).

Peraltro, diversamente dal lavoro aerobico, gli esercizi muscolari di forza inducono ipertrofia, aumentando forza e potenza contrattile (Campbell AJ et al, 1997; Latham N et al, 2003), stimolano, inoltre, la capacità neuro-motoria specifica di reclutamento delle fibre muscolari di tipo II e questo consente un miglioramento dell'output muscolare di forza (Manno R et al, 2004).

Numerosi sono gli studi che dimostrano quanto sia efficace il trattamento di resistenza nella prevenzione e cura della sarcopenia (Brose A et al, 2003; Vincent KR et al, 2002).

Inoltre, i programmi di allenamento con i pesi riducono di oltre il 30% il rischio di cadute, come dimostrato in studi a lungo termine (2 anni), modificando significativamente uno degli aspetti che maggiormente caratterizza il quadro di "fragilità" dell'anziano (Campbell AJ et al, 1997).

Secondo le indicazioni espresse recentemente nel position paper del PROT-AGE Study Group (Bauer J et al, 2013), sono raccomandati esercizi di endurance per 30 minuti al giorno, oppure per tempi e modalità che siano personalizzati e sicuri. Quando possibile è utile inserire un progressivo training di resistenza con sessioni da 10 a 15 minuti o più, da effettuare da 2 a 3 volte alla settimana.

Il position paper suggerisce inoltre che una supplementazione proteica o di aminoacidi di 20 grammi è consigliata dopo la sessione di attività fisica.

5. Scopo dello studio

È stato realizzato un trial clinico randomizzato, in doppio cieco placebo-controllato, a gruppi paralleli

Endpoint primario

Obiettivo dello studio è quello di dimostrare che l'assunzione quotidiana di un alimento a fini medici speciali contenente aminoacidi essenziali, proteine del siero del latte e vitamina D, associato ad una attività fisica controllata e costante è in grado di incrementare la massa magra e la forza nei soggetti anziani sarcopenici, riducendo i marker dell'infiammazione

Endpoints secondari

L'obiettivo secondario consiste nel confrontare le differenze tra i due gruppi nelle valutazioni antropometriche (RSMM, massa grassa, grasso ginoide e androide e la circonferenza vita), nella forza muscolare (handgrip), nello status ormonale (IGF-1), nell'infiammazione (PCR) e nelle ADL. Infine è stato valutato in modo esplorativo la correlazione tra diversi biomarkers, indipendentemente dal trattamento ricevuto.

Per indagare in maniera più approfondita l'interazione presente tra le diverse variabili, è stata valutata la correlazione tra le misure dell'obiettivo primario, ovvero la massa muscolare (FFM e RSMM), la forza (handgrip), l'infiammazione (PCR), e, successivamente anche tra massa magra (FFM e RSMM), forza (Handgrip), capacità funzionale (ADL) e lo status ormonale (IGF-1). Infine è stata analizzata la correlazione tra la massa muscolare (FFM e RSMM) e l'handgrip.

6. Materiali e metodi

Soggetti

Lo studio è stato condotto presso l'Istituto di Riabilitazione Santa Margherita, facente parte dell'Azienda di Servizi alla Persona di Pavia.

Prima dell'arruolamento sono state eseguite visite di screening, includenti esami ematochimici, valutazione dello stato cognitivo e visita nutrizionale (comprendente valutazione della composizione corporea); sono stati esclusi i soggetti che hanno mostrato patologie cardiache, renali o altre problematiche gravi che avrebbero potuto inficiare i risultati dello studio, i soggetti con diabete non compensato, patologie tiroidee o altre patologie endocrinologiche, disfunzioni epatiche o neoplasie; non sono stati arruolati i soggetti con gravi compromissioni delle capacità motorie (pazienti allettati o in carrozzina). I soggetti che hanno partecipato allo studio avevano simili capacità fisiche certificate tramite apposito test (Activities of daily living – ADL), funzione cognitiva normale o con lieve disturbo cognitivo, definito con un Mini-Mental State Examination > 20 e RSMM compatibile con diagnosi di sarcopenia.

In totale sono stati valutati 300 soggetti, 162 dei quali sono risultati eleggibili in base ai criteri prestabiliti; 130 sono risultati idonei allo studio mentre 32 sono stati esclusi in quanto non hanno prestato il loro consenso alla partecipazione (n 11) o per valori ematochimici non idonei alle richieste (n 21). (figura 5)

I soggetti arruolati sono stati suddivisi in modo casuale in due gruppi, seconda un'assegnazione randomizzata di tipo A o B. Gli sperimentatori non erano a conoscenza di quale fosse l'integratore o il placebo.

I due gruppi avevano caratteristiche simili (tabella 3) , con un età media pari a 80.77 ± 6.29 nel gruppo trattato e 80.21 ± 8.54 nel gruppo placebo.

Un gruppo ha assunto una bevanda contenente proteine del siero del latte (22 g), aminoacidi essenziali (10, 6 g di cui 4 g di leucina) e vitamina D (2.5 µg corrispondenti a 100 UI) e un contenuto calorico di 112 Kcal (tabella 4); il secondo gruppo, cioè il gruppo placebo, ha assunto una bevanda contenente maltodestrine, apparentemente uguale alla bevanda supplementata, con stesso sapore e stesse calorie.

Tutti i soggetti hanno assunto la bevanda 1 volta al giorno, per 12 settimane.

Il tipo di alimentazione seguita è risultata dunque sovrapponibile nei due gruppi (tabella 5).

Misurazioni

Per la realizzazione di questo studio sono stati utilizzati alcune strumentazioni specifiche, al fine di valutare la composizione corporea, la forza muscolare, il tono dell'umore, lo stato di nutrizione e l'intake alimentare giornaliero dei soggetti.

Dexa

La composizione corporea è stata valutata tramite la DEXA che, come spiegato in precedenza risulta essere il gold standard per analizzare la massa magra e la massa grassa; è stato utilizzato il software Lunar Prodigy DXA.

Ogni soggetto ha eseguito questo esame all'inizio e alla fine dello studio, indossando vestiti leggeri, senza scarpe o ciabatte, utilizzando una tecnica standardizzata. Il parametro utilizzato è stato il relative skeletal muscle mass (RSMM), rilevato prima e dopo il periodo di supplementazione e confrontato tra i due gruppi (placebo e controllo).

Handgrip

Attraverso l'utilizzo di un dinamometro (Jamar 5030J1, Sammons Preston Rolyan) è stata valutata la forza muscolare, all'inizio ed alla fine del periodo di studio, con l'impiego di una procedura standardizzata.

Valutazione stato nutrizionale

Ogni soggetto ha effettuato giornalmente 3 pasti principali, come previsto dal menù ospedaliero elaborato dal servizio endocrino-nutrizionale presente in struttura. Il menù ruota su 4 settimane e questo ha permesso un'alimentazione simile e costante durante tutta la durata dello studio.

Per valutare lo stato nutrizionale dei soggetti è stato eseguito il MNA (Mini Nutritional Assessment) prima e dopo il periodo di studio.

Questo test, di facile compilazione, è suddiviso in 18 items racchiusi in 4 parti: valutazione antropometrica, valutazione globale, valutazione dietetica e valutazione soggettiva. Ad ogni item corrisponde un punteggio, e sommando i vari punteggi che corrispondono ad ogni risposta si ottiene un numero, che permette la classificazione dei pazienti in normnutriti, a rischio di malnutrizione e malnutriti.

È stato anche dimostrato che l'MNA è un valido predittore di mortalità e morbilità a breve e a lungo termine nei pazienti ospedalizzati, inoltre è risultato correlato negativamente alla durata del ricovero (ed ai costi delle prestazioni ospedaliere) (Persson MD et al, 2002; Quadri P et al, 1998).

Si è dimostrato infine utile nel monitoraggio delle variazioni dello stato di nutrizione e nella valutazione degli effetti degli interventi terapeutici (Gil Gregorio P et al, 2003).

Il peso dei soggetti è stato indagato utilizzando la DEXA (precisione 0.1 Kg) nel momento in cui veniva eseguita la valutazione della composizione corporea.

Attività fisica

Tutti i soggetti arruolati si sono sottoposti ad un programma di allenamento di moderata attività fisica, supervisionato da personale addestrato. Gli esercizi sono stati eseguiti 5 volte alla settimana per una durata di 20 minuti, durante tutte e 12 le settimane di studio. Ogni sessione era formata da: 5 minuti di riscaldamento, 5 minuti di rafforzamento, 5 minuti di equilibrio e 5 minuti di defaticamento. Per ogni tipo di esercizio venivano eseguite 8 ripetute. Gli esercizi svolti stando seduti su di una sedia sono stati, per esempio, il sollevamento alternato della punta del piede e del tallone, il sollevamento e l'estensione del ginocchio. Altri esercizi sono stati svolti stando in piedi dietro alla sedia con le mani appoggiate allo schienale per favorire il mantenimento dell'equilibrio come ad esempio il sollevamento del ginocchio e l'apertura laterale della gamba.

Per rafforzare i muscoli della gamba sono stati applicati dei pesi alle caviglie, da 0.5 kg a 1.5 kg in base al progressivo aumento della resistenza dei soggetti. Tra gli esercizi svolti ci sono la flessione e l'estensione del ginocchio sia da seduti che da in piedi.

Per il potenziamento degli arti inferiori e superiori sono stati utilizzati degli elastici.

Per il miglioramento dell'equilibrio e dell'andatura gli esercizi hanno incluso lo stare in piedi su una gamba sola, lo spostamento del peso da una gamba all'altra, il camminare e lo stare fermi con un piede davanti all'altro.

I soggetti hanno svolto esercizi atti a migliorare la meccanica dell'andatura e la stabilità, focalizzando l'attenzione sul posizionamento del piede durante la camminata e cercando di aumentare quanto più possibile il passo.

In primavera ed in estate le attività sono state svolte all'aperto.

Analisi biochimiche

Con un prelievo venoso sono stati valutati alcuni parametri biochimici, all'inizio e alla fine dello studio: colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL, trigliceridi, elettroforesi proteica, bilirubina totale, ferro, glucosio, acido urico, creatinina, enzimi epatici, proteina C reattiva (PCR), emocromo completo, IGF-1.

Grandezza del campione

Il metodo per calcolare il nostro campione è stato basato sui risultati dello studio di Borsheim et al, considerando un incremento medio della massa magra atteso di 1.1 ± 1.2 kg nel gruppo trattamento, e di 0.5 ± 1.2 kg nel gruppo placebo, con una potenza dello studio pari all'80% e un α level (a due code) del 5%, ed un attrito del 10%. Questo ha fornito un campione di 140 pazienti (70 per gruppo).

Assegnazione random e mascheramento

È stata creata una lista di assegnazione random da parte dello statistico. La sequenza di assegnazione del trattamento è stata resa invisibile all'investigatore attraverso l'uso di una busta opaca. La cecità è stata garantita dando ai pazienti prodotti tra loro indistinguibili (prodotto A-B)

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata mediante software Stata 13. La significatività statistica è stata definita con un livello di p-value di 0.05.

Variabili numeriche sono state catalogate per tipo di trattamento come media \pm dev standard o mediana. Le variabili esaminate pre-post trattamento sono state analizzate intragruppo e diversificate per trattamento (placebo\intervento). Inoltre, il confronto dei delta change nella FFM tra i due gruppi, è stata effettuata mediante modelli di regressione lineare.

Infine, è stato utilizzato un test esatto di Fisher per confrontare i pazienti che dalla fase pre-post trattamento hanno cambiato lo status di sarcopenia\non sarcopenia.

Figura 5: diagramma di flusso per l'arruolamento dei pazienti

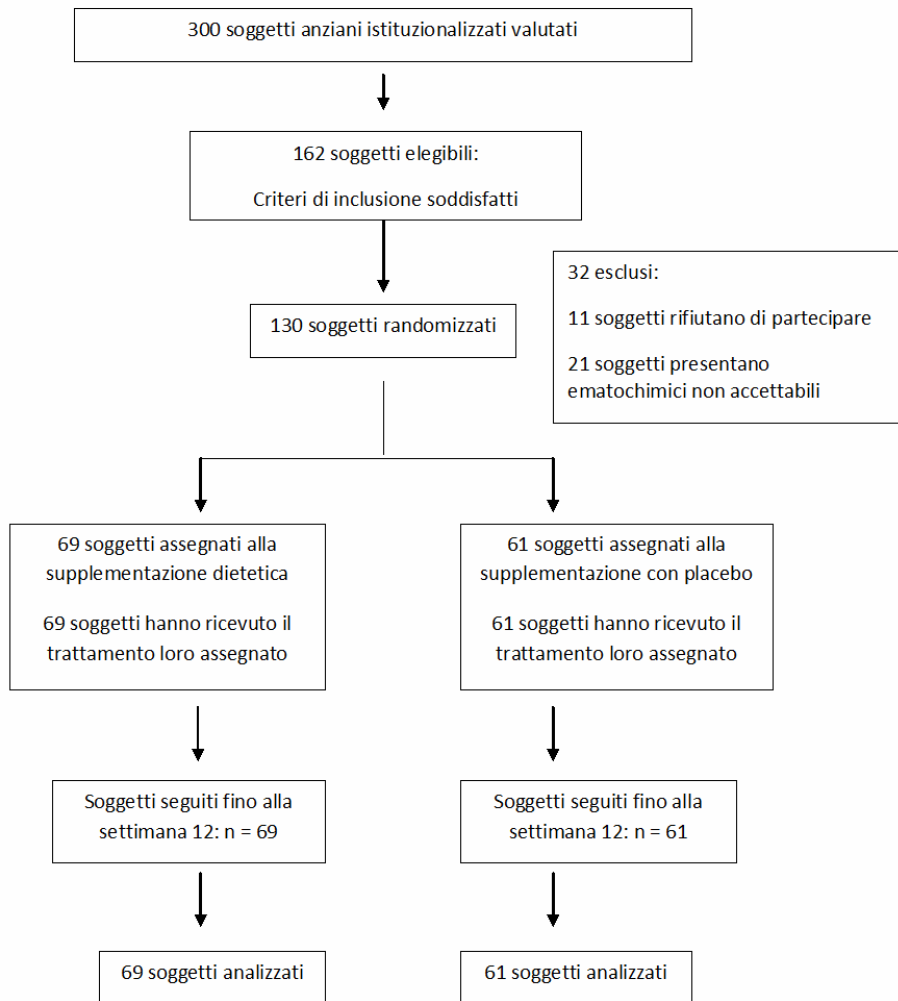


Tabella 3: caratteristiche dei soggetti arruolati, suddivisi nei 2 gruppi

	Supplemento dietetico (69 soggetti)	Placebo (61 soggetti)
Età (anni)	80.77 ± 6.29	80.21 ± 8.54
Maschi – N (%)	29 (42%)	24 (39%)
Fumatori – N (%)	3 (4%)	5 (8%)
Scolarità (anni)	12 ± 5	11 ± 5
MMSE ² (score)	21.78 ± 3.70	20.5 ± 4.93
ADL (score)	3.97 ± 1.19	4.03 ± 1.08
Proteine (g/dl)	6.67 ± 0.55	6.56 ± 0.61
Albumina (g/dl)	3.76 ± 0.54	3.6 ± 0.55
Creatinina (mg/dl)	0.95 ± 0.7	0.91 ± 0.38
PCR (mg/l)	0.14-1.23	0.16-1.03
IGF-I (ng/ml)	80.6±33.8	82.7±38.8
Peso (kg)	59.47 ± 11.16	59.39 ± 13.51
BMI (kg/m ³)	23.85 ± 3.63	23.93 ± 4.60
Circonferenza vita (cm)	16.29 ± 1.75	16.08 ± 1.42
Circonferenza del braccio (cm)	25.22 ± 3.36	25.02 ± 3.80
Circonferenza del polpaccio (cm)	30.43 ± 3.13	29.95 ± 4.55
Circonferenza vita (cm)	88.95 ± 9.74	89.01 ± 10.15
MNA (score)	17.84 ± 3.07	17.84 ± 3.57
Handgrip (kg)	16.63 ± 4.99	19.62 ± 6.01
RSMM (kg/m ²)	6.60 ± 1.19	6.36 ± 1.32
Massa magra (g)	39895 ± 8132	38714 ± 8371
Massa grassa (g)	17813 ± 6780	19210 ± 9182
Ginoide (%)	35.79 ± 9.67	37.67 ± 10.60
Androide (%)	34.21 ± 10.76	34.26 ± 12.85

Tabella 4: valori nutrizionali del supplemento

Valore energetico			% RDA per 32,0 g
	Per 100,0 g	Per 32,0 g	
KJ	1466	469	
Kcal	351	112	
Nutrienti			
Whey protein (g)	68,9	22	
Lipidi (g)	1,1	0,4	
Acidi grassi saturi (g)	0,2	0,0	
Carboidrati totali (g)	14,8	4,7	
Carboidrati semplici (g)	2,6	0,8	
Carboidrati complessi (g)	3,9	1,2	
Polioli (g)	8,3	2,7	
Fibra (g)	6,9	2,2	
Di cui fruttoligosaccaridi (FOS) (g)	3,2	1,0	
Minerali			
Calcio (mg)	25,8	8,3	1%
Fosforo (mg)	76,3	24,4	3%
Sodio (mg)	917,4	293,6	
Magnesio (mg)	140,7	45,0	12%
Ferro (mg)	0,8	0,3	2%
Vitamine			
D3 (Colecalciferolo) (µg)	7,8	2,5	50%

Tabella 5: intake giornaliero medio nei due gruppi

	Gruppo placebo		Gruppo supplemento		p value
	baseline	12esima settimana	baseline	12esima settimana	
Intake nutrizionale giornaliero					
Energia (Kcal/die)	1622±350	1615±273	1600±215	1573±339	ns
Proteine (g/die)	59±8	60±9	60±12	55±11	ns
Grasso (g/die)	54±12	55±11	56±9	53±14	ns
Carboidrati (g/die)	225±4	220±5	214±3	219±4	ns
Vitamina D (UI/die)	285±79	298±87	301±92	293±89	ns

7. Risultati

È stata evidenziata una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi sul parametro Fat Free Mass (FFM) o massa magra, pari a 1,7 Kg ($P < 0,001$). Nello specifico nel gruppo supplementato la FFM è incrementata di 1,4 Kg ($P < 0,001$) mentre non sono state evidenziate differenze nel gruppo placebo (- 0,3 Kg).

Altri parametri indagati e risultati differenti in modo statisticamente significativo nei due gruppi sono stati: RSMM ($P = 0,009$), distribuzione de grasso androide ($P = 0,021$), handgrip ($P = 0,001$), ADL ($P = 0,001$), MNA ($P = 0,003$), IGF-I ($P = 0,002$) e PCR ($P = 0,038$).

Nello specifico RSMM, handgrip, ADL, MNA e IGF-1 sono aumentati in modo significativo nel gruppo trattato, mentre questi parametri non sono variati nel gruppo placebo. Inversamente la percentuale della distribuzione di grasso androide è diminuita in modo significativo nel gruppo trattato ma non nel gruppo placebo.

Altre correlazione risultate statisticamente significative sono state trovate tra forza misurata con handgrip e RSMM ($P = 0,0014$) (figura 6), tra forza misurata con handgrip e massa magra (FFM) ($P = 0,003$) (figura 7) e tra IGF-1 e massa magra (FFM) ($P = 0,041$) (figura 8), aggiustati per trattamento e tempo.

Prendendo in considerazione i risultati ottenuti soprattutto su RSMM e sulla forza muscolare, il 68% dei soggetti arruolati nel gruppo di controllo è passato da soggetto sarcopenico a soggetto non sarcopenico.

Nessun soggetto del gruppo placebo ha ottenuto questo risultato.

Tutti i risultati sono riportati nella tabella 6

Figura 6: correlazione tra forza (handgrip) e RSMM

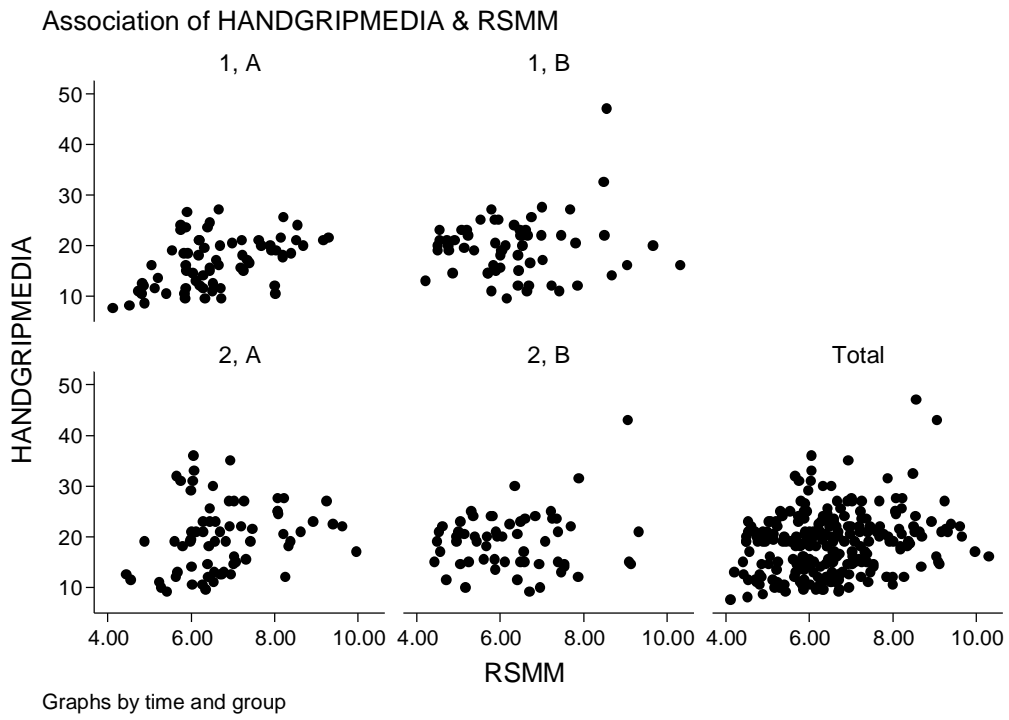


Figura 7: correlazione tra forza (handgrip) e massa magra (FFM)

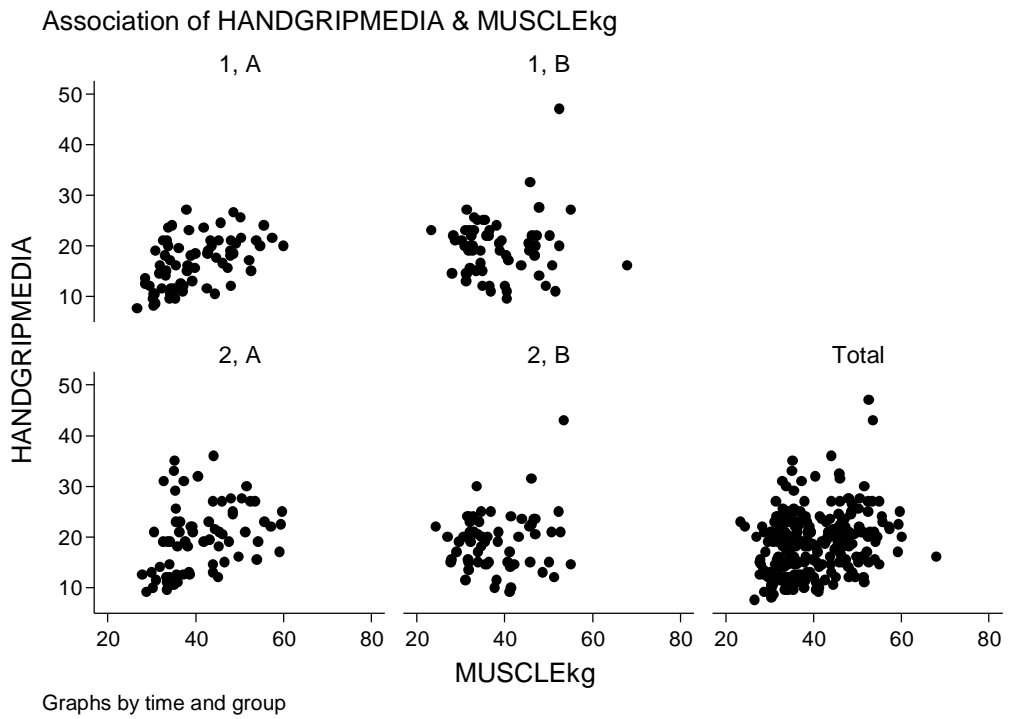


Figura 8: associazione tra IGF-1 e massa magra (FFM)

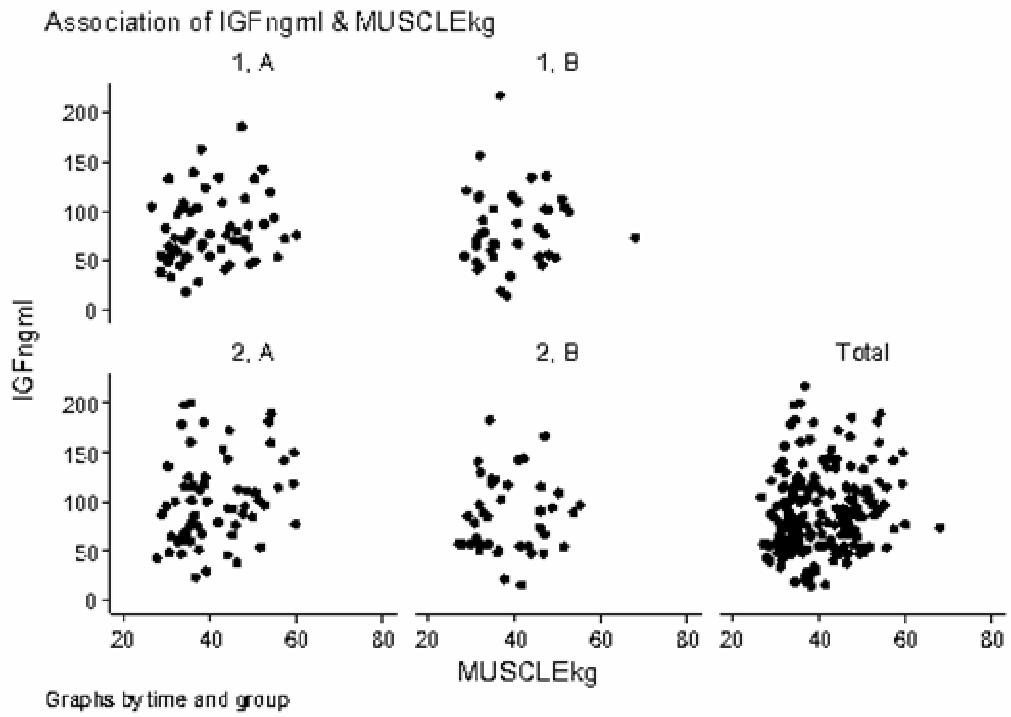


Tabella 6: Effetti della supplementazione confrontati con placebo

Variabili	Supplementazione dietetica Differenza media (95% CI)	P value Intra-gruppi	Placebo Differenza media (95% CI)	P value Intra-gruppi	Effetto del trattamento Differenza media (95% CI) aggiustata per valori baseline	P value
Massa magra (g)*	1382 (da 848 a 1918)	0.001	-313 (da -30.93 a 307)	0.316	1695 (da 892 a 2498)	0.001
RSMM (kg/m ²)	0.21 (da 0.07 a 0.35)	0.004	-0.06 (da -0.21 a 0.90)	0.42	0.28 (da 0.08 a 0.49)	0.009
Massa grassa (g)	- 345 (da - 747 a 57.18)	0.092	- 484 (da -1049 a 81.74)	0.092	-114 (da -786 a 559)	0.689
Peso (kg)	1.12 (da 0.37 a 1.87)	0.004	-0.89 (da -1.62 a - 0.15)	0.019	2.00 (da 0.97 a 3.04)	< 0.001
BMI (kg/m ²)	0.42 (da 0.11 a 0.72)	0.008	-0.42 (da -0.70 a - 0.14)	0.04	0.84 (da 0.43 a 1.25)	< 0.001
Ginoide (%)	-1.39 (da -2.22 a - 0.56)	0.001	-0.92 (da -1.83 a - 0.02)	0.046	0.54 (da -0.67 a 1.75)	0.451
Androide (%)	-2.03 (da -2.99 a - 1.06)	0.001	-0.26 (da -1.43 a 0.92)	0.66	1.80 (da 0.30 a 3.29)	0.021
Circonferenza vita (cm)	4.93 (da -0.86 a 10.72)	0.094	2.27 (da -1.72 a 6.25)	0.259	-0.69 (da -2.41 a 1.02)	0.449
Handgrip (kg)	3.20 (da 2.23 a 4.18)	0.001	-0.47 (da -1.07 a 0.12)	0.117	3.68 (da 2.51 a 4.84)	0.001
ADL	0.54 (da 0.39 a 0.68)	0.001	-0.61 (da -0.79 a - 0.42)	0.001	1.14 (da 0.91 a 1.38)	0.001
MNA	1.76 (da 1.23 a 2.28)	0.001	0.24 (da -0.63 a 1.11)	0.585	0.97 (da 0.18 a 1.76)	0.003
PCR (mg/dl)	-0.19 (da -0.57 a 0.19)	0.329	0.44 (da -0.02 a 0.90)	0.061	0.61 (da 0.03 a 1.19)	0.038
IGF-I (ng/ml)	20.7 (da 11.0 a 30.4)	<0.001	1.8 (da -4.2 a 7.8)	0.541	19.7 (da 7.1 a 32.3)	0.002

8. Discussione

Questo studio ha portato a diversi effetti benefici, sia sull'aumento della forza muscolare sia sulla riduzione degli indici infiammatori; sono stati mostrati miglioramenti da imputare all'assunzione dell'integratore alimentare a prescindere dall'associazione con l'attività fisica.

Entrambi i gruppi hanno seguito un piano di attività fisica, ma i risultati si sono riscontrati solo nel gruppo che ha ricevuto il supplemento, indicando così che l'attività fisica è sicuramente importante ma non sufficiente per ottenere un risultato significativo. Inoltre il tipo di esercizi eseguiti sono stati leggeri e non intensivi e questo può spiegare la mancanza di incremento di massa magra nel gruppo placebo. Questi risultati sono in accordo con uno studio precedente di Raguso et al (Raguso CA et al, 2006) nel quale si evidenziava che un'attività fisica eseguita nel tempo libero non era in grado di prevenire la perdita muscolare.

Si è deciso di strutturare l'attività fisica su 12 settimane sulla base di altri studi precedenti, nei quali veniva indicato questo periodo come ottimale per poter ottenere un miglioramento della massa muscolare (Raguso CA et al, 2006; Charette SL et al, 1991) e come questo miglioramento fosse dovuto anche al tipo di alimentazione seguita durante il periodo di allenamento (Raguso CA et al, 2006; Meredith CN et al, 1992).

Gli esercizi più utilizzati nei soggetti anziani per migliorare la massa muscolare sono gli esercizi di resistenza progressivi. In una review del 2003 sono stati raccolti 121 trials controllati e randomizzati, dimostrando come questi esercizi, se svolti 2-3 volte alla settimana miglioravano la funzionalità fisica, la velocità dell'andatura, il tempo impiegato nell'alzarsi per camminare, la capacità di salire le scale, l'equilibrio e, cosa più importante, hanno mostrato un effetto significativo sull'aumento della forza muscolare (Liu CJ & Latham NK, 2003).

In generale, sarebbe opportuno svolgere questo tipo di esercizi ad alta intensità per poter ottenere dei miglioramenti significativi sulla massa muscolare; tuttavia i soggetti sarcopenici non sembrano essere in grado di svolgere questa tipologia di esercizi, ed è stato dunque necessario adeguare il tipo di attività fisica ai soggetti in studio tenendo conto dell'età e della tollerabilità.

La suppletazione proteica combinata con l'attività fisica analizzata in studi precedenti ha portato a risultati discordanti per quanto riguarda la composizione corporea, la forza, la funzionalità fisica e l'ipertrofia muscolare nell'anziano, anche se la maggior parte dei lavori analizzati sono stati attuati su soggetti anziani sani, in cui l'alimentazione e la

supplementazione proteica non rappresentavano il focus primario (Børsheim E et al, 2008; Fiatarone MA et al, 1994; Kukuljan S et al, 2009; Iglay HB et al, 2007; Rosendahl E et al, 2006; Holm L et al, 2008; Bunout B et al. 2004; Haub MD et al, 2002).

Inoltre in questi studi la quantità proteica supplementata variava tra i 7,4 e i 15 g rendendone difficoltoso il confronto.

Un altro effetto positivo importante della supplementazione nutrizionale si ha sulla concentrazione di IGF-1. Questo ormone contribuisce al miglioramento delle funzioni muscolari, stimolando la produzione di proteine contrattili. Il declino età-relato delle concentrazioni di GH unito ad un abbassamento delle concentrazioni di IGF-1 contribuisce alla comparsa della sarcopenia (Ferrucci L et al, 2002).

L'IGF-1 potrebbe dunque essere il più importante mediatore della crescita e della riparazione muscolare (Philippou A et al, 2007).

La composizione e il tempo di somministrazione del supplemento orale sono gli aspetti innovativi del nostro lavoro; per contrastare il catabolismo proteico è necessario aumentare lo stimolo anabolico e, come detto in precedenza, è possibile ottenere questo risultato fornendo 30 g di proteine a pasto (Kim HK et al, 2012; American College of Sports Medicine, 2009; Borg GA, 1982) e combinando le proteine del siero del latte con la leucina (aminoacido essenziale) (Boirie Y et al, 1997; Koopman R et al, 2009).

Le proteine del siero del latte aumentano la disponibilità post-prandiale di aminoacidi nel plasma stimolando così ulteriormente la sintesi proteica muscolare (Boirie Y et al, 1997; Dangin M et al, 2001; Bohe J et al, 2003; Tang JE et al, 2009; Pennings B et al, 2011) molto più di quanto faccia la caseina (Dangin M et al, 2002; Dangin M et al, 2003).

È quindi evidente che, sia le proteine del siero del latte sia la leucina, sono integrazioni raccomandate nei soggetti con sarcopenia (Bauer J et al, 2013; Rondanelli M et al, 2015), e che la combinazione dei due elementi può moltiplicare gli effetti benefici (Wakabayashi H & Sakuma K, 2014).

La supplementazione, lievemente calorica, è stata assunta senza manifestazioni di problematiche a livello gastrointestinale; anche i soggetti sovrappeso o con obesità hanno introdotto l'integrazione in quanto la sarcopenia è una condizione patologica che non colpisce solo il soggetto sottopeso (Zamboni M et al, 2008).

La supplementazione nutrizionale, indipendentemente dall'attività fisica, ha contribuito a migliorare anche altri parametri. Nel gruppo trattato con integratore si è evidenziato un miglioramento dello stato infiammatorio, attraverso una riduzione significativa dei valori di

PCR ed una riduzione degli indici di malnutrizione testati con MNA. È stato registrato anche un miglioramento nell'attività quotidiane giornaliere determinate tramite test ADL.

La riduzione dell'infiammazione è uno dei meccanismi attraverso il quale è possibile ridurre la perdita di massa magra età-relata grazie sia effetti diretti sul catabolismo o meccanismi indiretti (aumento della concentrazioni di GH e IGF-1, minor perdita di appetito ecc) (Roubenoff R. Catabolism of aging: is it an inflammatory process? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003;6:295–299.)

Un approccio globale è in grado di migliorare l'effetto benefico, per questo motivo è stato deciso di inserire anche la vitamina D nel supplemento orale.

Una recente metanalisi, nella quale sono stati analizzati 30 studi randomizzati in doppio cieco, controllo-placebo, ha indicato come un supporto nutrizionale di vit D3 \geq 400 UI al giorno possa migliorare la forza muscolare del 17% (Beaudart C et al, 2014).

È stato scelto il quantitativo di 100 UI al giorno in quanto nell'alimentazione giornaliera i pazienti assumevano una media di 300 UI di vitamina D. I risultati ottenuti sono in linea con quelli ritrovati nella metanalisi di Beaudart et al (Beaudart C et al, 2014) poichè la forza muscolare è risultata migliorata del 21%.

Un limite dello studio è stato quello di non valutare le concentrazioni ematiche di vitamina D prima e dopo l'intervento; inoltre non si è potuto analizzare l'effetto della singola integrazione della vitamina D ma solo in combinazione con l'integrazione di aminoacidi essenziali e proteine del siero del latte

9. Conclusioni

In conclusione si può affermare che l'invecchiamento causa delle modificazioni della composizione corporea, la più importante delle quali è sicuramente la perdita di massa muscolare. Questa situazione è causata da un aumento di fattori che comportano il catabolismo muscolare a discapito di quelli che ne favoriscono l'anabolismo, come avviene nell'adulto sano.

Questo lavoro tuttavia suggerisce che un'integrazione adeguata e completa con un alimento a fini medici speciali, nella quale vengono somministrati contemporaneamente le proteine del siero del latte, gli aminoacidi essenziali e la vitamina D, uniti ad una attività fisica moderata ma costante, è in grado di favorire l'aumento di alcuni markers anabolici come l'IGF-1 e di diminuire i markers dell'infiammazione come la PCR.

Ma soprattutto si può concludere che questa associazione può favorire un aumento della massa muscolare e della forza muscolare.

10. Bibliografia

Abellan van Kan G. Epidemiology and consequences of sarcopenia. *J Nutr Health Aging* 2009;13:708-12.

Albanese CV, Passariello R. Osteoporosi e malattie metaboliche dell'osso. Springer editore, 2009.

American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:687-708.

Bailey DA, Martin AD, McKay HA, et al. Calcium accretion in girl and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 2000;15:2245-50.

Bateman RJ, Munsell LY, Morris JC, et al. Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nat Med* 2006;12:856-61.

Bauer J, Biolo G, Cederholm T et al. Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *J Am Med Dir Assoc* 2013;14:542-59.

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 1998;147:755-63.

Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, et al. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res* 2004;12:1995-2004.

Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:4336-45

Bischoff HA, Stahelin HB, Urscheler N et al. Muscle strength in the elderly: its relation to vitamin D metabolites. *Arch Phys Med Rehabil* 1999;80:54-8.

Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, et al. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004; 19:265-9.

Bohe J, Low A, Wolfe RR, et al. Human muscle protein synthesis is modulated by extracellular, not intramuscular amino acid availability: a dose-response study. *J Physiol* 2003;552:315-24.

Boirie Y, Dangin M, Gachon P, et al. Vasson MP, Maubois JL, Beaufriere B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:14930–14935.

Bonura F. Prevention, screening and management of osteoporosis; an overview of the current strategies. *Postgrad Med* 2009;121:5-17.

Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:377–381.

Børsheim E, Bui QU, Tissier S, et al. Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly. *Clin Nutr* 2008;27:189-195.

Briacon D, De Gaudemar JB, Forestier R. Management of osteoporosis in women with peripheral osteoporotic fractures after 50 years of age: a study of practices. *Joint Bone Spine* 2004;71:128-30.

Brose A, Parise G, Tarnopolsky MA. Creatine supplementation enhances isometric strength and body composition improvements following strength exercise training in older adults. *J Gerontol* 2003;58:11-9.

Buchner DM, Larson EB, Wagner EH, et al. Evidence for a non-linear relationship between leg strength and gait speed. *Age Ageing* 1996;25:386-91.

Bunout B, Barrera G, de la Maza P, et al. Effects of nutritional supplementation and resistance training on muscle strength in free living elders. Results of one year follow. *J Nutr Health Aging* 2004;8:68–75

Campbell AJ, Robertson MC, Gardner MM, et al. Randomised controlled trial of a general practice programme of home based exercise to prevent falls in elderly women. *BMJ* 1997; 315:1065-9.

Campbell WW, Crim MC, Dallal GE, et al. Increased protein requirements in elderly people: new data and retrospective reassessments. *Am J Clin Nutr* 1994;60:501-9.

Capurso A. *Elementi di gerontologia e geriatria*. La Nuova Italia scientifica editore, 1992.

Charette SL, McEvoy L, Pyka G, et al. Muscle hypertrophy response to resistance training in older women. *J Appl Physiol* 1991;70:1912–1916.

Chel VG, Ooms ME, Popp-Snijders C, et al. Ultraviolet irradiation corrects vitamin D deficiency and suppresses secondary hyperparathyroidism in the elderly. *J Bone Miner Res* 1998;13:1238-42.

Chernoff R. Physiologic aging and nutritional status. *Nutr Clin Pract* 1990;5:8-13.

Christmas C, Andersen RA. Exercise and older patients: guidelines for the clinician. *J Am Geriatr Soc* 2000;48:318-24.

- Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis. Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010;39:412-23.
- Curb JD, Abbott RD, Rodriguez BL, et al. Prospective association between low and high total and low-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease in elderly men. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:1975-80.
- Dangin M, Boirie Y, Garcia-Rodenas C, et al. The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:E340-8
- Dangin M, Boirie Y, Guillet C, et al. Influence of the protein digestion rate on protein turnover in young and elderly subjects. *J Nutr* 2002;132:3228S-333S
- Dangin M, Guillet C, Garcia-Rodenas C, et al. The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *J Physiol* 2003;549:635-44.
- Dardevet D, Rémond D, Peyron MA, et al. Muscle wasting and resistance of muscle anabolism: the "anabolic threshold concept" for adapted nutritional strategies during sarcopenia. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:269531.
- Delmonico MJ, Harris TB, Lee JS et al. Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women. *J Am Geriatr Soc* 2007;55:769-74.
- Dhesi JK, Bearne LM, Moniz C et al. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. *J Bone Miner Res* 2002;17:891-7.
- Doherty TJ, Vandervoort AA, Taylor AW, et al. Effects of motor unit losses on strength in older men and women. *J Appl Physiol* 1993;74:868-74.
- Falchuk KH. Disturbance in trace elements. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill editore 1998: pag 489-92.
- Farrington K, Skinner RK, Varghese Z, et al. Hepatic metabolism of vitamin D in chronic renal failure. *Lancet* 1979;1:321
- Ferrucci L, Penninx BWJH, Volpato S, et al. Change in muscle strength explains accelerated decline of physical function in older women with high interleukin-6 serum levels. *J Am Geriatr Soc* 2002;50:1947-54.
- Fiatarone MA, O'Neill EF, Ryan ND, et al. Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *N Eng J Med* 1994;330:1769-75.

Fiatarone Singh MA. Benefits of exercise and dietary measures to optimize shifts in body composition with age. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002;11:642-52.

Fitzpatrick LA. Secondary causes of osteoporosis. *Mayo Clin Proc* 2002;77:453-68.

Forbes GB. Longitudinal changes in adult fat-free mass: influence of body weight. *Am J Clin Nutr* 1999;70:1025-31.

Frontera WR, Hughes VA, Fielding RA, et al. Aging of skeletal muscle: a 12 year longitudinal study. *J Appl Physiol* 2000;88:1321-6.

Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, et al. Intestinal calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients: effect of age and dietary calcium. *J Clin Invest* 1979;64:729-36.

Garcia AL, Wagner K, Einig C, et al. Evaluation of body fat changes during weight loss by using improved anthropometric predictive equations. *Ann Nutr Metab* 2006;50:297-304.

Garland FC, Garland CF, Gorham ED, et al. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 1990;19:614-22.

Gauthier S, Patterson C, Chertkow H et al. Recommendations of the 4th Canadian Consensus Conference on the diagnosis and treatment of dementia (CCCDTD4). *Can Geriatr J* 2012;15:120-6.

Gil Gregorio P, Ramirez Diaz SP, Ribera Casado JM. Dementia and Nutrition. Intervention study in institutionalized patients with Alzheimer disease. *J Nutr Health Aging*. 2003;7:304-8.

Gloth FM 3rd, Gundberg CM, Hollis BW, et al. Vitamin D deficiency in homebound elderly persons. *JAMA* 1995;274:1683-6.

Glynn EL, Fry CS, Drummond MJ et al. Excess leucine intake enhances muscle anabolic signaling but not net protein anabolism in young men and women. *J Nutr* 2010;140:1970-6.

Haub MD, Wells AM, Tarnopolsky MA, et al. Effect of protein source on resistive-training-induced changes in body composition and muscle size in older men. *Am J Clin Nutr* 2002;76:511-7

Hazzard WR, Bierman EL, Blass JP, et al. *Principi di geriatria e gerontologia*. Edizione Italiana a cura di: Carbonin P e Capurso A. McGraw-Hill editore, 1996.

Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet* 1989;2:1104-5.

Holick MF. The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr* 1990;120:1464-9.

Holm L, Olesen JL, Matsumoto K, et al. Protein-containing nutrient supplementation following strength training enhances the effect on muscle mass, strength, and bone formation in postmenopausal women. *J Appl Physiol* 2008;105:274–81.

Hurley M. Quadriceps function, proprioceptive acuity and functional performance in healthy young, middle-aged and elderly subjects. *Age Ageing* 1998;27:55-62

Iglay HB, Thyfault JP, Apolzan JW, et al. Resistance training and dietary protein: effects on glucose tolerance and contents of skeletal muscle insulin signaling proteins in older persons. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1005–13.

Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, et al. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol* 2000;89:465-71.

Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Ass* 2002;50:889-96.

Janssen I. Influence of sarcopenia on the development of physical disability: the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:56-62.

Kenny AM, Biskup B, Robbins B et al. Effects of vitamin D supplementation on strength, physical function, and health perception in older, community-dwelling men. *J Am Geriatr Soc* 2003;51:1762-7.

Keys A, Taylor HL, Grande F. Basal metabolism and age of adult man. *Metabolism* 1973;22:579-87.

Kim HK, Suzuki T, Saito K, et al. Effects of Exercise and Amino Acid Supplementation on Body Composition and Physical Function in Community-Dwelling Elderly Japanese Sarcopenic Women: A Randomized Controlled Trial. *J Am Geriatr Soc* 2012;60:16–23.

Kimball SR., Jefferson LS. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. *J. Nutr* 2006;136:227-31.

Kinney JM, Duke JH Jr, Long CL, et al. Tissue fuel and weight loss after injury. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)* 1970;4:65-72.

Koopman R, Crombach N, Gijsen AP, et al. Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied by an accelerated in vivo digestion and absorption rate when compared with its intact protein. *Am J Clin Nutr* 2009;90:106–5.

Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004;39:687-99.

Kukuljan S, Nowson CA, Sanders K, et al. Effects of resistance exercise and fortified milk on skeletal muscle mass, muscle size, and functional performance in middle-aged and older men: an 18-mo randomized controlled trial. *J Appl Physiol* 2009;107:1864–1873

Kullberg S, Ramirez-Leon V, Johnson H, et al. Decreased axosomatic input to motoneurons and astrogliosis in the spinal cord of aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998;53:369-79.

Kurpad AV, Vaz M. Protein and amino acid requirements in the elderly. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:131-42.

Lang T, Strepper T, Cawthon P, et al. Baldwin K, Taaffe DR, Harris TB. Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. *Osteoporos Int* 2010;21:543-59.

Latham N, Anderson C, Bennett D, et al. Progressive resistance strength training for physical disability in older people. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD002759.

Laurentani F, Russo C, Bandinelli S, et al. Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. *J Appl Physiol* 2003;95:1851-60.

Layman DK. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *J Nutr* 2003;133:261-7.

Lichtenstein AH, Rasmussen H, Yu WW, et al. Modified MyPyramid for Older Adults. *J Nutr* 2008;138:5-11.

Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001;22:477-50.

Liu CJ, Latham NK. Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD002759.

Lord SR, Sambrook P, Gilbert C et al. Postural stability, falls, and fractures in the elderly: results from the Dubbo osteoporosis epidemiology study. *Med J Aust* 1994;160:688-91

Malafarina V, Uriz-Otano F, Iniesta R, et al. Sarcopenia in the elderly: diagnosis, pathophysiology and treatment. *Maturitas* 2012;71:109-14.

Manno R. Strength ability in aged people. *Ital J Sports Sci* 2004;11:16-22.

Marzani B, Pansarasa O, Marzatico F. “Oxidative stress” and muscle aging: influence of age, sex, fiber composition and function. *Basic Appl Myol* 2004;14:37-44.

Mathias S, Nayak US, Isaacs B. Balance in elderly patients: the “get-up and go” test. *Arch Phys Med Rehabil* 1986;67:387-9.

Meredith CN, Frontera WR, O'Reilly KP, et al. Body composition in elderly men: effect of dietary modification during strength training. *J Am Geriatr Soc* 1992;40:155–162.

Meyer TW, Lawrence WE, Brenner BM. Dietary protein and the progression of renal disease. *Kidney Int Suppl* 1983;16:243-7.

Migliore L e Coppedè F. Genetics, environmental factors and the emerging role of epigenetics in neurodegenerative diseases. *Mutat Res* 2009;667:82-97.

Millward DJ. Sufficient protein for our elders? *Am J Clin Nutr* 2008;88:1187-8.

Moore D, Tang J, Burd N et al. Differential stimulation of myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis with protein ingestion at rest and after resistance exercise. *J Physiol* 2009;587:897-904

Mudgil D, Barak S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: a review. *Int J Biol Macromol* 2013;61:1-6.

Nass R, Thorner MO. Impact of the GH-cortisol ratio on the age-dependent changes in body composition. *Growth Horm IGF Res* 2002;12:147-61.

National Research Council (US) Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs; National Institutes of Health (US); National Research Council (US) Committee on Dietary Allowances, Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989.

Nguyen T, Sambrook P, Kelly PJ et al. Prediction of osteoporotic fractures by postural instability and bone density. *BMJ* 1993;307:1111-5.

Nocon M, Hiemann T, Müller-Riemenschneider F, et al. Association of physical activity with all-cause and cardiovascular mortality: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008;15:239-46.

Norton LE. Leucine is a critical factor determining protein quantity and quality of a complete meal to initiate muscle protein synthesis. University of Illinois Dissertations and Theses, 2010.

Paddon-Jones D. Interplay of stress and physical inactivity on muscle loss: nutritional countermeasures. *J Nutr* 2006;136:2123-6.

Pahor M, Manini T, Cesari M. Sarcopenia: clinical evaluation, biological markers and other evaluation tools. *J Nutr Health Aging* 2009;13:724-8

Pedersen BK. Muscles and their myokines. *J Exp Biol* 2011;214:337-46.

Pedersen BK. The disease of physical inactivity--and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J Physiol* 2009;587:5559-68.

Pennings B, Boirie Y, Senden JM, et al. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men. *Am J Clin Nutr* 2011;93:997-1005

Pennings B, Groen B, de Lange A, et al. Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302:992-9.

Persson MD, Brismar KE, Katzarski KS. Nutritional Status using mini nutritional assessment and subjective global assessment predict mortality in geriatric patient. *J Am Geriatr Soc* 2002;50:1996-200.

Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. Vitamin D and muscle function. *Osteoporos Int* 2002;13(3):187-94.

Philippou A, Maridaki M, Halapas A, et al. The role of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in skeletal muscle physiology. *In Vivo* 2007;21:45–54.

Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of American Dietetic Association* 2002;102:993-1000.

Pratesi A, Tarantini F, Di Bari M. Skeletal muscle: an endocrine organ. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2013;10:11-4.

Quadri P, Fragiaco C, Pertoldi W, et al.. MNA and Cost of Care. In: Vellas B, Garry PJ, Guigoz Y, eds. *Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and Practice in the Elderly*. Lippincott-Raven editore, 1998: pag 141-8.

Raguso CA, Kyle U, Kossovsky MP, et al. Roynette C, Paoloni-Giacobino A, Hans D, Genton L, Pichard C. A 3-year longitudinal study on body composition changes in the elderly: role of physical exercise. *Clin Nutr* 2006;25:573-580.

Raimondi A. *Nutrizione e dietetica dell'anziano*. Piccin Nuova Libreria editore, 1992.

Reginster JY, Burlet N. Osteoporosis: a still increasing prevalence. *Bone* 2006;38:4-9.

Riazi R, Wykes LJ, Ball RO, et al. Pencharz PB. The total branched-chain amino acid requirement in young healthy adult men determined by indicator amino acid oxidation by use of L-[1-13C]phenylalanine. *J Nutr* 2003;133:1383-9.

Robbins and Cotran. *Pathologic basis of disease*. WB Saunders editore, 2010.

Roggi C, Turconi G. *Igiene degli alimenti e nutrizione umana*. EMSI editore, 2009.

Rondanelli M, Faliva M, Monteferrario F, et al. Novel Insights on Nutrient Management of Sarcopenia in Elderly. *Biomed Res Int* 2015;2015:524948.

- Rondanelli M. Alimentazione e nutrizione nell'anziano : valutazione, prevenzione e pratica clinica. Il pensiero scientifico editore, 2014.
- Rosendahl E, Lindelöf N, Littbrand H, et al. High-intensity functional exercise program and protein-enriched energy supplement for older persons dependent in activities of daily living: a randomised controlled trial. *Aust J Physiother* 2006;52:105–13.
- Rossi P, Marzani B, Giardina S, et al. Human skeletal muscle aging and the oxidative system: cellular events. *Curr Aging Sci* 2008;1:182-91.
- Roth SM, Ferrel RF, Hurley BF. Strength training for the prevention and treatment of sarcopenia. *J Nutr Health Aging* 2000;4:143-55.
- Russel RM, Rasmussen H, Lichtenstein AH. Modified food guide pyramid for people over seventy years age. *J Nutr* 1999;129:751-3.
- Scragg R, Camargo CA Jr. Frequency of leisure-time physical activity and serum 25-hydroxyvitamin D levels in the US population: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 2008;168:577-86
- Silver AJ. Malnutrition. *American Geriatric Society* 2006;174-80.
- Skinner RK, Sherlock S, Long RG, et al. 25-Hydroxylation of vitamin D in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1977;1:720-1.
- Società Italiana di Nutrizione Umana (SINU). Livelli di Assunzione giornalieri Raccomandati di energia e Nutrienti per la popolazione italiana. Revisione 2012.
- Sohl E, de Jongh RT, Heijboer AC, et al. Vitamin D status is associated with physical performance: the results of three independent cohorts. *Osteoporos Int* 2013;24:187-96.
- Sorensen OH, Lund B, Saltin B, et al. Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1 alpha hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci* 1979;56:157-61.
- Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C et al. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3086-90.
- Stramaglia G, Greco A, De Matthaëis A, et al. Distribution of body composition in the elderly with metabolic syndrome. *G Gerontol* 2008;56:160-6.
- Stramaglia G, Guglielmi G, Greco A, et al. Distribuzione della massa grassa in soggetti anziani con diverso indice di massa corporea. *G Gerontol* 2007;55:655-6.
- Sullivan DH, Johnson LE. Nutrition and aging. *Principles of Geriatric Medicine & Gerontology*. McGraw-Hill editore 2003: pag 1151-69.

- Suttanon P, Hill KD, Said CM, et al. A longitudinal study of change in falls risk and balance and mobility in healthy older people and people with Alzheimer disease. *Am J Phys Med Rehabil* 2013;92:676-85.
- Tang JE, Moore DR, Kujbida GW, et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol* 2009;107:987–92
- Tarantino U, Cannata G, Lecce D, et al. Incidence of fragility fractures. *Aging Clin Exp Res* 2007;19:7-11.
- Van Den Beld AW, De Jong FH, Grobbee DE, et al. Measures of bioavailable serum testosterone and estradiol and their relationship with muscle strength, bone density, and body composition in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3276-82.
- Van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L, et al. Oral corticosteroids and fracture risk: relationship to daily and cumulative doses. *Rheumatology* 2000;30:1383-9
- Varesini G, Montecucco C, Matucci M, et al. *Reumatologia*. Idelson – Gnocchi editore, 2008.
- Vergani C, Lucchi T. *Osteoporosi. Note pratiche di diagnosi e terapia per l'anziano*. Elsevier – Masson editore 2006: pag 175-80.
- Verhaar HJ, Samson MM, Jansen PA, et al. Muscle strength, functional mobility and vitamin D in older women. *Aging* 2000;12:455-60
- Vincent KR, Braith RW, Feldman RA et al. Resistance exercise and physical performance in adults aged 60 to 83. *J Am Geriatr Soc* 2002;50:1100-7.
- Von Haehling S, Morley JE, Anker SD. From muscle wasting to sarcopenia and myopenia: update 2012. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2012;3:213-7.
- Wakabayashi H, Sakuma K. Comprehensive approach to sarcopenia treatment. *Curr Clin Pharmacol* 2014;9:171-80.
- Westerterp KR, Meijer EP. Physical activity and parameters of aging: a physiological perspective. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56: 7-12.
- Wilson JD. Vitamin deficiency and excess. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill editore 1998: pag 480-9.
- Working Group on Functional Outcome Measures for Clinical Trials. Functional outcomes for clinical trials in frail older persons: time to be moving. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008;63:160-4.
- Zacker RJ. Health-related implications and management of sarcopenia. *JAAPA* 2006;19:24-9

Zamboni M, Mazzali G, Fantin F, et al. Sarcopenic obesity: a new category of obesity in the elderly. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:388-95

Zamboni M, Mazzali G, Zoico E, et al. Health consequences of obesity in the elderly: a review of four unresolved questions. *Int J Obes* 2005;29:1011-29.