

Beat Knechtle^{1,2}, Andrea Wirth¹, Patrizia Knechtle¹, Götz Kohler³

¹ Gesundheitszentrum St. Gallen, St. Gallen

² EHAM, Universität Zürich, Zürich

³ Biozentrum, Universität Basel, Basel

Der Effekt eines 100-km-Laufes auf die Fett- und Muskelmasse einer Frau und eines Mannes

Zusammenfassung

In einem Doppelfallbericht beschreiben und diskutieren wir die Auswirkungen eines 100-km-Laufs auf die Körperzusammensetzung eines Mannes und einer Frau. Dabei kam es bei der Athletin zu einer Gewichtszunahme ohne Abnahme der Fettmasse, während der Läufer sowohl an Gewicht wie an Fettmasse verloren hat. Aufgrund der grösseren Zunahme des totalen Körperwassers sowie der deutlich grösseren Zunahme des Plasmavolumens bei der Frau kann die Zunahme des Körpergewichts auf eine Flüssigkeitseinlagerung zurückgeführt werden. Die Methoden der Anthropometrie sowie der bioelektrischen Impedanzanalyse erkennen bei der Frau die Flüssigkeitsansammlung – vor allem in den Hautfalten der unteren Extremität – offensichtlich fälschlicherweise als eine Zunahme der Fettmasse. Die Zunahme des Körperwassers bei langen Ausdauerbelastungen sollte in kontrollierten Feldstudien weiter untersucht werden. Mögliche Ursachen sind hypoproteinämische Ödeme oder eine endokrin bedingte Wasserretention, damit die Stoffwechselprozesse zur Energielieferung sowie der Blutfluss bei sehr langen Belastungen aufrecht erhalten werden können.

Schlüsselwörter:

Extremausdauer – Energiedefizit – ¹H-NMR-Spektroskopie

Summary

We describe in a double case report the effects of a 100-km run on body composition in a man and a woman. The woman shows an increase in weight without decrease of fat mass, while the man shows a decrease of weight and fat mass. Due to the higher increase of total body water and the largely higher increase of the plasma volume in the woman, the body weight increase results from liquid accumulation. Both the anthropometric and bioelectrical impedance analyses misjudge the liquid accumulation – particularly in the lower extremities' skin folds – incorrectly as an increase of fat mass. The increase of body water during prolonged endurance exercise should be further examined in controlled field studies. Possible causes are hypoproteinaemic oedema or endocrine-induced water retention in order to maintain metabolism processes which are required for energy supply and blood flow during prolonged exercise.

Key words:

Ultra endurance – energy deficit – ¹H-NMR spectroscopy

Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie» 55 (4), 132–138, 2007

Einleitung

Wenn es um die Beschreibung von extremen Ausdauerleistungen geht, so werden in der Regel nur Männer berücksichtigt. In ganz wenigen Fällen werden Frauen in Fallberichten erwähnt, wie etwa beim Schwimmen durch den Ärmelkanal (Frisch et al., 1984), einem 7250 km langen Lauf quer durch Kanada (Mertens et al., 1996) oder dem Race across America (Clark et al., 1992). Die Annahme, dass die Frauen sich in ihrer Leistungsfähigkeit den Männern immer weiter nähern, ist eine oberflächliche Interpretation von Phänomenen aus dem Extremsport, wo Randfaktoren wie wenig Schlaf, mentale Stärke und überdurchschnittliche Motivation die Leistung beeinflussen. Die Geschlechtsdifferenz beträgt bei vergleichbaren Spitzenleistungen etwa 10% zu Ungunsten der Frau (Neumann & Berbalk, 2000). Werden die Leistungen über 100–200 km Laufen verglichen, so sind die Männer im Schnitt rund 12% schneller als die Frauen (Coast et al., 2004).

Frauen unterscheiden sich von den Männern nicht nur durch Körpergrösse und -gewicht, sondern auch durch Anteil Muskeln und Fett. Frauen haben im Gegensatz zu Männern einen höheren Fettanteil und einen tieferen Anteil an Muskeln am gesamten Körpergewicht (Tarnopolsky, 2000), wobei Frauen dünnere Muskeln

und ein dickeres Fettgewebe (Kanehisa et al., 2004) haben. Männer sind rund 7% grösser und rund 19% schwerer (Jaworowski et al., 2002) als Frauen und haben 6–9% weniger Körperfett. Wir wollten im vorliegenden Fallbericht bei einer Läuferin und einem Läufer über 100 km überprüfen, ob es bei der Athletin zu einem grösseren Verlust an Fettmasse kommt als beim Mann, obwohl beide die gleiche Zeit über 100 km benötigten. Wir untersuchten Blut- und Urinparameter. Zusätzlich versuchten wir mit ¹H-NMR-Spektroskopie des Urins den Nachweis eines Anstiegs von Variablen des Kohlenhydrat-, Eiweiss- und Fettstoffwechsels durch die Belastung zu erbringen.

Methoden

Probanden

Unsere Läuferin (41 Jahre, 176 cm, 60.4 kg, BMI 19.5 kg/m²) war eine ambitionierte Hobby-Läuferin mit einem durchschnittlichen wöchentlichen Laufumfang von 60 km. Bisher hatte sie schon 9 Marathons erfolgreich beendet mit einer persönlichen Bestzeit von 3 h 53 min. Der 100-km-Lauf von Biel 2007 war für sie eine

Premiere. Sie befand sich am 27. Tag des Zyklus bei einem regelmässigen Zyklus von 28–30 Tagen. Der vergleichbare Läufer (24 Jahre, 166 cm, 57.6 kg, BMI 20.9 kg/m²) kam auf ein wöchentliches Laufpensum von 6 h und legte dabei rund 50 km zurück. Bisher hatte er schon 3 Marathons erfolgreich beendet mit einer persönlichen Bestzeit von 3 h 14 min. Zudem hatte er auch schon 3 100-km-Läufe erfolgreich absolviert mit einer Bestzeit von 14 h 38 min.

Unmittelbar vor der Belastung sowie unmittelbar nach Zieleinlauf wurden anthropometrische Messungen, Bioimpedanzanalysen (BIA), sowie Bestimmungen von hämatologischen und Urin-Parametern durchgeführt. Zusätzlich wurden Urinproben gesammelt für eine spätere Analyse mittels Kernspin-Resonanz.

Das Rennen

Die 49. Austragung des 100-km-Laufes von Biel fand vom 15.–16. Juni 2007 statt. Der Start erfolgte um 22:00 und die Läufer mussten während den 100 km einen Höhenunterschied von 645 m überwinden. Unterwegs konnten sich die Teilnehmer an total 17 Posten mit verschiedenen Getränken und festen Nahrungsmitteln verpflegen. Jeder Athlet konnte sich durch einen persönlichen Betreuer auf einem Fahrrad begleiten lassen. Dieser konnte dabei Nahrungsmittel, Getränke und Kleider mitführen. Beim Start war die Temperatur bei 20 °C und es war trocken. Bis zum frühen Morgen sank die Temperatur auf 12 °C und in der Zeit von 2 bis 3 Uhr am frühen Morgen ging ein heftiger Regen nieder.

Anthropometrische Messungen

Das Körpergewicht wurde auf der BIA-Waage Tanita BC-545 (Tanita Corporation of America, Arlington Heights, IL 60005, USA) auf 0.1 kg genau bestimmt. Die Umfänge der Extremitäten sowie die Hautfaldendicken wurden auf der rechten Körperseite gemäss Lee et al. (2000) gemessen. Die Umfänge von Oberarm, Oberschenkel, Hüfte und Wade wurden auf 0.1 cm genau bestimmt. Die Hautfaldendicke an den Stellen Brust, Axilla, Trizeps, unterhalb der Scapula, am Abomden, oberhalb der Spina iliaca anterior superior, am Oberschenkel und an der Wade wurden 3x durch die gleiche Person mit einem Hautfaltenmessgerät (GPM Hautfaltenmessgerät, Siber & Hegner, Zürich, Schweiz) auf 0.2 mm genau bestimmt. Mit diesen Parametern wurden die Skelettmuskelmasse (SM), der prozentuale Anteil an Körperfett (%BF) und die Fettmasse (FM) bestimmt.

SM wurde nach der Formel $SM = Ht \cdot (0.00744 \cdot CAG^2 + 0.00088 \cdot CTG^2) + 0.00441 \cdot CCG^2 + 2.4 \cdot sex - 0.048 \cdot age + race + 7.8$ berechnet, wobei für Ht = Körpergrösse, CAG = hautfaltenkorrigierter Umfang des Oberarms, CTG = hautfaltenkorrigierter Umfang des Oberschenkels, CCG = hautfaltenkorrigierter Umfang des Unterschenkels, sex = 1 für Mann, race = 0 für Weisse eingesetzt wurden gemäss Lee et al. (2000). %BF wurde nach der Formel $\%BF = 0.465 + 0.180 (\Sigma 7SF) - 0.0002406 (\Sigma 7SF)^2 + 0.0661 (age)$ berechnet, wobei $\Sigma 7SF$ = Summe der Hautfaldendicken von Brust, Axilla, Trizeps, Subscapula, Abdomen, Suprailiakal und Oberschenkel gemäss Ball et al. (2004) bedeutet. FM wurde aus Körpergewicht – (%BF • Körpergewicht) berechnet.

Bestimmung von spezifischem Gewicht des Urins, hämatologischen Parametern sowie Bioimpedanzanalyse

Um eine Aussage über den Hydratationsstatus zu erhalten, wurden das spezifische Gewicht des Urins, das Hämoglobin, der Hämatokrit und das Natrium aus dem Blut sowie das gesamte Körperwasser mit der BIA bestimmt und das Plasmavolumen berechnet. Das spezifische Gewicht des Urins wurde mit dem Combur¹⁰Test® (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Der Test erfasst die Ionenkonzentration des Urins. Er beruht auf der Frei-

setzung von Protonen durch einen Komplexbildner in Anwesenheit von Kationen. Dies bewirkt einen Farbumschlag des Indikators Bromthymolblau von blau über blaugrün nach gelb. Hämoglobin, Hämatokrit und Natrium wurden aus einer kapillären Blutentnahme am Ohrfläppchen mit dem portablen Laborgerät i-STAT®1 (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA) bestimmt. Der Hämatokrit wird konduktometrisch gemessen. Die gemessene Leitfähigkeit steht nach Korrektur aufgrund der Elektrolytkonzentration im umgekehrten Verhältnis zum Hämatokrit. Das i-STAT®1 zeigt einen berechneten Hämoglobinwert an, der ermittelt wird nach der Formel $Hämoglobin (g/dl) = Hämatokrit \cdot \%PCV \cdot 0.34$, wobei PCV (packed red blood cell volume) dem Volumenanteil von Erythrozyten im Blut entspricht. Natrium wird mittels ionensensitiver Elektrodenpotentiometrie gemessen. Bei der Berechnung von Werten für Natrium wird die Konzentration über die Nernst'sche Gleichung zum Potential in Relation gesetzt.

Das totale Körperwasser wurde mit der BIA-Waage BC-545 (Tanita Corporation of America, Arlington Heights, IL 60005, USA) bestimmt. Die Läufer wurden barfuss, bekleidet in Badehose, in aufrechter Position gemessen. Die Füsse waren auf den 4 Füsselektroden und die Hände hielten die beiden Handgriffe mit je 2 Elektroden. Die Haut sowie die Elektroden wurden vorher gereinigt und getrocknet. Das Plasmavolumen wurde nach der Methode von Beaumont (1972) sowie Dill & Costill (1974) berechnet.

Kernspin-Resonanz-Analyse des Urins

Vor und nach dem Rennen wurden Urinproben der Athleten gesammelt, welche anschliessend mit Protonen-Kernspin-Resonanz (¹H-NMR) auf Metabolite des Fett- und Proteinstoffwechsels untersucht wurden. Für die Messungen wurden jeweils 0.4 ml unbehandelter Urin in ein NMR-Röhrchen mit 5 mm Aussendurchmesser gefüllt. Die Messungen wurden am Biozentrum der Universität Basel, Schweiz, mit einem Bruker Avance 400 NMR Spektrometer (Bruker BioSpin, Fällanden, Schweiz) bei einer Feldstärke von 9 T entsprechend einer Protonenfrequenz von 400 MHz durchgeführt. Verwendet wurde eine Hahn-Spinocho-Pulssequenz mit einer Echozeit von 60 ms. Bei dieser Pulssequenz werden Resonanzen, die bestimmte Eigenschaften aufweisen, in den Spektren invertiert, wodurch die Zuordnung der Signale verbessert wird. Weiterhin wird mit dieser Pulssequenz der von vielen verschiedenen Protonen stammende breite Untergrund in den Spektren unterdrückt, wodurch die für unsere Untersuchung interessanten Resonanzen deutlicher erkennbar sind. Das starke Signal der Wasserresonanz wurde durch eine selektive Vorsättigung unterdrückt. Bei einer Repetitionszeit von 15 s wurden 64 Einzelmessungen aufaddiert. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 25 °C durchgeführt. Die Zuordnung der Resonanzen wurde entsprechend Nicholson & Wilson (1989) durchgeführt.

Resultate

13 h 2 min benötigte die Läuferin für die 100 km, während der Mann auf 13 h und 5 min kam. Die gemessenen Parameter sind für die Frau in *Tabelle 1* und für den Mann in *Tabelle 2* dargestellt. Der Anteil der Fettmasse nahm bei der Frau mit der anthropometrischen Methode zu, mit der BIA ab. Beim Mann nahm die Fettmasse mit der Anthropometrie und mit der BIA ab. Das Körperwasser nahm bei beiden zu. Das Plasmavolumen nahm bei der Frau nach der Methode von Dill & Costill (1974) um 57.4% und nach der Methode von Beaumont (1972) um 56.7% zu. Beim Mann nahm es nach der Methode von Dill & Costill (1974) um 15.1% und nach der Methode von Beaumont (1972) um 10% zu.

Das Natrium stieg bei der Frau an (*Tab. 1*), beim Mann fiel es (*Tab. 2*). Der Harnstoff blieb bei der Frau unverändert, während er beim Mann zunahm. In der ¹H-NMR-Urinalyse lag bei der Frau (*Abb. 1*) ein deutlicher Anstieg von Laktat und ein leichter Anstieg von Alanin und Aceton vor. Beim Mann (*Abb. 2*) kam es nur zu wenigen Veränderungen, wobei auch ein leichter Anstieg von Aceton zu erkennen ist.

Parameter	Vorher	Nachher	Δ	%
Umfang Oberarm [cm]	25.8	26.0	+ 0.2	+ 0.8
Umfang Hüfte [cm]	92.8	92.5	- 0.3	- 0.3
Umfang Oberschenkel [cm]	48.8	48.8	+ 0.0	+ 0.0
Umfang Wade [cm]	35.0	35.8	+ 0.8	+ 2.3
Hautfalte Brust [mm]	5.0	4.0	- 1.0	- 20.0
Hautfalte Axilla [mm]	5.8	7.0	+ 1.2	+ 20.7
Hautfalte Trizeps [mm]	8.3	9.8	+ 1.5	+ 18.0
Hautfalte Subscapular [mm]	10.0	9.8	- 0.2	- 2.0
Hautfalte Abdomen [mm]	11.8	8.6	- 3.2	- 27.1
Hautfalte Suprailiakal [mm]	5.0	7.0	+ 2.0	+ 40.0
Hautfalte Oberschenkel [mm]	11.8	13.4	+ 1.6	+ 13.6
Hautfalte Wade [mm]	5.0	6.4	+ 1.4	+ 28.0
Körpergewicht [kg]	59.3	60.0	+ 0.7	+ 1.2
Muskelmasse [kg] ^a	29.1	29.1	+ 0.0	+ 0.0
Fettfreie Körpermasse [kg] ^b	49.5	52.3	+ 2.8	+ 5.6
Prozentualer Anteil Körperfett [%] ^a	17.6	19.4	+ 1.8	+ 10.2
Prozentualer Anteil Körperfett [%] ^b	12.1	8.1	- 4.0	- 33.0
Fettmasse [kg] ^a	10.6	11.9	+ 1.3	+ 11.6
Fettmasse [kg] ^b	7.2	4.9	- 2.3	- 32.0
Viszerales Fett [kg] ^b	1	1	+ 0.0	+ 0.0
Knochenmasse [kg] ^b	2.6	2.8	+ 0.2	+ 7.7
Prozentualer Anteil Körperwasser [%] ^b	63.7	67.8	+ 4.1	+ 6.4
Totales Körperwasser [l] ^b	38.5	41.6	+ 3.1	+ 8.0
Spezifisches Gewicht Urin	1.000	1.005	+ 0.005	+ 0.5
Natrium im Blut [mmol/l]	137	139	+ 2	+ 1.4
Hämoglobin [g/dl]	16.7	12.9	- 3.8	- 22.8
Hämatokrit	49	38	- 11	- 22.4
Harnstoff [mg/dl]	13	13	+ 0.0	+ 0.0

^a = berechnet anhand der anthropometrischen Messungen
^b = bestimmt mit der bioelektrischen Impedanzanalyse

Tabelle 1: Die gemessenen Parameter der Frau vor und nach dem 100-km-Lauf sowie deren Veränderungen

Diskussion

Bei diesem Fallbericht zeigt sich erstaunlicherweise, dass die Frau an Gewicht zugenommen hat, obwohl bei langen Ausdauerbelastungen von einer Abnahme der Körpermasse aufgrund einer Abnahme der Fettmasse ausgegangen wird. Eine mögliche Ursache ist die Zunahme des Körperwassers.

Zunahme des Gewichts bei der Frau?

Im Gegensatz zum Mann hat die Frau an Gewicht gewonnen (Tab. 1). Die Versuchspersonen wurden unmittelbar nach Zieleinlauf in der gleichen Kleidung wie vor dem Start gemessen, sodass ein Messfehler weitgehend ausgeschlossen werden kann. Die Blase wurde vor dem Wägen entleert. Die Muskelmasse blieb konstant. Die Fettmasse nahm mit der anthropometrischen Methode relativ wie absolut zu, mit der BIA hingegen relativ wie absolut ab. Hingegen nahm das Körperwasser aufgrund der BIA relativ und absolut zu. Die Zunahme des Körpergewichts dürfte bei extremen Ausdauerbelastungen nicht aussergewöhnlich sein. Bereits in einer früheren Arbeit konnte bei einem Athleten an einem zehnfachen Ironman eine Zunahme des Körpergewichts von 76.1 auf 84.2 kg in den ersten 3 Wettkampftagen nachgewiesen werden (Knechtle & Marchand, 2003).

Parameter	Vorher	Nachher	Δ	%
Umfang Oberarm [cm]	27.5	27.0	+ 0.0	+ 0.0
Umfang Oberschenkel [cm]	50.0	50.0	+ 0.0	+ 0.0
Umfang Wade [cm]	33.0	32.7	- 0.3	- 0.9
Hautfalte Brust [mm]	4.0	3.4	- 0.6	- 15.0
Hautfalte Axilla [mm]	7.4	7.4	+ 0.0	+ 0.0
Hautfalte Trizeps [mm]	6.2	6.6	+ 0.4	+ 6.4
Hautfalte Subscapular [mm]	8.0	8.0	+ 0.0	+ 0.0
Hautfalte Abdomen [mm]	16.8	13.6	- 3.2	- 19.0
Hautfalte Suprailiakal [mm]	14.0	16.6	+ 2.6	+ 18.6
Hautfalte Oberschenkel [mm]	6.8	6.8	+ 0.0	+ 0.0
Hautfalte Wade [mm]	6.6	6.0	- 0.6	- 9.1
Körpergewicht [kg]	57.6	56.7	- 0.9	- 1.5
Muskelmasse [kg] ^a	33.4	33.3	- 0.1	- 0.4
Fettfreie Körpermasse [kg] ^b	49.4	50.2	+ 0.8	+ 1.6
Prozentualer Anteil Körperfett [%] ^a	18.1	13.4	- 4.7	- 26.0
Prozentualer Anteil Körperfett [%] ^b	9.7	6.7	- 3.0	- 30.9
Fettmasse [kg] ^a	7.2	7.0	- 0.2	- 2.5
Fettmasse [kg] ^b	5.6	3.8	- 1.8	- 32.0
Viszerales Fett [kg] ^b	1	1	+ 0.0	+ 0.0
Knochenmasse [kg] ^b	2.6	2.7	+ 0.1	+ 3.8
Prozentualer Anteil Körperwasser [%] ^b	65.1	68.0	+ 2.9	+ 4.4
Totales Körperwasser [l] ^b	37.5	38.5	+ 1.0	+ 2.8
Spezifisches Gewicht Urin	1.005	1.005	+ 0.0	+ 0.0
Natrium im Blut [mmol/l]	142	138	- 4	- 2.8
Hämoglobin [g/dl]	15.8	14.5	- 1.3	- 8.2
Hämatokrit	47.5	45	- 2.5	- 5.2
Harnstoff [mg/dl]	12.5	18.6	+ 6.1	+ 48.8

^a = berechnet anhand der anthropometrischen Messungen
^b = bestimmt mit der bioelektrischen Impedanzanalyse

Tabelle 2: Die gemessenen Parameter des Mannes vor und nach dem 100-km-Lauf sowie deren Veränderungen

Zunahme des Körperwassers?

Bei der Frau wie beim Mann nahm der prozentuale Anteil des Körperwassers zu. Da die Frau relativ mehr zunahm, könnte das die Zunahme des Körpergewichts bei der Frau erklären, wobei die Zunahme des Körperwassers wiederum über die endokrine Situation bei der Läuferin erklärt werden könnte. Die Läuferin befand sich am 27. Tag ihres Zyklus kurz vor der Menstruation. Am Ende der Corpus-luteum-Phase sind das Progesteron wie das Östrogen erhöht. Der Anstieg des Progesteron ist direkt korreliert mit dem Aldosteron, das ebenfalls in der Lutealphase ansteigt (Szmilowicz et al., 2006) und die Rückresorption von Natrium- und Chloridionen in der Niere fördert. Obwohl die weiblichen Hormone einen Einfluss auf den Wasser- und Elektrolytumsatz haben, zeigt der Menstruationszyklus allerdings keinen wesentlichen Einfluss auf die Wasserbilanz und die Elektrolytkonzentration (Bisson et al., 1992).

Flüssigkeitseinlagerung in Muskulatur und Fettgewebe?

Bei der Läuferin nahm der prozentuale Anteil des Körperwassers mehr zu (Tab. 1) als beim Mann (Tab. 2) und die fettfreie Körpermasse stieg bei der Frau mehr als beim Mann. Dies könnte auf eine Wassereinlagerung in der Muskulatur hinweisen. Zudem hat bei der Frau der prozentuale Anteil des Körperfettes mit der BIA

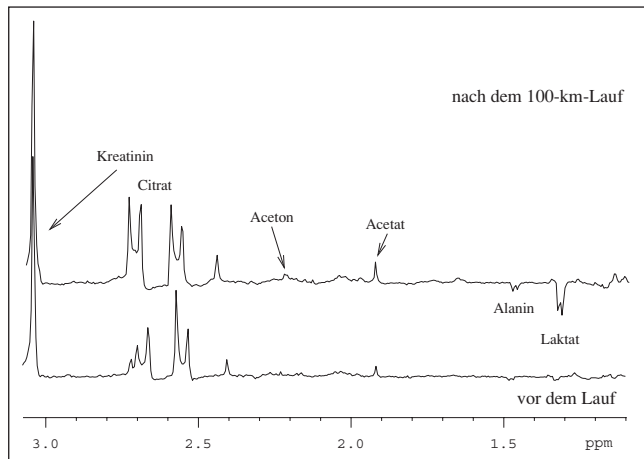


Abbildung 1: ^1H -NMR-Spektroskopie des Urins vor und nach dem 100-km-Lauf für die Frau. Nach dem Rennen ist ein deutlicher Anstieg des Laktatsignals erkennbar. Weiterhin leicht angestiegen sind die Signale von Alanin und Acetat. Der Ketonkörper Aceton ist nach dem Lauf schwach erkennbar.

zugenommen, während sie beim Mann abnahm. Da das Plasmavolumen bei der Frau um rund 40% mehr zunahm als beim Mann und die Hautfaltendicken der Frau an Oberschenkel und Wade zunahm (Tab. 1) während sie beim Mann (Tab. 2) abnahmen oder gleich blieben, ist von einer Ödembildung vor allem im Bereich der unteren Extremität auszugehen. Da bei der Frau das Natrium anstieg, kann keine hyponatriämiebedingte Flüssigkeitsüberladung vorhanden sein (Speedy et al., 1999).

Da die Harnstoffkonzentration bei der Frau unverändert blieb (Tab. 1), dürfte es trotz des Anstiegs des Alanins im Urin (Abb. 1) nicht zu einem ausgeprägten Proteinkatabolismus mit Entwicklung von hypoproteinämischen Ödemen gekommen sein. Es ist also davon auszugehen, dass die Hämodilution über eine Plasmaexpansion zu einer Flüssigkeitsverschiebung vor allem in die untere Körperhälfte bei der Frau führte.

Abnahme der Fettmasse?

Wir sind eigentlich davon ausgegangen, dass die Frau mehr Fett abbauen sollte als der Mann. Der prozentuale Anteil an Fett der Frau war bei der Anthropometrie bei 17.6%, bei der BIA bei 12.1% (Tab. 1), allerdings nicht unwesentlich von den Werten des Mannes mit 18.1 resp. 9.7% (Tab. 2) entfernt. Die Selektion der energiereichen Substrate erfolgt über Aktivierung von β -Rezeptoren. Dabei liegen geschlechtsspezifische Unterschiede vor. Bei Männern wird vermehrt aus Kohlenhydraten und Eiweiss Energie gewonnen, während Frauen primär Energie aus Fett und sekundär Energie aus Kohlenhydraten und Eiweiss gewinnen (Lamont et al., 2003). Unter Belastung verbrauchen Frauen im Gegensatz zu Männern mehr Fett und weniger Kohlenhydrate bei gleicher relativer Intensität (D'Eon & Braun, 2002). In etlichen Studien konnte gezeigt werden, dass Frauen bei submaximalen Belastungen im Vergleich zu Männern relativ mehr Fett und weniger Kohlenhydrate verbrauchen (Carter et al., 2001; McKenzie et al., 2000). Erstaunlicherweise zeigte sich bei unserer Athletin nicht das erwartete Resultat, sondern, wie bereits erwähnt, eine Flüssigkeitsverschiebung.

Abnahme der Muskelmasse

Bei der Frau (Tab. 1) blieb die Skelettmuskelmasse mit der anthropometrischen Methode konstant, während die fettfreie Masse zunahm. Beim Mann (Tab. 2) nahm die Muskelmasse nur minimal ab, die fettfreie Masse nahm minimal zu. Das Resultat des Serum-Harnstoffs scheint mit der Veränderung der Körpermasse übereinzustimmen. Bei der konstanten Muskelmasse der Frau blieb auch

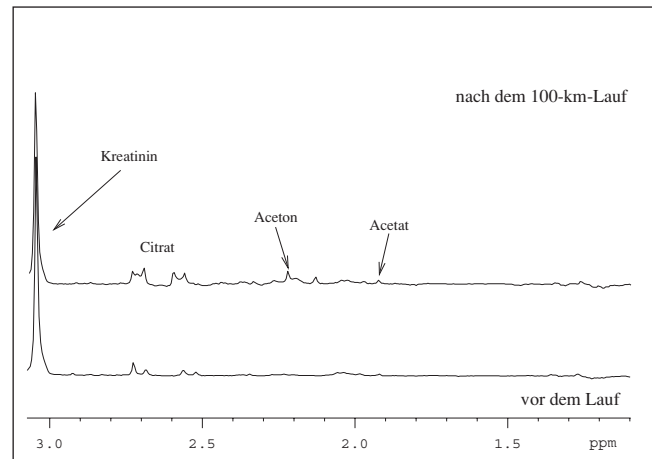


Abbildung 2: ^1H -NMR-Spektroskopie des Urins vor und nach dem 100-km-Lauf für den Mann. Nach dem Rennen sind nur wenige Veränderungen zu erkennen, dazu gehört ein leichter Anstieg des Ketonkörpers Aceton.

der Harnstoff konstant (Tab. 1), während beim Mann mit einer leichten Abnahme der Muskelmasse der Harnstoff als Endabbauprodukt des Eiweissstoffwechsels anstieg (Tab. 2). Die Zunahme der fettfreien Masse dürfte wie erwähnt auf eine Ödembildung in der Muskulatur zurückgeführt werden.

Wieso nimmt die Körpermasse zu?

Im Gegensatz zu unserer Athletin kommt es in der Regel bei Ausdauerbelastungen zu einer Abnahme des Körpergewichts. Ein Verlust an Körpermasse nach einer körperlichen Belastung kann sowohl durch einen Flüssigkeitsverlust als auch einen Verlust an Fett- oder gar Muskelmasse bedingt sein. Letzteres wird erst bei langen bis sehr langen Belastungen messbar (Raschka & Plath, 1992; Raschka et al., 1991).

Aufgrund der Tatsache, dass mit BIA die fettfreie Körpermasse sowie das totale Körperwasser und das Plasmavolumen bei beiden Geschlechtern zunahm (Tab. 1 und 2), muss es zu einer Einlagerung von Wasser in den intravasalen- und Zwischenzellraum gekommen sein. Der Verlauf von Hämoglobin und Hämatokrit weist klar auf eine Hämodilution hin und das Wasser scheint sich nicht ausschliesslich im intravasalen Raum ausgedehnt zu haben. Das Wasser hat sich offensichtlich in der Muskulatur sowie im Fettgewebe angesammelt, denn wie erwähnt nahm die fettfreie Körpermasse zu, aber auch die Hautfaltendicke bei der Frau vor allem an der unteren Extremität. Bereits in einer früheren Untersuchung haben wir bei einem Athleten bei einem Triple Iron Triathlon eine Zunahme des Körpergewichts bei gleichbleibendem Anteil an Subkutanfett beobachtet und als Ödem der belasteten Muskulatur gedeutet (Knechtle et al., 2003). Eine ausgeprägte Zunahme des Körpergewichts konnte ebenfalls in einem früheren Fallbericht beobachtet werden, als parallel zum Körpergewicht die Hautfalten vor allem der unteren Extremität bei einem Athleten an einem zehnfachen Ironman-Triathlon im Laufe des Wettkampfes fortlaufend zunahm (Knechtle & Marchand, 2003).

Flüssigkeitsretention und Dehydratation gleichzeitig?

Ein Flüssigkeitsverlust durch Dehydratation ist eher bei kurzen Belastungen in grosser Hitze zu erwarten und kann durch eine Veränderung von Körpergewicht, hämatologischen Parametern, Urinwerten, Hautfaltendicke, Herzfrequenz und Blutdruck objektiviert werden. Eine Abnahme des Körpergewichts wird allgemein als Hinweis für eine Dehydratation speziell bei Hitzeexposition

mit oder ohne intensive körperliche Belastung gedeutet (Kavouras, 2002). Zur Objektivierung einer Dehydratation eignen sich BIA, Bestimmung von Hämatokrit und Hämoglobin, Plasma- sowie Urinosmolalität, Urinfarbe und spezifisches Gewicht des Urins besser (Armstrong et al., 1998; Kavouras, 2002), wobei sich Urin-Parameter wiederum besser eignen als hämatologische Parameter (Armstrong et al., 1998). Aufgrund des praktisch unveränderten spezifischen Gewichts des Urins ist weder bei der Frau noch beim Mann eine Dehydratation aufgetreten. Nach Kavouras (2002) liegt ein guter Hydratationszustand vor, wenn die Änderung des Körpergewichts bei -1 bis $+1\%$ und das spezifische Gewicht des Urin bei < 1.010 liegt. Eine minimale Dehydratation liegt vor, wenn das Körpergewicht um $1-3\%$ abnimmt und das spezifische Gewicht des Urins zwischen 1.010 und 1.020 liegt. Eine deutliche Dehydratation liegt vor, wenn das Körpergewicht um $4-5\%$ abnimmt und das spezifische Gewicht des Urins bei $1.020-1.030$ liegt. Bei einer schweren Dehydratation nimmt das Körpergewicht um über 5% ab und das spezifische Gewicht des Urins liegt bei > 1.030 . Ein spezifisches Gewicht des Urins von 1.020 bis 1.030 wird bei intensiven Belastungen in grosser Hitze erreicht (Al-Jaser & Hasan, 2006). Das spezifische Gewicht scheint ein guter Parameter für die Beurteilung des Hydratationszustandes zu sein (Su et al., 2006), aber bei den Urin-Parametern zeigt sich, dass Urin-Osmolalität und spezifisches Gewicht des Urins zeitlich verzögert eine Dehydratation anzeigen (Oppliger et al., 2005).

Wird die Flüssigkeitsretention hormonell reguliert?

Es liegt also eine Situation vor, dass der Körper offensichtlich Wasser zurückbehält. Ansteigendes totales Körperwasser bei gleichzeitiger Dehydratation muss kein Widerspruch sein. Rogers et al. (1997) fanden bei einem Triathlon über 21 km Kanufahren, 97 km Radfahren und 42 km Laufen eine Zunahme des Körperwassers und Gastmann et al. (1998) konnten einen Anstieg des Aldosterons nach einem Double Iron Triathlon über 7.6 km Schwimmen, 360 km Radfahren und 84.4 km Laufen nachweisen. Aldosteron wird auch als Dursthormon bezeichnet, da es bei Flüssigkeitsmangel vermehrt ausgeschüttet wird, und es fördert die Rückresorption von Natrium- und Chloridionen in der Niere. So kann der renale Flüssigkeitsverlust minimiert werden.

Sind anthropometrische Messungen und bioelektrische Impedanzanalyse verlässliche Methoden?

Wir haben in diesem Fallbericht die Fettmasse sowie die fettfreie Masse resp. die Muskelmasse nicht-invasiv mit zwei verschiedenen Methoden bestimmt. Beide verwendeten Methoden beruhen auf verschiedenen Prinzipien. Somit ist es nicht verwunderlich, dass die absoluten Resultate nicht identisch sind. Von grösserer Bedeutung ist, dass beide Methoden beim Mann den gleichen Trend angeben, bei der Frau allerdings nicht. Gemäss Kitano et al. (2001) soll die Hautfaltenmethode gegenüber DEXA (dual-energy X-ray absorbiometry) und BIA die Fettmasse deutlich tiefer angeben. Im Gegensatz dazu kommen Hortobagyi et al. (1992) beim Vergleich von 4 verschiedenen Methoden zum Schluss, dass die Hautfaltenmethode das beste und schnellste Verfahren zur Bestimmung der Fettmasse bei Athleten ist. Der BIA wird angelastet, dass die Verschiebung des Wassers nicht korrekt erfasst wird. Kaminsky & Whaley (1993) sind der Meinung, dass die BIA sehr hohe und sehr tiefe prozentuale Fettwerte nicht korrekt erfassen kann und Saunders et al. (1998) folgern, dass die BIA Veränderungen des Flüssigkeitshaushaltes einer Veränderung der Fettmasse zuordnet und sich somit nicht eignet, Veränderungen der Körperzusammensetzung in Abhängigkeit von körperlicher Aktivität korrekt zu interpretieren. Im Gegensatz dazu sind aber Vasudev et al. (2004) zum Schluss gekommen, dass der prozentuale Anteil an Fett mit der Hautfaltenmethode wie mit der BIA gleich gut erfasst werden kann.

Unterschiede in der Anthropometrie der Athleten als Ursache?

Wir haben für diesen Vergleich eine Frau und einen Mann gewählt, bei denen zu erwarten war, dass sie eine ähnliche Zeit über die 100 km lange Laufstrecke erreichen werden. Wenn wir davon ausgehen, dass Männer gegenüber Frau in der Regel grösser und schwerer sind, so könnte auch die Wahl der Probanden das Resultat beeinflusst haben. Obwohl der BMI der Frau mit 19.5 kg/m^2 tiefer war als der des Mannes mit 20.9 kg/m^2 , so war die Frau doch grösser und schwerer (176 cm, 60.4 kg) als der Mann (166 cm, 57.6 kg). Zudem war die Muskelmasse beim Mann grösser als bei der Frau, während die Fettmasse beim Mann kleiner war als bei der Frau. Wie sich die Resultate bei gleicher Grösse und gleichem Gewicht verhalten hätten, ist zu spekulativ, um darüber zu diskutieren.

¹H-NMR-Spektroskopie des Urins bei extremen Ausdauerbelastungen

Die *Abbildungen 1 und 2* zeigen die Protonenspektroskopie (¹H-NMR) des Urins vor und nach dem 100 -km-Lauf. Protonen NMR-Urinanalyse wurde bereits früher in der klinischen Diagnostik verwendet (Chung et al., 2005; Nicholson et al., 1983; Tataru et al., 1999). Wir haben die Methode in unserem Fall für die Beurteilung der Ausscheidung von Stoffwechselfparametern nach einer extensiven Laufbelastung angewendet. Allenfalls kann diese Messmethode helfen zu differenzieren, ob eher Muskel- oder eher Fettmasse bei sehr langen Ausdauerbelastungen abgebaut wird. Bei der Frau (*Abb. 1*) kam es im Gegensatz zum Mann zu einem leichten Anstieg von Laktat und Alanin, der Ketonkörper Aceton konnte nach dem Lauf bei beiden Athleten kaum gesehen werden. Die Methoden zur Bestimmung der Körperzusammensetzung wie Hautfaltenmethode, BIA, DEXA, MRI und Archimedes Methode usw. können die Körperkompartimente nur indirekt bestimmen. Der Einfluss einer akuten Belastung auf das Resultat der Protonen NMR-Urinanalyse ist zu wenig untersucht. Die ¹H-NMR-Urinanalyse kann Stoffwechselfparameter des Energiestoffwechsels wie Aminosäuren, Ketonkörper, Laktat oder Glukose erkennen (Bales et al., 1984; Tataru et al., 1999; Zuppi et al., 1997) und so eine Information über den aktuellen Zustand des Stoffwechsels liefern (Tataru et al., 1999). Innerhalb von wenigen min kann das Protonenspektrum eine Veränderung der energiereichen Substrate zeigen (Bales et al., 1984).

In der routinemässigen Anwendung der ¹H-NMR-Spektroskopie des Urins bieten sich allerdings gewisse Probleme. Die Methode ist relativ insensitive für Konzentrationen von Metaboliten im Bereich um 0.1 mmol/l, sodass eine exakte Quantifizierung aufgrund von verbreiteten oder überlappenden Signalen schwierig wird (Tataru et al., 1999). Bei lang andauernden Belastungen ist die Intensität eher tief im Vergleich zu kurzen Belastungen, sodass nur in Ausnahmefällen eine Ausscheidung von Laktat zu erwarten ist, wie *Abbildung 1* zeigt.

Der Nachweis der Aminosäure Alanin im Urin von Ausdauerathleten könnte eine Aussage über die Aktivität des Proteinstoffwechsels geben. Beim sportlich aktiven Menschen ist seit Längerem bekannt, dass der Skelettmuskel die Aminosäure Alanin selber produzieren kann und die Konzentration von Alanin im Plasma unter körperlicher Belastung ansteigt (Ahlborg & Felig, 1976), da Alanin wie Pyruvat und Laktat unter Belastung von der Muskelfaser sezerniert wird (Henderson et al., 2004). Bei Sprintern kann der Anstieg des Alanins im Plasma um rund 25% zunehmen (Pitkänen et al., 2002), denn der Umsatz an Alanin nimmt mit zunehmender Intensität ebenfalls zu (Babij et al., 1983). Allerdings kann in unserem Fall nur bei der Frau ein Anstieg von Alanin im Urin nachgewiesen werden. Da die Ketonkörper durch alle Kompartimente wandern und speziell Betahydroxybutyrat (BHB) auch nierengängig ist, müsste BHB eigentlich im Urin nachweisbar sein. Erstaunlicherweise konnten wir aber weder bei der Frau noch beim Mann einen Anstieg dieses Metaboliten erkennen.

Schlussfolgerungen

Bei den beiden von uns beobachteten Athleten kommt es bei einem in der gleichen Zeit absolvierten 100-km-Lauf bei der Frau zu einer Gewichtszunahme ohne Abnahme der Fettmasse, während der Mann sowohl an Gewicht wie an Fettmasse abnimmt. Aufgrund der grösseren Zunahme des totalen Körperwassers sowie der deutlich grösseren Zunahme des Plasmavolumens bei der Frau, kann die Zunahme des Körpergewichts auf eine Flüssigkeitseinlagerung zurückgeführt werden. Die Anthropometrie sowie die BIA werten bei der Frau die Flüssigkeitsansammlung – vor allem in den Hautfalten der unteren Extremität – offensichtlich fälschlicherweise als eine Zunahme der Fettmasse. Die Zunahme des Körperwassers bei langen Ausdauerbelastungen sollte in kontrollierten Feldstudien weiter untersucht werden. Mögliche Ursachen sind hypoproteinämische Ödeme oder eine endokrin bedingte Wasserretention.

Verdankungen

Wir danken Herrn Niklaus Fässler, Axonlab, Baden, für das i-STAT®1, Herrn Matthias Knechtle, Lausanne, für seine Übersetzungen der Zusammenfassung und dem OK des 100-km-Laufes in Biel für die Unterstützung bei der Datenerhebung.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Beat Knechtle, Gesundheitszentrum St. Gallen, Vadianstrasse 26, 9001 St. Gallen. Telefon: +41 71 226 82 82, Fax +41 71 226 82 72, E-Mail: beat.knechtle@hispeed.ch

Literaturverzeichnis

Ahlborg A., Felig P. (1976): Influence of glucose ingestion on fuel-hormone response during prolonged exercise. *J. Appl. Physiol.* 41: 683–688.

Al-Jaser T.A., Hasan A.A. (2006): Fluid loss and body composition of elite Kuwaiti soccer players during a soccer match. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 46: 281–285.

Armstrong L.E., Soto J.A., Hacker F.T. Jr, Casa D.J., Kavouras S.A., Maresh C.M. (1998): Urinary indices during dehydration, exercise and rehydration. *Int. J. Sport Nutr.* 8: 345–355.

Babji P., Matthews S.M., Rennie M.J. (1983): Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man. *Eur. J. Appl. Physiol.* 50: 405–411.

Bales J.R., Higham D.P., Howe I., Nicholson J.K., Sadler P.J. (1984): Use of high-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy for rapid multi-component analysis of urine. *Clin. Chem.* 30: 426–432.

Ball S.D., Altna T.S., Swan, P.D. (2004): Comparison of anthropometry to DXA: a new prediction equation for men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58: 1525–1531.

Beaumont van W. (1972): Evaluation of hemoconcentration from hematocrit measurements. *J. Appl. Physiol.* 31: 712–713.

Bisson D.L., Dunster G.D., O'Hare J.P., Hampton D., Penney M.D. (1992): Renal sodium retention does not occur during the luteal phase of the menstrual cycle in normal women. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 99: 247–252.

Carter S.L., Rennie C., Tarnopolsky M.A. (2001): Substrate utilization during endurance exercise in men and women after endurance training. *Am. J. Physiol.* 280: E898–E907.

Chung Y.-L., Rider L.G., Bell J.D., Summers R.M., Zemel L.S., Rennebohm R.M., Passo M.H., Hicks J., Miller F.W., Scott D.L. (2005): Muscle metabolites, detected in urine by proton spectroscopy, correlate with disease damage in juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum.* 53: 565–570.

Clark N., Tobin J., Ellis C. (1992): Feeding the ultraendurance athlete: Practical tips and a case study. *J. Am. Diet. Assoc.* 92: 1258–1262.

Coast J.R., Blevins J.S., Wilson B.A. (2004): Do gender differences in running performance disappear with distance? *Can. J. Appl. Physiol.* 29: 139–145.

D'Eon T., Braun B. (2002): The roles of estrogen and progesterone in regulating carbohydrate and fat utilization at rest and during exercise. *J. Womens Health Gend. Based Med.* 11: 225–237.

Dill D.B., Costill D.L. (1974): Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J. Appl. Physiol.* 215: 247–248.

Frisch R.E., Hall G.M., Aoki T.T., Birnholz J., Jacob R., Landsberg L., Munro H., Parker-Jones K., Tulchinsky D., Young J. (1984): Metabolic, endocrine, and reproductive changes of a woman channel swimmer. *Metabolism* 33: 1106–1111.

Gastmann U., Dimeo F., Huonker M., Böcker J., Steinacker J.M., Petersen K.G., Wieland H., Keul J., Lehmann M. (1998): Ultra-triathlon-related blood-chemical and endocrinological responses in nine athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 38: 18–23.

Henderson G.C., Horning M.A., Lehman S.L., Wolfel E.E., Bergman B.C., Brooks G.A. (2004): Pyruvate shuttling during rest and exercise before and after endurance training in men. *J. Appl. Physiol.* 97: 317–325.

Hortobagyi T., Israel R.G., Houmard J.A., O'Brien K.F., Johns R.A., Wells J.M. (1992): Comparison of four methods to assess body composition in black and white athletes. *Int. J. Sport Nutr.* 2: 60–74.

Jaworowski Å., Porter M.M., Holmbäck A.M., Downham D., Lexell J. (2002): Enzyme activities in the tibialis anterior muscle of young moderately active men and women: relationship with body composition, muscle cross-sectional area and fibre type composition. *Acta Physiol. Scand.* 176: 215–225.

Kaminsky L.A., Whaley M.H. (1993): Differences in estimates of percent body fat using bioelectrical impedance. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 33: 172–177.

Kanehisa H., Miyatani M., Azuma K., Kuno S., Fukunaga T. (2004): Influences of age and sex on abdominal muscle and subcutaneous fat thickness. *Eur. J. Appl. Physiol.* 91: 534–537.

Kavouras S.A. (2002): Assessing hydration status. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 5: 519–524.

Kitano T., Kitano N., Inomoto T., Futatsuka M. (2001): Evaluation of body composition using dual-energy X-ray absorptiometry, skinfold thickness and bioelectrical impedance analysis in Japanese female college students. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 47: 122–125.

Knechtle B., Marchand Y. (2003): Schwankungen des Körpergewichts und der Hautfaldendicke bei einem Athleten während eines Extremausdauerwettkampfes. *Schweiz. Zschr. Sportmed. Sporttraumat.* 51: 174–178.

Knechtle B., Zapf J., Zwyssig D., Lippuner K., Hoppeler H. (2003): Energieumsatz und Muskelstruktur bei Langzeitbelastung: eine Fallstudie. *Schweiz. Zschr. Sportmed. Sporttraumat.* 51: 180–187.

Lamont L.S., McCullough A.J., Kalhan S.C. (2003): Gender differences in the regulation of amino acid metabolism. *J. Appl. Physiol.* 95: 1259–1265.

Lee R.C., Wang Z., Heo M., Ross R., Janssen I., Heymsfield S.B. (2000): Total-body skeletal muscle mass: development and cross-validation of anthropometric prediction models. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 796–803.

McKenzie S., Phillips S.M., Carter S.L., Lowther S., Gibala M.J., Tarnopolsky M.A. (2000): Endurance exercise training attenuates leucine oxidation and BCOAD activation during exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 278: E580–E587.

Mertens D.J., Rhind S., Berkhoff F., Dugmore D., Shek P.N., Shephard R.J. (1996): Nutritional, immunologic and psychological responses to a 7250 km run. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 36: 132–138.

Neumann G., Berbalk A. (2000): Grenzen der menschlichen Leistungsfähigkeit in den Ausdauersportarten. *Leistungssport* 1: 24–30.

Nicholson J.K., Wilson I.D. (1989): High resolution proton magnetic resonance spectroscopy of biological fluids. *Prog. NMR Spectrosc.* 21: 449–501.

Nicholson J. K., Buckingham M. J., Sadler P. J. (1983): High resolution ¹H n.m.r. studies of vertebrate blood and plasma. *Biochem. J.* 211: 605–615.

Oppliger R.A., Magnes S.A., Popowski L.A., Gisolfi C.V. (2005): Accuracy of urine specific gravity and osmolality as indicators of hydration status. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 15: 236–251.

Pitkänen H., Mero A., Oja S.S., Komi P.V., Pöntinen P.J., Saransaari P. (2002): Serum amino acid responses to three different exercise sessions in male power athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 42: 472–480.

Raschka C., Plath M. (1992): Body fat compartment and its relationship to food intake and clinical chemical parameters during extreme endurance performance. *Schweiz. Zschr. Sportmed. Sporttraumat.* 40: 13–25.

Raschka C., Plath M., Cerull R., Bernhard W., Jung K., Leitzmann C. (1991): The body muscle compartment and its relationship to food absorption and blood chemistry during an extreme endurance performance. *Zschr. Ernährungswiss.* 30: 276–288.

Rogers G., Goodman C., Rosen C. (1997): Water budget during ultra-endurance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 29: 1477–1481.

- Saunders M.J., Blevins J.E., Broeder C.E. (1998): Effects of hydration changes on bioelectrical impedance in endurance trained individuals. *Med. Sci. Sports Exerc.* 30: 885–892.
- Speedy D.B., Noakes T.D., Rogers I.R., Thompson J.M., Campbell R.G., Kuttner J.A., Boswell D.R., Wright S., Hamlin M. (1999): Hyponatremia in ultradistance triathletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 31: 809–815.
- Su S.B., Lin K.H., Chang H.Y., Lee C.W., Lu C.W., Guo H.R. (2006): Using urine specific gravity to evaluate the hydration status of workers in an ultra-low humidity environment. *J. Occup. Health* 48: 284–289.
- Szmuiłowicz E.D., Adler G.K., Williams J.S., Green D.E., Yao T.M., Hopkins P.N., Seely E.W. (2006): Relationship between aldosterone and progesterone in the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91: 3981–3987.
- Tarnopolsky M.A. (2000): Gender differences in substrate metabolism during endurance exercise. *Can. J. Appl. Physiol.* 25: 312–327.
- Tatara T., Yasuhide I., Takeda J., Ishihara Y., Shoichi O., Hisashi U. (1999): Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of urine for rapid multicomponent analysis of intraoperative cellular metabolites. *Clin. Chim. Acta* 279: 117–124.
- Vasudev S., Mohan A., Mohan D., Farooq S., Raj D., Mohan V. (2004): Validation of body fat measurement by skinfolds and two bioelectric impedance methods with DEXA. *J. Assoc. Physicians India* 52: 877–881.
- Zuppi C., Messan I., Forni F., Rossi C., Pennacchietti L., Ferrari F. (1997): ¹H-NMR spectra of normal urines: reference ranges of the major metabolites. *Clin. Chim. Acta* 8: 85–97.