



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di *Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari*

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN : Scienze Mediche, Cliniche e Sperimentali

INDIRIZZO: NEUROSCIENZE

CICLO XXVII

**DALLA MOLECOLA AL BILANCERE: ANALISI DEGLI EFFETTI DI UNA METODICA
DI ALLENAMENTO HIGH INTENSITY INTERVAL RESISTANCE TRAINING (HIIRT).**

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.ma Prof.ssa Elena Pegoraro

Supervisore : Ch.mo Prof. Carlo Reggiani

Dottorando : Tatiana Moro

INDICE

RIASSUNTO	4
ABSTRACT	7
PREMESSA	9
1. INTRODUZIONE	12
1.1. SIGNALLING MUSCOLARE.	13
1.1.1 PROTEIN KINASE B-MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN (AKT-MTOR)	13
1.1.2 ADENOSINE MONOPHOSPHATE-ACTIVATED PROTEIN KINASE (AMPK)	14
1.1.3 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE (MAPK)	15
1.2. RISPOSTA ORMONALE.	16
1.3. RISPOSTA INFIAMMATORIA.	19
1.4. DALLA SINTESI PROTEICA ALLA CRESCITA MUSCOLARE.	19
1.5. LE PRINCIPALI VARIABILI DEL RT: INFLUENZA SULLE VIE DI SEGNALE MUSCOLARE.	20
1.5.1 SOVRACCARICO	20
1.5.2 RECUPERO TRA LE SERIE	23
1.5.3 VOLUME	23
1.5.4 SCELTA DEGLI ESERCIZI	24
1.5.5 ORDINE DEGLI ESERCIZI	25
1.6. DIFFERENZE DI GENERE.	25
1.7. SOMMARIO	27
2. SCOPO DELLE TESI.	28
3. MATERIALE E METODI.	29
3.1. HIIRT (HIGH INTENSITY INTERVAL RESISTANCE TRAINING)	29
4. PRIMA FASE SPERIMENTALE.	31
4.1. EFFETTI IN ACUTO DI DIVERSE INTENSITÀ DI ALLENAMENTO SUL SIGNALLING MUSCOLARE.	31
4.2. MATERIALI E METODI.	33
4.2.1 SOGGETTI.	33
4.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.	34
4.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.	35
4.2.4 ANALISI DEI CAMPIONI MUSCOLARI.	35
4.2.5 ANALISI DEI VALORI PRESSORI E CARDIACI.	36
4.3. ANALISI STATISTICA.	37
4.4. RISULTATI	38
4.4.1 ANALISI DEI CAMPIONI MUSCOLARI.	38
4.4.2 ANALISI DEI VALORI PRESSORI E CARDIACI.	40
4.5. DISCUSSIONE	42
5. SECONDA FASE SPERIMENTALE.	44
5.1. EFFETTI DI DUE DIFFERENTI PROTOCOLLI DI RT SU UNA POPOLAZIONE DI GIOVANI SEDENTARI.	44
5.2. MATERIALI E METODI.	45

5.2.1 SOGGETTI.	45
5.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.	45
5.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.	46
5.2.4 TEST DI FORZA.	46
5.2.5 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA	46
5.2.6 MISURE EMATICHE.	47
5.2.7 METABOLISMO A RIPOSO.	47
5.2.8 POTENZA AEROBICA	48
5.3. ANALISI STATISTICA.	48
5.4. RISULTATI.	49
5.4.1 TEST DI FORZA	49
5.4.2 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA.	51
5.4.3 MISURE EMATICHE.	53
5.4.4 METABOLISMO A RIPOSO.	54
5.4.5 POTENZA AEROBICA.	55
5.5. DISCUSSIONE.	55
6. TERZA FASE SPERIMENTALE.	59
6.1. EFFETTI SISTEMICI E LOCALI DI UN PROTOCOLLO AD ALTA INTENSITA' SU UNA POPOLAZIONE DI ULTRA SESSANTENNI.	59
6.2. MATERIALI E METODI.	61
6.2.1 SOGGETTI.	61
6.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.	62
6.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.	63
6.2.4 TEST DI FORZA.	65
6.2.5 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA.	65
6.2.6 ESAMI EMATICI.	65
6.3. ANALISI STATISTICA.	65
6.4. RISULTATI.	66
6.4.1 FORZA.	66
6.4.2 COMPOSIZIONE CORPOREA.	67
6.4.3 ESAMI EMATICI.	68
6.5. DISCUSSIONE.	70
7. QUARTA FASE SPERIMENTALE.	75
7.1. DUE DIFFERENTI INTENSITA' DI RT A CONFRONTO: PIRAMIDALE VS HIIRT.	75
7.2. MATERIALI E METODI.	76
7.2.1 SOGGETTI.	76
7.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.	76
7.2.3 MISURE EMATICHE E DI DANNO MUSCOLARE.	77
7.3. ANALISI STATISTICA.	78
7.4. RISULTATI.	78
7.5. DISCUSSIONE.	80
8. CONCLUSIONI.	82
9. BIBLIOGRAFIA.	84
APPENDICE	102

RIASSUNTO

Negli ultimi anni sta sempre di più affermando il concetto che l'allenamento contro resistenza, o Resistance Training (RT), sia un ottimo stimolo anabolico, e che la sua pratica costante possa migliorare la composizione corporea, contrastare i rischi di patologie cardiovascolari o metaboliche. Tuttavia, la struttura del RT è molto complessa e prevede l'interazione di numerose variabili che rendono disomogenei i protocolli utilizzati in letteratura per descrivere gli effetti di questa metodica di allenamento. Per questo motivo, l'argomento su cui fa perno questa ricerca, è lo studio di una specifica metodica di RT, in cui l'intensità è stata definita come il rapporto tra il carico sollevato (%1RM) e la durata del recupero tra le serie dell'esercizio.

In considerazione della frenesia che contraddistingue la vita nella società odierna, uno dei principali ostacoli alla pratica continua di esercizio fisico è la mancanza di tempo: a tale scopo sarebbe importante trovare metodiche di allenamento che possano essere efficaci e al contempo avere una breve durata.

La metodica HIIRT (High Intensity Interval Resistance Training) consiste nell'eseguire 6 ripetizioni ad esaurimento con un carico pari a circa l'80% di 1RM, 20" di pausa, per poi richiedere nuovamente al soggetto di effettuare il massimo numero di ripetizioni che è in grado di sostenere con il medesimo carico, altri 20" di pausa e ancora una serie.

Lo scopo di questa ricerca è comprendere gli effetti della metodica HIIRT sulla salute ed il benessere dei soggetti mediante un'analisi a 360°, che comprenda sia lo studio degli adattamenti cellulari che le risposte in termini di performance muscolare.

A tale scopo il progetto di ricerca è stato suddiviso in quattro fasi.

In una prima parte sperimentale abbiamo confrontato l'effetto in acuto sul signalling muscolare di tre differenti protocolli di allenamento: Resistance Training Tradizionale (TRT), High Intensity Resistance Training (HIIRT) e High Intensity Training (HIT). Le prime due tipologie rappresentano due differenti intensità di allenamento con sovraccarichi, la terza proposta è invece un esercizio di tipo aerobico. Per il progetto ho reclutato 16 soggetti i quali sono stati assegnati random ai tre differenti protocolli. Le biopsie muscolari mediante ago sottile, sono state effettuate una settimana prima di ogni allenamento, immediatamente dopo la seduta, a 6h e 24h di distanza. I soggetti sono stati inoltre monitorati durante l'allenamento per valutare la risposta pressoria e cardiaca ai differenti protocolli di RT. L'analisi del signalling ha evidenziato una preferenziale attivazione di Akt in HIIRT, mentre il gruppo TRT sembra attivare maggiormente ERK1/2, invece le proteine

ribosomiali 4EBP1 e S6 hanno subito la medesima influenza. TRT e HIT attivano in modo simile le vie di ossidazione mitocondriale (AMPK, ACC e PCG-1a), mentre HIIRT sembra avere solo un effetto limitato alle prime ore successive all'allenamento. Nessuna differenza significativa è stata evidenziata per la risposta pressoria o cardiaca tra le due tipologie di RT.

Nella seconda fase sperimentale abbiamo considerato gli effetti degli stessi protocolli di RT effettuati per un periodo di 8 settimane. Abbiamo reclutato 20 soggetti di età compresa da 20 e 30 anni. Prima e dopo il periodo di allenamento sono state effettuate le analisi ematochimiche ed ormonali, DEXA, test di forza, VO₂max, e metabolismo basale. Il protocollo HIIRT ha migliorato la forza e la resistenza muscolare ma non la composizione corporea dei soggetti, né è riuscito ad aumentare il metabolismo basale.

La terza fase sperimentale prevedeva lo studio della metodica HIIRT su una popolazione di anziani sedentari. Per il progetto ho reclutato 35 anziani di età superiore ai 60 anni, di cui 23 hanno concluso lo studio. La sperimentazione ha avuto una durata complessiva di 6 mesi. I soggetti hanno iniziato un medesimo protocollo di RT a carichi progressivi per 4 mesi e, dopo una valutazione dei risultati raggiunti, sono stati assegnati random ai due differenti protocolli (HIIRT e TRT). È stato valutato l'effetto dell'allenamento sull'espressione di forza, sulla composizione corporea e su alcuni parametri ematochimici ed ormonali. Al termine dell'esperimento abbiamo potuto confermare quanto sta già emergendo dalla letteratura, ovvero che protocolli troppo intensi di allenamento non sono la metodica più efficace in una popolazione anziana. Nello specifico abbiamo rilevato un miglioramento di forza paragonabile al protocollo a bassa intensità; non si sono apprezzate differenze di massa muscolare dall'analisi della composizione corporea mediante BIA; il profilo ormonale ha mostrato una diminuzione in entrambi i gruppi della concentrazione basale degli ormoni anabolici (IGF-1; GH; testosterone) mentre, le lipoproteine ematiche hanno risposto in maniera positiva all'allenamento HIIRT.

Infine, abbiamo confrontato la metodica HIIRT ed un'altra metodica ad alta intensità, chiamata piramidale (PYR) su indici di danno muscolare. Per questo studio sono stati reclutati 6 soggetti con esperienza nel mondo del body building. La procedura sperimentale prevedeva l'analisi degli indici di danno muscolare quali Creatin Kinase (CK), Colesterolo totale (CHOL TOT) e Acido Lattico (LAT) in seguito ad una singola seduta dei due protocolli allenanti. I campioni ematici sono stati raccolti a riposo, immediatamente dopo l'esercizio, e a distanza di 2 e 48 ore. Le due tipologie di allenamento somministrate non sembrano influenzare in modo significativo i valori di CK, mentre vi è una diminuzione significativa del CHOL TOT (indice di danno muscolare) con la metodica HIIRT rispetto alla metodica PYR; vi è stato un maggior aumento del lattato con metodica PYR rispetto a quella HIIRT. La percezione della dolenzia muscolare è stata maggiore dopo PYR. Questi

dati, sembrano dimostrare che, in atleti esperti, la metodica HIIRT induce un maggior danno muscolare ma una minor sensazione di fatica rispetto al PYR.

In conclusione, la metodica HIIRT è una buona soluzione per aumentare la forza muscolare, ed è ben tollerata dai praticanti. Tuttavia è troppo intensa per soggetti anziani, e non efficace nel migliorare la composizione corporea se non accompagnata, probabilmente, da una dieta controllata.

ABSTRACT

In the last years it has been well demonstrated that Resistance Training is a good stimulus to hypertrophy, but also as a strategy against cardiovascular and metabolic diseases.

But RT is composed by numerous variables that make difficult to understand the real effects of this kind of training. For this reason, the main aim of this dissertation was to study a specific method of RT, in which “intensity” is defined as the ratio between the load (%1RM) and the rest between the sets.

Nowadays the lack of time is one of the major barrier to practise regular physical activity; so, it is important to find an exercise methodology that could be efficient and, at the same time, not too much long.

HIIRT technique (High Intensity Interval Resistance Training) consist in 2 sets of 6 repetition to exhaustion at 80% 1RM, 20” rest, how many reps the subjects are able o perform with the same load, 20” rest and another set.

The aim of this research was to understand the effects of HIIRT technique on the health and wellness of people, starting from cellular analysis to muscular performance responses.

The research program was divided in four phases.

In the first experimental part we aimed to study the acute signalling response on three different kind of exercise: Traditional Resistance Training (TRT), High Intensity Resistance Training (HIIRT) e High Intensity Training (HIT). The first two training represent a different intensity of RT, while the last one, is an aerobic training. 16 subjects participated at the study. Biopsies from the vastus lateralis were taken one week before training sessions (pre), immediately after, 6 hours after and 24 hours after training. Blood pressure and heart rate responses were also monitored during exercise. No significant differences were found at any time points in ribosomal protein of S6 and 4EBP1, while HIIRT seems to increase Akt activation and TRT ERK 1/2 signalling. TRT showed a similar oxidation pathway activation (AMPK, ACC and PCG-1a) to HIT; whilst HIIRT technique seems to have only some effects close to the end of exercise. No differences were found between RT groups in blood pressure and heart rate responses.

In the second experimental we considered the effects of the same RT protocols during 8 weeks of training in 20 young subjects. We assessed blood and hormonal parameters, body composition, strength, VO₂max and resting energy expenditure before and after the training period. HIIRT technique improved maximal strength and muscle’s endurance but didn’t affect body composition or resting metabolism.

In the third experimental phase we studied HIIRT technique on the elderly. 35 old subjects took part to the study, and 23 of those, finished the program. The experimental design was 6 months long: in the first 4 months all subjects performed the same progressive RT protocol, then they were divided in TRT and HIIRT groups. We evaluated strength, body composition and blood parameters. At the end of the experiment no difference in strength improvement were found; the muscle mass showed no significant improvement in both group; anabolic hormonal blood concentration (IGF-1; GH; testosterone) decreased in both training groups while lipoprotein values appeared to improve more in HIIRT than in TRT.

Finally, we compared HIIRT technique with another high intensity method called pyramidal (PYR) on muscle damage indexes in 6 bodybuilders. We assessed Creatin Kinase (CK), Total Cholesterol (CHOL TOT), Blood Lactate (LAT) and “delayed onset muscle soreness” (DOMS) after a single bout of training. Blood samples were collected at baseline, after 2 and 48 hours after training. No differences were found in CK value, while CHOL TOT significantly decreased only in HIIRT; blood lactate and DOMS were higher in PYR compared to HIIRT. These data seems to indicate that HIIRT induce greater muscle damage with less soreness perception.

In conclusion, HIIRT technique might be a good solution to improve muscular strength because it is effective and it is well accepted by subjects. Anyway, it seems bee too much intense for elderly and, without a controlled diet, it could not be a good solution to improve body composition.

PREMESSA

Il Resistance Training (RT) è una tipologia di allenamento che prevede l'utilizzo di sovraccarichi allo scopo di indurre l'ipertrofia muscolare. Il suo impiego nei protocolli di allenamento è sempre stato volto al guadagno di massa muscolare e allo sviluppo di forza; ma esso può migliorare la performance atletica, la salute generale ed il benessere, può essere impiegato come protocollo riabilitativo post intervento chirurgico, per il dimagrimento o per il semplice senso estetico. Qualunque siano le finalità per cui esso venga utilizzato, i benefici di questa forma di allenamento sono ormai riconosciuti. Le stesse linee guida internazionali lo hanno inserito, anche se solo di recente, nelle più recenti revisioni come strumento di prevenzione e controllo di patologie come l'ipertensione, il diabete e per ridurre il rischio di patologie cardiovascolari (1).

Questo ritardo nell'inserire il RT tra le proposte delle linee guida internazionali sull'attività fisica e salute deriva probabilmente dai dati contrastanti che emergono dalle ricerche scientifiche. Se da un lato tutti gli studi concordano nel definire il RT come il miglior stimolo ipertrofico (2-6), non tutti i ricercatori lo vedono come uno strumento efficace nel controllo del tessuto adiposo (7), della sensibilità all'insulina (7) o della pressione sanguigna (8). I risultati conflittuali che emergono da questi studi possono essere spiegati con le numerose variabili che compongono il RT. Rispetto all'allenamento di endurance, le cui componenti si esauriscono con durata dell'allenamento, intensità dello sforzo (% FC o di VO_{2max}) e tipologia di esercizio (corsa, pedalata, ecc); le variabili del RT includono il tipo di contrazione, il tipo di resistenza usata, il volume dell'allenamento, la struttura del workout, la sequenza degli esercizi proposti, la pausa tra le serie, la velocità di esecuzione del movimento, la frequenza dell'allenamento (tab. 1) (9-11). Questi elementi possono variare all'interno di una singola seduta e, se si moltiplicano nel tempo, si otterranno altrettante variabili di programmi di allenamento, a cui si aggiungerebbe la possibilità di combinare più tipologie di training. Infatti, il principio di periodizzazione degli allenamenti nel lungo termine, crea uno scenario di risultati estremamente affascinante ma altrettanto variabile (Fleck 1996; Stone 1987).

Mentre per alcuni può essere positivo poter spaziare tra una moltitudine di condizioni di allenamento, per altri potrebbe essere confondente. D'altro canto, non si possono del tutto dissociare gli effetti di una variabile dall'altra, poiché in questo modo non si riuscirebbe a riprodurre l'allenamento così come viene applicato quotidianamente dagli atleti.

Endurance training		Resistance training	
Variabile	Esempio	Variabile	Esempio
Intensità	% $F_{C_{max}}$; % VO_{2max}	Azioni muscolari	Concentrico, eccentrico, isometrico
Durata		Tipologia di resistenza	Elastici, corpo libero, bilancieri, piccoli attrezzi
Tipologia di esercizio	Treadmill, bike, step, ellittica	Volume	Serie x Ripetizioni
		Esercizi e struttura dell'allenamento	Numero di gruppi muscolari, split routine
		Sequenza degli esercizi	Centrifugo, dai grandi gruppi muscolari ai piccoli, viceversa
		Recupero tra le serie	Completi, incompleti
		Velocità esecutiva	
		Frequenza degli allenamenti	2, 3 volte a settimana

Tabella 1. Componenti dell'Endurance Training e del Resistance Training.

Bisogna inoltre considerare che i modelli *in vitro* ed *in vivo* non sempre combaciano, e alcune delle differenze nelle risposte al RT derivano proprio dal tipo di modello preso in esame (12): studi effettuati con la stimolazione elettrica (*in vitro*) hanno evidenziato un aumento nell'espressione delle proteine legate alla via dell'ipertrofia (13-15), mentre ricerche *in vivo*, ovvero con soggetti sottoposti a contrazioni muscolari volontarie, hanno riportato risposte variabili e talvolta contrastanti alle stesse tipologie di allenamento (16, 17). Vi sono inoltre delle discrepanze sui segnali cellulari registrati dopo una singola seduta di allenamento e la reale crescita muscolare ottenuta mediante la ripetizione di quello stesso stimolo (18). È già stato dimostrato come la risposta trascrizionale ottenuta a seguito di un esercizio si differenzi sensibilmente da quella registrata dallo stesso allenamento, eseguito a distanza di 48 ore (19). Inoltre, è stato osservato che la sintesi proteica non segue un andamento proporzionale al numero di allenamenti eseguiti, ma anzi, che già dopo la seconda seduta essa inizia a ridursi rispetto ai valori iniziali (20). Sembrerebbe quindi che l'analisi della risposta in acuto ad una tipologia di allenamento non sia sufficiente a predire l'adattamento di quello stesso stimolo per un periodo più duraturo.

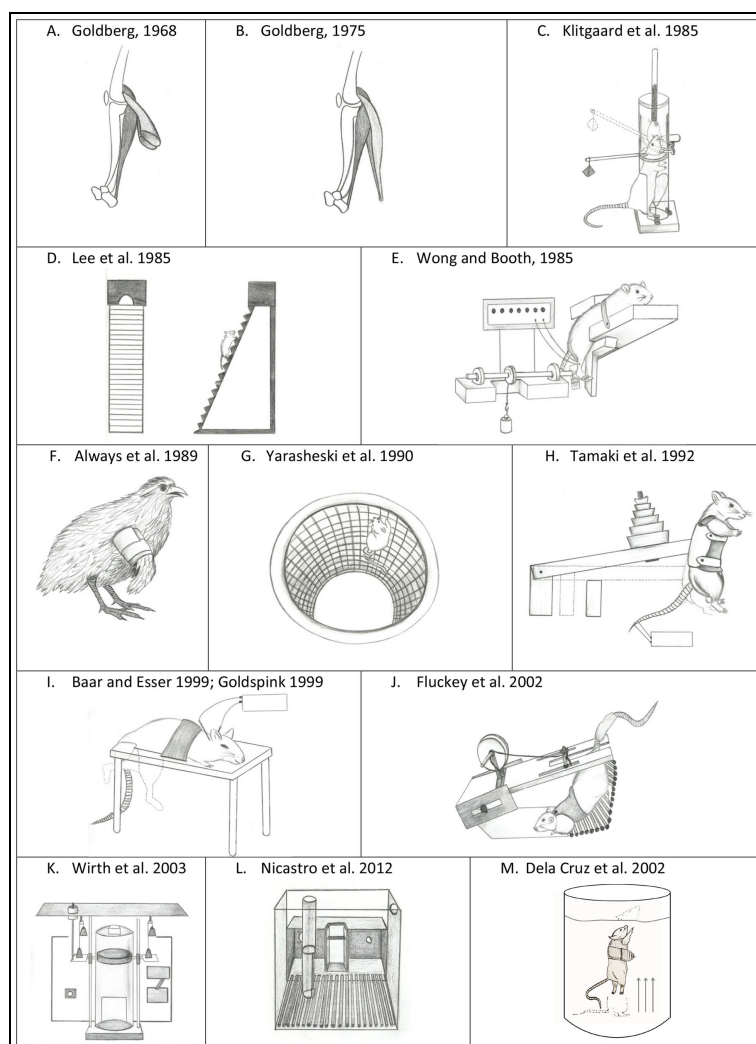


Figura 1. Progressione nei modelli di studio animale del RT (da Cholewa 2014)(12).

Quando si vuole studiare il RT diventa, quindi, indispensabile prendere in considerazione tutte queste variabili, per evitare di essere indotti in errore nell'interpretazione dei dati. È proprio per questo motivo che al centro di questo progetto di dottorato è stato scelto di studiare una precisa metodica di allenamento, in cui carico allenante, tempi di recupero, volume ed intensità di allenamento sono stati ben identificati.

1. INTRODUZIONE

Abbiamo già visto come uno dei principali obiettivi del RT sia l'ipertrofia muscolare. Questo complesso fenomeno è regolato da numerosi passaggi fisiologici: l'attivazione muscolare porta all'iniziazione di diverse vie di segnale che, a loro volta, stimolano la sintesi proteica mediante i processi di trascrizione e traduzione, per poi concludersi con l'ipertrofia della fibra muscolare scheletrica (fig. 1.1).

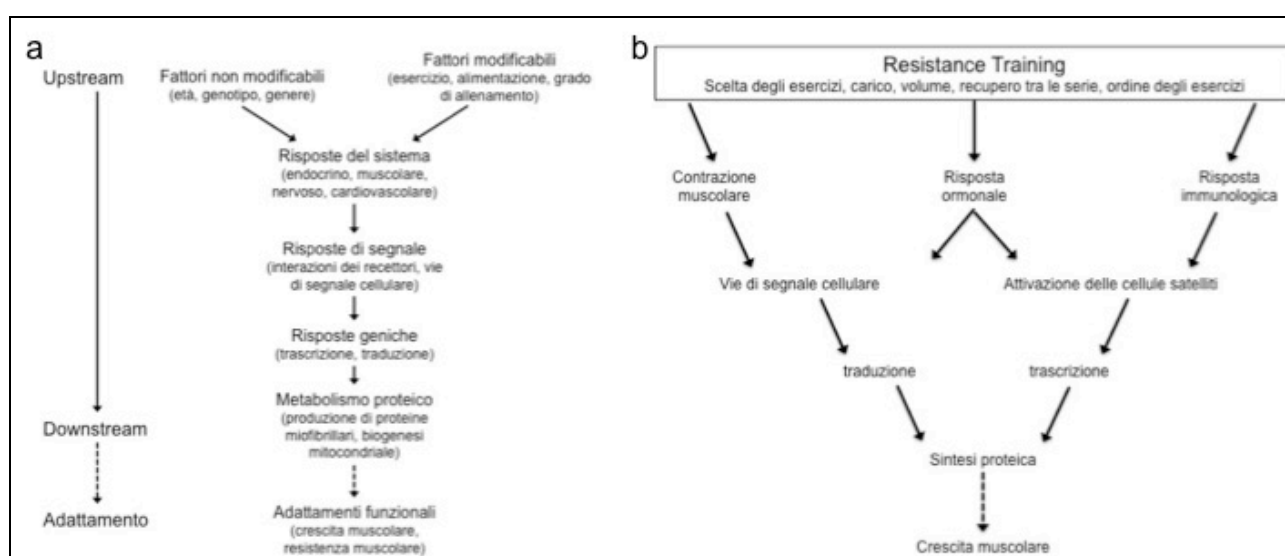


Figura 1.1. a) teorica risposta fisiologica ad uno stimolo. b) paradigma della biologia del RT (adattato da Spiering 2008 (21))

Durante il RT le fibre muscolari vengono attivate per produrre forza. Il principio di Henneman spiega che le unità motorie, e le fibre a cui afferiscono, vengono reclutate dalla più piccola (principalmente fibre di tipo I) alla più grande (fibre di tipo II). Quindi, mano a mano che la forza richiesta aumenta, più unità motorie vengono reclutate, e maggiore sarà l'attivazione delle unità con una elevata soglia. Con esercizi con carichi vicini al massimale, verrà attivato l'intero spettro di unità motorie (22). Questo significa che l'entità del carico sollevato, lo sviluppo di forza richiesto e la fatica muscolare sono componenti importanti nel reclutamento muscolare durante il RT. Considerando che le fibre di tipo I e II rispondono alla contrazione con l'attivazione di differenti vie di segnale, e che le fibre glicolitiche rispondono meglio agli stimoli ipertrofici rispetto a quelle ossidative, esercizi molto intensi richiederanno l'intervento prevalentemente delle fibre II, che

altrimenti non verrebbero attivate, e quindi sembrerebbero essere più efficaci nell'indurre un aumento di forza e dimensione muscolari (23).

Il reclutamento delle fibre agisce sulla crescita muscolare mediante diversi sistemi: la deformazione meccanica della fibra, la risposta ormonale e quella infiammatoria. Questi sistemi possono coesistere ed essere, al tempo stesso, indipendenti tra loro (13, 24).

La deformazione meccanica attiva la via della proteina kinasi B (Akt o PBK)-mammalian target of rapamycin (mTOR), della monophosphate-activated protein kinasi (AMPK) e delle mitogen-activated protein kinase (MAPK).

1.1. SIGNALLING MUSCOLARE.

1.1.1 PROTEIN KINASE B-MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN (AKT-MTOR)

Come per tutte le cellule, anche le cellule muscolari reagiscono ad uno stimolo esterno mediante cascate di segnali cellulari, che permettono la trasmissione del segnale a molecole specifiche che lo interpretano e lo trasducono. Nel caso dell'allenamento, si può riconoscere nella deformazione meccanica delle fibre e/o nelle modifiche dei livelli di ormoni circolanti lo stimolo esterno e nella sintesi proteica il contenuto del messaggio. La sintesi proteica segue una serie di processi biochimici per cui l'informazione contenuta nel mRNA viene convertita in proteine, che accumulandosi andranno ad incrementare la massa muscolare. Negli ultimi anni, vari ricercatori hanno posto la loro attenzione sugli eventi cellulari che mediano la crescita muscolare, delineando alcune vie intracellulari, più efficaci di altre, nell'indurre l'ipertrofia (25-27).

Ad oggi, la via dell'Akt-mTOR sembra essere quella maggiormente studiata e di cui si è meglio compreso il ruolo nella risposta al RT. L'Akt si attiva con la contrazione muscolare, fosforilandosi nel sito della serina Ser⁴⁷³; questa proteina è in grado di attivare fosforilando due importanti target: l'mTOR e la glycogen synthase kinase-3b (GSK-3b). L'Akt fosforila l'mTOR nel sito di Ser²⁴⁴⁸, aumentandone l'attività (27). L'mTOR fosforila la proteina kinasi ribosomiale S6 (p70 S6K), nel sito della Threonine Thr³⁸⁹, e il fattore di iniziazione eucariotico 4E-BP1. La fosforilazione di p70 S6K induce la fosforilazione della subunità S6 della proteina ribosomiale 40S, la quale ha l'azione di aumentare la traduzione di mRNAs codificanti le proteine ribosomiali e i fattori di traduzione cellulare. 4E-BP1, si presenta normalmente legato al fattore di elongazione eIF4E; tuttavia, la sua iperattivazione via mTOR ne provoca il suo rilascio, eIF4E si lega al mRNA e forma il complesso di iniziazione eIF4F (21, 28, 29).

L'Akt fosforila anche GSK-3 β nel sito Ser⁹; questa azione porta alla riduzione dell'inibizione di eIF2B, che accompagna la methionyl-mRNA verso la proteina ribosomiale 40S per l'inizio della traduzione (21, 29).

La cascata di segnali innescata da mTOR può essere attivata indipendentemente dall'Akt, ma coinvolgere l'acido fosfatidico (30). A riposo, α -actinina contenuta nelle bande Z dei sarcomeri si associa alla fosfolipasi D, inibendola (31). Durante lo stress meccanico indotto dalla contrazione muscolare, la fosfolipasi D si dissocia dalla α -actinina promuovendo la produzione di acido fosfatidico e la conseguente attivazione di mTOR (30-32).

Anche se da queste ultime osservazioni si potrebbe pensare che l'Akt non sia fondamentale per i processi di sintesi proteica, la sua azione inibitoria del complesso FOXO (26, 33) attenua l'atrofia muscolare. Topi in cui è stata indotta l'iper-espressione la forma attiva di Akt riuscivano, infatti, a mantenere la massa muscolare nonostante fossero stati denervati (26). L'Akt assume quindi un ruolo di duplice importanza, promuovendo da un lato l'ipertrofia muscolare e prevenendo, dall'altro, i processi atrofici.

1.1.2 ADENOSINE MONOPHOSPHATE-ACTIVATED PROTEIN KINASE (AMPK)

L'AMPK è in eterotrimerico composto da una subunità α che contiene un dominio catalitico con Thr¹⁷² nell'anello di attivazione, e altre due subunità β e γ , non catalitiche, indispensabili per l'attività enzimatica. L'AMPK è da sempre descritta come il "sensore energetico" delle cellule, la sua funzione si esplica in condizioni di bassa energia cellulare, ovvero quando l'AMP è elevato e le concentrazioni di glicogeno scarseggiano.

L'attivazione cellulare di AMPK si manifesta in svariate condizioni: durante ischemia, ipossia, inibizione della glicolisi o durante shock termici (34). L'AMPK viene infatti attivato quando aumenta il rapporto AMP:ATP attraverso complessi meccanismi che coinvolgono reazioni allosteriche. La fosforilazione di AMPK ha degli effetti su l'acetyl-CoA carboxylase (ACC), 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, glycerophosphate acyltransferase, endothelial nitric oxide synthase, 6-phosphofructo-2-kinase, hormone-sensitive lipase, and IRS-1 (35, 36). Agendo su questi substrati l'AMPK induce l'ossidazione degli acidi grassi, migliora l'assorbimento del glucosio e la sensibilità all'insulina (37).

Numerosi studi *ex vivo*, condotti su animali, hanno evidenziato un aumento dell'attivazione dell'AMPK durante elettrostimolazione (38, 39); altri studi *in vivo* hanno confermato lo stesso risultato dopo aver sottoposto i soggetti ad allenamenti su treadmill o cicloergometro, evidenziando, inoltre, un legame con il tempo e l'intensità dell'allenamento (40-43).

Quando viene attivato, l'AMPK promuove il rilascio energetico e processi come la gluconeogenesi e l'ossidazione degli acidi grassi, e al contempo inibisce i processi che consumano energia (es. sintesi proteica) (44). Durante l'esercizio, in situazioni di elevata spesa energetica, l'AMPK sembrerebbe inibire le vie mediate da mTOR riducendo la sintesi proteica (45-47). Il meccanismo mediante cui avviene l'inibizione della sintesi proteica non è al momento chiaro, vi sono inoltre delle ricerche che sembrerebbero contraddire questo effetto inibitorio dell'AMPK nei confronti della sintesi proteica (48). Uno studio di Rose del 2005 (49) ha osservato che l'azione inibitoria che ha la fosforilazione nel sito Thr⁵⁶ dell'AMPK sul eEF-2 avviene già nei primi minuti dall'applicazione dello stimolo e perdura durante tutti i 90 minuti di esercizio aerobico, mentre l'attivazione dell'AMPK cresce lentamente e gradualmente durante la seduta. Questa contraddizione temporale sembra suggerire una non piena influenza dell'AMPK nell'inibizione della sintesi proteica e potrebbe indicare l'intervento di un altro fattore di regolazione, come il Ca²⁺ e l'azione sulla traduzione di mRNA durante l'esercizio, ma non spiegherebbe l'inibizione su mTOR. Un altro studio condotto da Dreyer nel 2006 (50) ha evidenziato un aumento dell'attivazione di AMPK e una riduzione nella fosforilazione di 4E-BP1 durante una seduta di RT, ma entro 2 ore dal termine dell'esercizio, si riscontrava un'attivazione significativa di Akt-mTOR e dei loro sottoprodotti con una conseguente riattivazione della sintesi proteica. Secondo questo studio, l'azione inibitoria dell'AMPK sulla sintesi proteica sembrerebbe relegata alle fasi in cui le scorte energetiche cellulari vengono meno, entro 1-2 ore per poi tornare a livelli basali (51, 52), come se la sua funzione fosse quella di preservare l'energia muscolare; mentre, immediatamente dopo lo sforzo, in condizioni di recupero, i meccanismi di sintesi proteica vengono riattivati. È probabile inoltre che durante esercizi prolungati, l'attivazione dell'AMPK si attenui, come dimostrato da McConell nel 2005 (53), suggerendo l'intervento di altri fattori nella regolazione dei depositi di glucosio e nell'ossidazione degli acidi grassi. Questo studio sembra inoltre sottintendere che il glicogeno muscolare non sia un regolatore importante dell'AMPK durante l'esercizio prolungati.

Al momento, però, il ruolo dell'AMPK nel mediare le risposte all'esercizio con sovraccarichi non è ancora ben chiaro.

1.1.3 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE (MAPK)

La contrazione muscolare stimola l'attivazione di una rete di cascate di segnale, che vengono grossolanamente riconosciute come MAPK. Le MAPK comprendono, infatti, una famiglia di chinasi

che possono essere raggruppate in quattro sottofamiglie: Extracellular signal-regulated kinases 1/2 (ERK 1/2), p38 MAPK, c-Jun NH₂-terminal kinase e ERK5.

Alle MAPK vanno riconosciuti due ruoli fondamentali: in primo luogo la fosforilazione dei fattori di trascrizione e di alcuni co-attivatori (54), e in secondo luogo la fosforilazione degli istoni (55).

È stato osservato che il segnale di MAPK aumenta in seguito ad un esercizio di RT, e questo sembra portare ad un aumento dei processi di trascrizione cellulare (17). Nonostante ciò, il ruolo del MAPK nei meccanismi di adattamento al RT non sono ancora stati completamente chiariti (54).

1.2. RISPOSTA ORMONALE.

Il RT stimola il rilascio di diversi ormoni anabolici, in particolare dell'ormone della crescita (GH), del testosterone e dell'insulina (56-58). Gli ormoni anabolici inducono la sintesi proteica (59, 60), ed è per questo che uno degli effetti di questa tipologia di allenamento è proprio l'aumento della massa muscolare e della forza (61). Ma la secrezione di questi ormoni risente di numerose variabili, che comprendono il numero di serie (62), di ripetizioni (57), l'intensità (63) e il volume dell'allenamento (21, 62), il recupero tra le serie (58).

La risposta ormonale è quindi strettamente correlata alle variabili che compongono il RT (58). In linea generale, il protocollo più efficace nello stimolare gli ormoni anabolici sembra essere quello che prevede l'utilizzo di grandi masse muscolari, carichi medi (10RM), brevi pause tra le serie (1 minuto) e volumi di allenamento elevati (58, 61).

Il GH raggruppa una famiglia di ormoni peptidici, ne esistono più di 100 isoforme (64), secreti dalla porzione anteriore della ghiandola pituitaria e giocano un ruolo fondamentale nella crescita di tutti i tessuti. Alcune ricerche sembrano inoltre dimostrare che il GH sia in grado di promuovere il trasporto di aminoacidi nelle cellule e di sintetizzarli in proteine (65, 66). Quando il GH si lega al suo recettore di membrana dà inizio alla cascata di segnali della Janus Kinasi 2 (JAK2). JAK2 attiva la phosphatidylinositol-3 kinasi (PI-3K), kinasi legata alla via dell'Akt-mTOR. Questo meccanismo potrebbe in parte spiegare la capacità del GH di promuovere la traduzione e la sintesi proteica mediante l'incremento dell'attività di eIF2B e la fosforilazione di 4E-BP1, con una conseguente risposta anabolica all'esercizio (21, 29). Kraemer e colleghi hanno inoltre dimostrato come nel lungo termine l'allenamento con sovraccarichi riesca ad aumentare l'attività biologica del GH circolante (67).

Tuttavia la letteratura scientifica ci offre numerosi spunti per dimostrare che la risposta del GH dipende dal tipo di programma proposto: lo stimolo migliore sembrerebbe essere un protocollo con brevi intervalli tra le serie ed un elevato carico, vicino all'85% circa di 1RM (58, 68, 69). La

risposta a questo particolare stimolo potrebbe essere giustificata dall'aumento del metabolismo glicolitico che ne deriva (70-72); è stato già dimostrato che alcuni dei fattori legati al meccanismo anaerobico sono in grado di regolare la produzione di GH (73) e un programma di RT intenso con brevi pause tra le serie è sicuramente uno stimolo anaerobico.

Ma il GH è inoltre capace di stimolare la produzione di IGF-1 (Insulin Growth Factor -1) da parte del fegato e/o dal muscolo, la cui funzione si esplica sia andando a stimolare l'asse PI-3K-Akt-mTOR ma anche inducendo la proliferazione e la differenziazione delle cellule satelliti (21).

In passato, numerosi studi hanno imputato al volume di allenamento un ruolo cruciale per la stimolazione del GH (11, 62); tuttavia studi più recenti sembrano contraddire questa ipotesi, osservando quindi che allenamenti con volumi inferiori sono più efficaci nello stimolare la produzione locale di GH (11, 57, 68, 74). Ancora una volta la spiegazione più plausibile sembrerebbe quella per cui il GH venga stimolato in condizioni di accumulo di metaboliti, come il lattato e gli ioni idrogeno, tipici del metabolismo anaerobico, come dimostrato anche negli studi effettuati con la metodica del "blood flow restriction", il cui scopo è proprio quello di aumentare la durata dell'acidosi metabolica (75).

Alcune tipologie di allenamento, tra cui l'attività di endurance e protocolli particolarmente intensi di RT possono attenuare l'attività del GH, soprattutto quando viene raggiunta una durata di esercizio sufficientemente lunga (almeno 30 minuti) (66, 76, 77).

Esistono ad ogni modo fattori esterni, come le differenze interindividuali, la capacità di raggiungere l'esaurimento ad ogni serie, ed altre interazioni ormonali che possono falsare queste indicazioni. È stato, ad esempio, dimostrato che nella prima fase follicolare (78) e medio-luteinica (76) del ciclo mestruale, le donne presentano livelli basali di GH superiori a quelli maschili, anche se allenamenti intensi inducono la medesima risposta in entrambi i generi (72, 79). Sembrerebbe quindi che il GH sia un fattore decisivo nell'adattamento fisiologico delle donne agli esercizi con elevati sovraccarichi (72, 78).

A differenza del GH, il testosterone sembra preferire allenamenti con pause più lunghe tra e serie, almeno 90-120 secondi (58, 68, 72) e il coinvolgimento di grandi gruppi muscolari (58, 72). Il testosterone è un ormone steroideo, appartenente alla famiglia degli androgeni, e viene prodotto in gran parte nei testicoli, e in particolare dalle cellule di Leydig, ed in minima parte dalle ovaie e dalla corteccia surrenale. La sua produzione viene regolata dall'ormone luteinizzante (LH), che nelle donne regola invece è correlato alla formazione del corpo luteo. Il testosterone agisce legandosi ai recettori per gli androgeni (AR), attivando dei fattori di trascrizione capaci di entrare nel nucleo della cellula ed associarsi al DNA per regolarne l'espressione dei geni specifici per gli androgeni (68). Sembrerebbe che il RT riesca a d aumentare i siti per questi recettori, migliorando quindi la

sensibilità del muscolo agli androgeni circolanti (64). Il testosterone, similamente all' IGF-1, può influenzare anche le cellule satelliti; è stato infatti dimostrato che dosi sovrafisiologiche di questo ormone induce un aumento del numero delle cellule satellite, secondo una relazione direttamente proporzionale (80), stimolandone anche la proliferazione e la differenziazione (60).

Alcune ricerche degli ultimi anni (63, 68, 81), hanno evidenziato un aumento del testosterone circolante anche con protocolli ad alta intensità o con carichi massimali, senza tra l'altro notare evidenti modificazioni dell'LH, dell'ormone follicolo stimolante (FSH) o del GH. Alcune ricerche sembrano suggerire che la produzione di testosterone indotta dall'esercizio non sia strettamente correlata all'attività dell'LH stimolata dalle cellule di Leydig (81, 82). Altri meccanismi, come lo stress legato al RT (63), la ridotta clearance (82), l'azione adrenergica e lattato dipendente (83, 84) e la stessa concertazione ematica dell'ormone, potrebbero essere coinvolti. Questi dati sembrerebbero contrastare quanto dimostrato precedentemente, ma gli studi sugli effetti di allenamenti ad alta intensità non sono ancora sufficienti per consolidare questa ipotesi.

Il terzo ormone stimolato dal RT è l'insulina, esso è un ormone peptidico prodotto dalle cellule β del pancreas, ed ha importanti funzioni anaboliche. L'insulina, oltre ad avere un ruolo ipoglicemizzante e favorire la glicogenosintesi epatica, facilita il passaggio degli aminoacidi all'interno delle cellule, stimola la sintesi proteica e la proliferazione cellulare (85). L'azione anabolica dell'insulina è strettamente legata ai suoi substrati recettoriali (IRS) (86, 87), la cui fosforilazione porta all'attivazione di PI3-kinase, una kinase lipidica implicata nell'iniziazione di Akt (87, 88). L'esercizio fisico, aerobico o contro resistenza che sia, migliora la sensibilità all'insulina (89): la contrazione muscolare, infatti, induce l'attivazione della proteina carrier del glucosio (GLUT-4), che trasferisce il glucosio direttamente all'interno della cellula (90).

La letteratura ha ormai dimostrato che la sensibilità all'insulina viene migliorata sia con esercizi aerobici (91) che con il RT (92), anche se molti studiosi suggeriscono che la combinazione tra le due forme sia la soluzione migliore (93, 94). Non è ancora chiaro se un allenamento intenso sia più efficace nello stimolare la produzione di insulina (95), rispetto ad un programma più moderato (96). La letteratura sembra quindi confermare che la risposta ormonale indotta dall'esercizio contro resistenza sia un potente stimolo anabolico, e che l'azione degli stessi ormoni migliori seguendo protocolli di allenamento nel lungo termine (29). Tuttavia, lo stimolo ormonale è una condizione sufficiente ma non necessaria; alcuni studi hanno infatti dimostrato che miglioramenti nell'ipertrofia muscolare e nell'incremento nell'espressione di forza si possono ottenere anche senza un aumento degli ormoni circolanti (61, 97). Mentre la condizione basale ormonale sembra essere collegata agli incrementi di massa muscolare, recentemente forti dubbi sono stati sollevati sulla reale importanza delle modifiche acute ormonali indotte dall'allenamento. Soprattutto il

gruppo di Phillips ha recentemente pubblicato alcuni lavori che mettono in discussione il sopra descritto effetto dello stimolo ormonale allenamento correlato sugli incrementi di forza. La critica principale di Phillips e coll. (18) è che l'aumento degli ormoni sia un fenomeno talmente transiente che non ha, in realtà, alcun effetto rilevante.

1.3. RISPOSTA INFIAMMATORIA.

Quando lo stimolo dato dalla contrazione muscolare è sufficientemente intenso, e in particolare quando viene accentuata la fase eccentrica del movimento, il muscolo scheletrico subisce un danno cellulare. Per sopperire alla richiesta contrattile, le miofibrille devono, infatti, allungarsi per esprimere forza; la ripetizione prolungata di questo stimolo porta alla rottura della membrana sarcomerica (98). Il danno muscolare che ne consegue è una delle cause dell'indolenzimento muscolare post-esercizio, ma è al contempo un potente stimolo ipertrofizzante (99, 100). Di seguito al danno muscolare indotto dal RT, si registra un'aumentata mobilitazione di neutrofili e macrofagi; oltre al compito di degradare il tessuto danneggiato, essi sono dei promotori delle citochine infiammatorie (IL-6, TGF- β , TNF α) (99, 100). L'IL-6 stimola la proliferazione delle cellule satelliti mentre l'TGF- β ne induce la differenziazione (101). Il TNF α , invece, inibirebbe la via dell'Akt (102); tuttavia, il suo rilascio viene soppresso durante allenamenti di lungo termine, e con esso si inibisce anche la sua azione anti-ipertrofica (103).

1.4. DALLA SINTESI PROTEICA ALLA CRESCITA MUSCOLARE.

Abbiamo visto che i processi di sintesi proteica vengono attivati al termine di una singola seduta di allenamento. Ovviamente, un solo stimolo non è sufficiente a garantire un incremento della massa muscolare, che avviene solo con la ripetizione costante e seriale dell'esercizio, per periodi più o meno duraturi ed un adeguato apporto di proteine alimentari. La crescita muscolare è basata sul rapporto tra la sintesi e il catabolismo proteico: solo se i processi di sintesi superano quelli del breakdown si avrà l'incremento muscolare.

Il RT induce sia la sintesi che il degrado proteico (danno muscolare), ma la stimolazione delle vie di segnale cellulari dell'ipertrofia e l'attivazione delle cellule satelliti indotte dall'allenamento superano di gran lunga l'effetto del breakdown proteico. Il risultato è l'incremento della sintesi proteica, l'aumento delle dimensioni e della cross sectional area delle fibre muscolari.

Al momento non è possibile definire una reale tempistica con cui questi effetti si verifichino, tuttavia studi animali hanno descritto un aumento della fosforilazione di p70 S6K e di eIF4E entro

le prime 24 ore dallo stimolo RT-simile (104), mantenendo la loro efficienza nella traduzione per tutta la durata del protocollo di allenamento. Il contenuto di DNA continua a crescere anche dopo il termine degli allenamenti, mentre l'RNA muscolare, indice dell'attività di traduzione, aumenta dal terzo al settimo giorno, e rimane poi a livelli elevati, ma costanti, per il resto del tempo (104). Sembrerebbe quindi che nella fase di risposta acuta al RT, sia fondamentale il processo di traduzione del segnale, e quindi l'aumento dell'mRNA e del signalling muscolare; ma per garantire l'adattamento nel lungo termine, diventano indispensabili anche l'attivazione delle cellule satelliti e dei processi di trascrizione (21).

1.5. LE PRINCIPALI VARIABILI DEL RT: INFLUENZA SULLE VIE DI SEGNALE MUSCOLARE.

Abbiamo già descritto come il RT sia una tipologia di allenamento particolarmente complessa da studiare a causa delle numerose variabili che lo compongono. Negli ultimi anni, alcuni ricercatori hanno cercato di focalizzarsi su quelle componenti, che sono state ritenute le più importanti, per comprenderne l'influenza su alcuni parametri fisiologici e cellulari.

1.5.1 SOVRACCARICO

Il carico è la quantità di peso sollevato, o la quantità di resistenza che l'attrezzo offre, durante l'esercizio. Normalmente il carico dell'allenamento viene definito come la percentuale di 1RM (ripetizione massimale), ovvero di quel peso con il quale il soggetto riesce a fare una, ed una sola, volta l'esercizio richiesto. Ovviamente il valore reale dell'1RM varia a seconda del soggetto, del gruppo muscolare preso ad esame ma anche dalla tipologia di esercizio richiesto; esercizi pluriarticolari permetteranno di sollevare carichi maggiori rispetto ad esercizi monoarticolari per lo stesso muscolo (fig. 1.2). Ecco che la percentuale dell'1RM diventa un ottimo strumento per normalizzare il carico allenante. Un'altra formula comunemente utilizzata è il numero specifico di ripetizioni da effettuare (ad es. 5RM): altro non è che un modo differente per descrivere lo stesso concetto, in quanto esiste una relazione proporzionale tra il numero di ripetizioni eseguibili e la percentuale di 1RM col quale svolgerle.

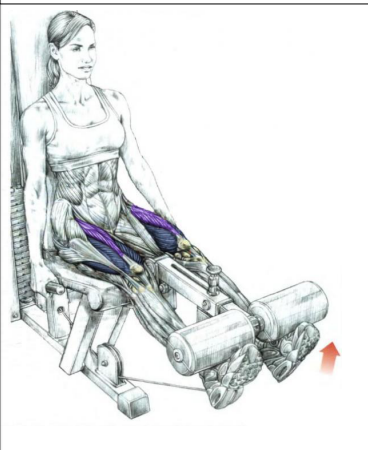
LEG EXTENSION	SQUAT
	
ESERCIZIO MONOARTICOLARE: coinvolge una sola articolazione (ginocchio)	ESERCIZIO MULTIARTICOLARE: coinvolge più articolazioni (anca, ginocchio, caviglia)

Figura 1.2. Esempio di esercizio monoarticolare e multiarticolare.

Il carico utilizzato è, in realtà, strettamente correlato alle altre variabili. Se il carico aumenta, il numero di ripetizioni sostenibili diminuisce di conseguenza, andando quindi a diminuire il volume dell'allenamento. L'utilizzo di percentuali differenti di carico permette l'allenamento di specifiche capacità muscolari: 1-6RM viene utilizzato per l'incremento della forza; 8-12RM per l'ipertrofia, 15-25RM per la resistenza muscolare (105, 106) (fig. 1.3 e fig. 1.4).

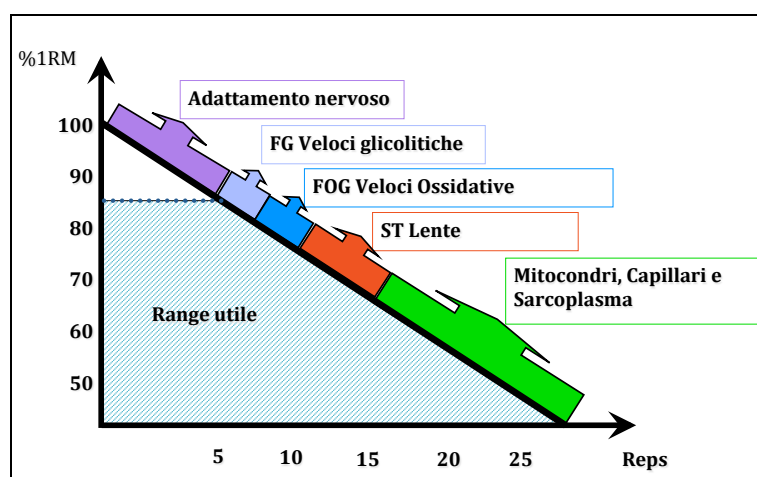


Figura 1.3. Grafico sulla relazione tra il carico e la componente muscolare stimolata.

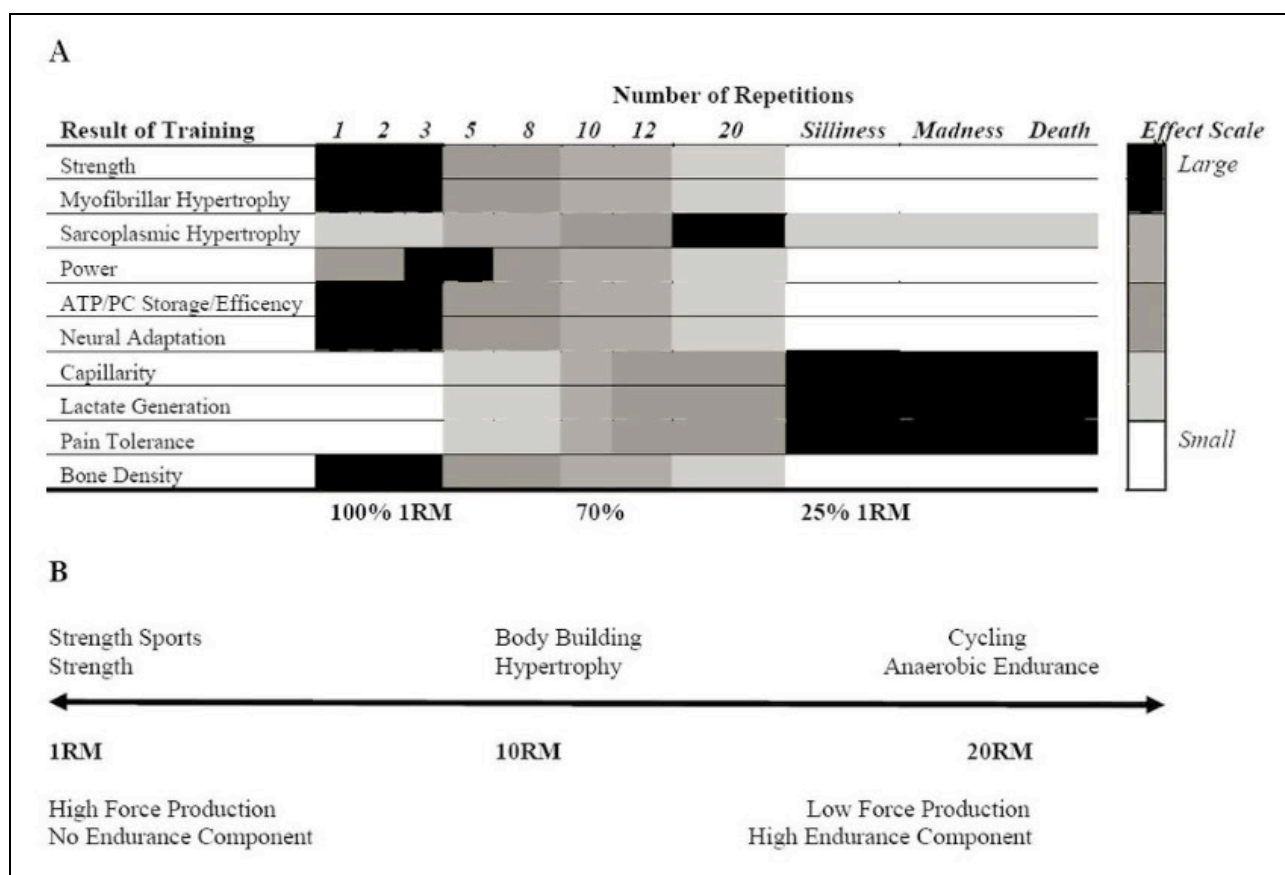


Figura 1.4. Rapporto carico, ripetizioni ed obiettivo (tratto da Rippetoe 2005 (107))

Al momento, non sono presenti studi in letteratura che abbiano verificato nell'uomo come differenti carichi possano influenzare le vie di segnale cellulare. Esistono però alcuni ricerca, effettuate su modelli animali mediante elettrostimolazione, in cui, variando la frequenza dello stimolo, si possono simulare esercizi con contrazioni più o meno intense (13, 15). Da questi studi è emerso che frequenze elevate (che reclutano preferenzialmente le U.M. veloci) stimolano la via Akt-mTOR, mentre frequenza più basse (che reclutano preferenzialmente le U.M. lente) aumentano la via ossidativa dell'AMPK, confermando quindi l'idea che carichi elevati promuovono l'ipertrofia e la forza muscolare, mentre carichi più bassi siano utili per migliorare la resistenza muscolare e le vie di ossidazione mitocondriali.

Purtroppo in questi studi, come in tutte le ricerche sul RT, è estremamente complesso riuscire a mantenere omogenei nei gruppi le altre variabili, e in particolare il volume e il recupero tra le serie. I risultati ottenuti possono essere considerati, purtroppo, solo come delle deduzioni approssimative del reale ruolo del carico sulle vie di segnale muscolare.

1.5.2 RECUPERO TRA LE SERIE

Il tempo che trascorre tra una serie e l'altra, è un fattore molto importante per l'adattamento all'allenamento. Una serie di studi condotti su topi, sottoposti a differenti tipologie di RT, ha evidenziato in modo molto chiaro quanto questo parametro sia influente (108-110).

Pausa incomplete sembrano massimizzare la produzione di GH, e quindi sembrerebbero più efficaci nell'indurre l'ipertrofia (58, 72, 78, 106). Tuttavia non sempre è possibile sostenere brevi tempi di recupero, soprattutto se il volume dell'allenamento richiede serie ripetute (62), e nel lungo termine, recuperi troppo corti, possono influenzare negativamente la performance e l'espressione di forza (106).

Dal punti di vista molecolare, brevi pause non permettono il recupero completo del glicogeno muscolare, e dovrebbero quindi stimolare l'attivazione dell'AMPK (111). Questo in potrebbe spiegare in parte quando osservato da Robinson nel 1995 (112), ovvero che pause troppo brevi non erano efficaci per l'aumento della forza muscolare in un gruppo di giovani adulti.

Le ricerche non sono ancora riuscite a spiegare quale legame ci sia tra l'attivazione dell'AMPK e la stimolazione dell'ormone anabolico GH, e quale dei due segnali sia più forte nell'imporre i propri effetti sul muscolo.

1.5.3 VOLUME

Il volume di un allenamento è dato dal prodotto delle serie effettuate, le ripetizioni da cui sono composte ed il carico sollevato (113). La manipolazione di questo parametro può influenzare la risposta ormonale (58), neuronale (114) e metabolica (115) all'esercizio. La letteratura sembra essere piuttosto concorde nell'individuare una maggior risposta degli ormoni anabolici (GH e testosterone) durante allenamenti a grandi volumi rispetto a programmi più semplici (single set) (62); alcuni studi sembrano, inoltre, suggerire che volumi maggiori siano più efficaci in termini di adattamenti generali al RT rispetto a volumi minori (116, 117). Sicuramente volumi minori possono essere adatti a chi inizia un programma di allenamento (106) mentre non sembrano essere sufficienti per atleti evoluti, che necessitano invece di serie multiple (106). Fino a una decina di anni fa alcuni autori sostenevano che una singola serie per esercizio fosse sufficiente per qualsiasi tipo di soggetto (118); ma negli ultimi anni questa teoria è stata smentita, avendo numerosi studi confermato che allenamenti con serie multiple si associano al 46% dei miglioramenti nell'espressione di forza sia in soggetti allenati che non allenati (6, 119).

Non sempre però protocolli con multiple sets inducono significativi aumenti della massa muscolare (120-122), suggerendo quasi un maggior contributo dei meccanismi di adattamento neuronale rispetto a quelli ipertrofici.

Dal punto di vista molecolare, infatti, allenamenti con ampi volumi portano all'esaurimento completo del glicogeno muscolare, andando ad attivare le vie dell'AMPK, e favoriscono quindi la resistenza muscolare (123-125). Questi dati concordano con quelli relativi al carico allenante: per ottenere allenamenti ad alti volumi si agisce aumentando le serie e le ripetizioni, ovviamente, per poter sostenere un incremento di questi due fattori si dovrà diminuire il carico sollevato. Gli studi di Atherton e colleghi (13, 15) avevano infatti dimostrato che a carichi inferiori si attivano le vie ossidative dell'AMPK e si inibiscono invece quelle di Akt-mTOR. Creer (125) ha a sua volta implicitamente dimostrato che allenamenti a grandi volumi attenuano la risposta ipertrofica, verificando come in condizioni di bassi livelli di glicogeno si atteni l'attivazione proprio di Akt-mTOR.

Questi risultati sembrano, però, contrastare quanto descritto precedentemente, ovvero che volumi di RT maggiori stimolano le risposte anaboliche in misura migliore rispetto ad allenamenti con un numero minore di serie e ripetizioni. Probabilmente questa contraddizione deriva dal fatto che il modello animale utilizzato da Atherton e colleghi (13) prevedeva l'attivazione muscolare mediante elettrostimolazione, e questa tecnica non sempre rispecchia ciò che avviene durante una contrazione volontaria; d'altro canto Creer (125) aveva richiesto ai suoi soggetti di eseguire 3 serie da 10 reps al 70% 1RM alle leg extension a differenti condizioni basali del contenuto di glicogeno, evidenziando comunque una bassa attivazione della via Akt-mTOR. Ancora una volta, la ricerca scientifica non è ancora in grado di stabilire una precisa relazione tra le vie di segnale cellulari attivate a diversi volumi di allenamento e la reale risposta in termini di adattamento muscolare.

1.5.4 SCELTA DEGLI ESERCIZI

La scelta degli esercizi comprende sia la tipologia di contrazione che si richiede al muscolo (eccentrica, concentrica o isometrica) sia il gruppo muscolare coinvolto (grande o piccolo). L'intervento di grandi gruppi muscolari, come avviene in esercizi multiarticolari, provoca una maggiore risposta ormonale e metabolica rispetto ad esercizi selettivi per specifici muscoli (126-128). La spiegazione più plausibile deriva dalla considerazione che con esercizi multiarticolari, ove il reclutamento neuronale è articolato (129), si riesca a sollevare un carico maggiore. Esercizi monoarticolari, coinvolgono in genere un solo muscolo, e quindi, venendo meno l'azione

coadiuvante della muscolatura sinergica, permettono un minor sviluppo di forza e quindi il sollevamento di carichi più piccoli.

La scelta degli esercizi prevede anche la differenziazione tra contrazione eccentrica e concentrica. È noto dalla letteratura che durante l'azione eccentrica del muscolo viene prodotta una maggior forza per unità di volume (130) e prevede una miglior efficienza neuromuscolare (130, 131), il che rende questa contrazione la più efficace in termini di carico sollevato. Numerosi studi hanno, inoltre, confermato che la contrazione eccentrica induca un maggior danno muscolare (132-134) e che stimoli la proliferazione delle cellule satelliti (135).

Dal punto di vista molecolare, una contrazione eccentrica massimale risulta più efficace nell'indurre la fosforilazione di p70S6K (16) e MAPK (54) rispetto a quella concentrica o isometrica, traducendosi in un miglior stimolo ipertrofico. Tuttavia, quando la tensione muscolare viene pareggiata (possibile solo su modelli animali), non si registrano differenti risposte tra le tre tipologie di contrazione (136). Ciò non toglie che, nell'uomo, la fase eccentrica sia la più efficace sia per la produzione di forza che come stimolo ipertrofico rispetto alla fase concentrica, mentre la contrazione isometrica sembra avere un ruolo irrilevante nella crescita muscolare.

1.5.5 ORDINE DEGLI ESERCIZI

Anche l'ordine in cui vengono proposti gli esercizi possono influenzare l'esito del programma di allenamento.

L'attivazione elettromiografica si attenua nel corso dell'allenamento, andando ad inficiare la performance muscolare (137). Anche la riduzione delle scorte di glicogeno e di fosfati muscolari riducono l'efficienza muscolare, dissuadendo quindi dalla scelta di inserire esercizi che richiedono una maggior coordinazione neuromuscolare e una maggior domanda metabolica alla fine della seduta.

Le linee guida suggerisco di inserire sempre prima gli esercizi multiarticolari, che richiedono un maggior coordinazione neuromuscolare e per cui è importante avere a disposizione tutte risorse energetiche; non sembrano esserci tuttavia differenze per quanto riguarda l'influenza sull'ipertrofia muscolare (106).

1.6. DIFFERENZE DI GENERE.

Abbiamo visto come il RT sia un potente stimolo ipertrofizzante e incida sull'aumento dell'espressione muscolare di forza. Una serie di studi, anche se ormai datati, sembra suggerire che

vi sia una differenza di genere nella risposta al RT, e in particolare, che l'aumento di forza e di massa muscolare siano meno evidenti nelle donne rispetto agli uomini (138-140). Questa differenza è stata per anni giustificata con la minor concentrazione di ormoni anabolici che caratterizzano le donne, e con la conseguente minor massa muscolare (141).

Studi più recenti sembrano invece confutare queste teorie. Bisogna in primo luogo sottolineare che spesso le ricerche condotte sul "gender differences" non nascono con questo obiettivo, mentre sono il risultato secondario di studi con altri focus. Questo però solleva un'ulteriore riflessione: è possibile inserire nel campione soggetti di genere differente, e aumentare quindi la numerosità e la potenza dello studio, quando si vuole indagare il RT?

Una revisione più recente della letteratura sembra non ritenere significative le differenze tra uomini e donne. Studi condotti su una popolazione di giovani adulti ha riscontrato simili adattamenti nella massa magra, nella CSA muscolare e delle singole fibre (142-145); anche se la tendenza è quella di una maggior risposta maschile, questi studi non hanno rilevato una differenza statisticamente significativa. Nella popolazione anziana, le differenze di genere sembrano essere più marcate. Innanzi tutto le donne possiedono una minor massa muscolare, ma tendono a perderla più lentamente rispetto agli uomini (146). Nonostante alcuni studi abbiano evidenziato una risposta al RT paragonabile nei due sessi, su forza e composizione corporea (147), altri sembrano confermare una maggior funzione contrattile, diametro e CSA delle singole fibre negli uomini rispetto alle donne (148-150).

Che gli uomini siano in grado di esprimere una maggior forza assoluta rispetto alle donne non necessita sicuramente di conferme scientifiche; tuttavia un'interessante osservazione di Hannah e collaboratori nel 2012 (151) accorcia le distanze tra i due generi: il ricercatore inglese ha infatti dimostrato come, normalizzando per la massa muscolare, le differenze di forza espresse da uomini e donne siano praticamente comparabili, dimostrando quindi che le donne hanno simili capacità di generazione di forza, ma ciò che le rende meno forti degli uomini è proprio la quantità di massa muscolare.

A questo proposito potrebbe tornare utile la spiegazione proposta già nei primi anni '90, ovvero la differente produzione di ormoni anabolici tra i due generi. È stato ormai ampiamente dimostrato come il testosterone stimoli la sintesi proteica e favorisca quindi la crescita della massa muscolare, mentre sembrerebbe che gli estrogeni la inibiscano (152, 153). Nonostante ciò, vi sono dati che negano le differenze nella sintesi proteica tra i due generi (154), e anche se si possono registrare lievi differenze nell'attivazione di Akt-mTOR-p70S6k (144), queste non sono sufficienti a determinare una differenza in termini di risposta ipertrofica (145).

Alcuni autori sostengono che le differenze si possano apprezzare solo nelle fasi della vita in cui si subiscono dei cambiamenti fisiologici, come nell'adolescenza o nella vecchiaia, in cui anche il tessuto muscolare è più sensibile agli sbalzi ormonali (155).

Ancora una volta sembra difficile riuscire a dare una risposta precisa, ma quello che la letteratura sembra suggerire, fino ad oggi, è che uomini e donne possiedono masse muscolari differenti, influenzate con ogni probabilità da fattori ormonali, ma ciò non determina una risposta all'allenamento differente. Non è quindi necessario proporre programmi di RT diversi allo scopo di indurre dell'ipertrofia muscolare, poiché il muscolo sembra reagire allo stesso modo. Un occhio di riguardo va posto se si opera con soggetti over 60, ove le donne sembrano mantenere un miglior turnover proteico rispetto agli uomini.

1.7. SOMMARIO

Lo studio del RT è intricato e ricco di variabili.

L'ipertrofia indotta dall'esercizio si realizza grazie all'attivazione delle vie di segnale muscolare che inducono la sintesi proteica, ma, che a loro volta, sono influenzata dalla risposta ormonale ed infiammatoria. La deformazione meccanica delle fibre e l'azione dell'insulina sembrano essere i maggiori fautori di questi processi, che ruotano attorno alla fosforilazione dell'mTOR, proteina chiave per i processi di crescita e proliferazione cellulare.

Le numerosi variabili che compongono il RT possono influenzare l'attivazione dei vari processi cellulari, e il loro essere dipendenti l'una dall'altra rende lo studio di questa forma di esercizio molto complessa.

2. SCOPO DELLE TESI.

Lo scopo di questa tesi è quello di studiare una precisa metodica di RT ad alta intensità, definita HIIRT (High Intensity Interval Resistance Training) e valutarne gli effetti sulla risposta di signalling muscolare, sulla morfologia muscolare, sulla composizione corporea, sull'espressione di forza e sui parametri di rischio cardiovascolare.

Per perseguire questo obiettivo la parte sperimentale è stata suddivisa in quattro fasi: in un primo momento è stato studiato l'effetto in acuto di una singola seduta di allenamento per valutarne gli effetti sul signalling muscolare in diversi time point e per studiare la risposta cardio-pressoria durante l'esercizio; in una seconda fase sono stati valutati gli adattamenti a lungo termine su una popolazione di giovani sedentari; in una terza fase l'esperimento è stato ripetuto su una popolazione anziana; infine, in un'ultima esperienza, abbiamo voluto confrontare la metodica HIIRT con un'altra metodica ad alta intensità, valutando la risposta del danno muscolare con degli atleti esperti.

Allo duplice scopo di eliminare potenziali bias date dall'eterogeneità del campione e con la curiosità di voler indagare in modo più approfondito gli effetti dell'HIIRT, abbiamo confrontato e valutato eventuali differenze di genere nelle all'allenamento.

3. MATERIALE E METODI.

3.1. HIIRT (HIGH INTENSITY INTERVAL RESISTANCE TRAINING)

Prima di iniziare a descrivere la parte sperimentale di questo progetto di dottorato, è bene spiegare in dettaglio in cosa consiste la metodica attorno a cui esso è stato costruito.

La metodica HIIRT prende spunto da una delle tecniche utilizzate dai Body Builders. La tecnica consiste nell'utilizzare carichi talmente elevati da permettere solo poche ripetizioni, alternando le serie con recuperi molto brevi (tab. 3.1). In questo modo si ottiene la stimolazione ad altissima intensità delle unità motorie profonde, si arriva alla massima deplezione dei fosfati muscolari e si stimola una maggior secrezione di testosterone ed, in parte, anche di GH (58).

Si può definire questa metodica come un allenamento intervallato applicato ai pesi, ove il sistema energetico utilizzato è quello anaerobico lattacido. L'utilizzo di stimoli brevi ma intensi permette di raggiungere un totale esaurimento dei fosfati ma prevenendo al contempo la produzione di acido lattico. La tecnica si fonda, infatti, sul fatto che il reintegro del 50-70% di ATP e PC avviene entro 20-30 secondi dalla fine dello sforzo (156-158); imponendo un tempo di recupero pari a 20 secondi, si avrà sufficiente energia per riprendere l'esercizio ma non abbastanza per ripetere il medesimo numero di ripetizioni, e questo si ripete fino all'esaurimento completo.

La carenza dei fosfati a livello muscolare favorisce la formazione dei poliribosomi, e quindi la stimolazione della sintesi proteica; d'altro canto, essa induce anche un meccanismo di supercompensazione per cui, dovendo sopperire ad una maggior necessità di ATP dovuta al lavoro meccanico, il muscolo si trova nelle condizioni di dover preservare una scorta energetica per affrontare eventuali stimoli successivi (159, 160).

La sintesi proteica viene inoltre stimolata dalla risposta infiammatoria che deriva dal danno muscolare indotto dal mantenimento di un carico elevato (80-85% di 1RM) per l'intera durata dell'esercizio.

Serie	Ripetizioni	Carico	Recupero
1	6	80-85 % 1RM	20''
2	3-4	80-85 % 1RM	20''
3	1-2	80-85 % 1RM	20''
4	1	80-85 % 1RM	2'30''

Tabella 3.1. Esempio di HIIRT.

La metodica HIIRT risulta essere quindi un'ottima tecnica per incrementare la forza, dato il grande numero di unità motorie richieste per affrontare l'esercizio; per stimolare l'ipertrofia, considerando la produzione degli ormoni anabolici che ne derivano, ed infine, sembra essere un buon metodo a scopo dimagrante. Recenti ricerche hanno infatti dimostrato che una singola seduta di HIIRT può indurre un maggior aumento dell'EPOC (Excess Post-exercise Oxygen Consumption) con un effetto che perdura fino a 24 ore successive all'allenamento (161); questo risultato potrebbe inoltre spiegare come 12 settimane di circuit training con HIIRT provochi effetti positivi sulla perdita di peso e di massa grassa, rispetto ad un circuito ad intensità più bassa o al solo esercizio aerobico (162).

4. PRIMA FASE SPERIMENTALE.

4.1. EFFETTI IN ACUTO DI DIVERSE INTENSITÀ DI ALLENAMENTO SUL SIGNALLING MUSCOLARE.

Abbiamo visto come il RT sia un potente stimolo anabolico e come una singola seduta di allenamento possa già indurre risposte ormonali e modificazioni nelle vie di signalling, che portano alla sintesi proteica muscolare (11, 106, 163). Abbiamo anche già osservato che non sempre la risposta ad una singola seduta di allenamento rispecchia quello che poi si realizza con la ripetizione dello stimolo (18); tuttavia studiare come differenti intensità di allenamento possano influenzare la risposta muscolare e cardiovascolare all'esercizio può essere utile per comprendere i meccanismi che portano a tali adattamenti.

Troppo spesso la letteratura si riferisce al RT come all'allenamento di forza, senza tener conto delle sue componenti, e di come esse possano influenzare la risposta dell'organismo. Le linee guida internazionali (1) hanno cercato di raggruppare in quattro maxi categorie l'intensità dell'allenamento, compreso quello contro resistenza, definendo l'intensità come la percentuale di carico sollevato (fig. 4.1). Se si considera, però, la categoria "intensità moderata" si osserva che ad essa appartengono i carichi dal 50 al 69% di 1RM, un range decisamente troppo vasto che include al suo interno adattamenti alla forza resistente ma anche all'ipertrofia.

	Relative Intensity				Intensity (%VO _{2max}) Relative to Maximal Exercise Capacity in METs			Absolute Intensity	Absolute Intensity (MET) by Age			Relative Intensity
	%HRR or %VO _{2R}	%HR _{max}	%VO _{2max}	Perceived Exertion (Rating on 6-20 RPE Scale)	20 METs %VO _{2max}	10 METs %VO _{2max}	5 METs %VO _{2max}	METs	Young (20-39 yr)	Middle-aged (40-64 yr)	Older (≥65 yr)	% 1RM
Very light	<30	<57	<37	<Very light (RPE < 9)	<34	<37	<44	<2	<2.4	<2.0	<1.6	<30
Light	30-39	57-63	37-45	Very light-fairly light (RPE 9-11)	34-42	37-45	44-51	2.0-2.9	2.4-4.7	2.0-3.9	1.6-3.1	30-49
Moderate	40-59	64-76	46-63	Fairly light to somewhat hard (RPE 12-13)	43-61	46-63	52-67	3.0 to 5.9	4.8-7.1	4.0-5.9	3.2-4.7	50-69
Vigorous	60-89	77-95	64-90	Somewhat hard to very hard (RPE 14-17)	62-90	64-90	68-91	6.0-8.7	7.2-10.1	6.0-8.4	4.8-6.7	70-84
Near-maximal to maximal	≥90	≥96	≥91	≥Very hard (RPE ≥ 18)	≥91	≥91	≥92	≥8.8	≥10.2	≥8.5	≥6.8	≥85

Table adapted from the American College of Sports Medicine (14), Howley (173), Swain and Franklin (344), Swain and Leutholtz (346), Swain et al. (347), and the US Department of Health and Human Services (370).
HR_{max}, maximal HR; %HR_{max}, percent of maximal HR; HRR, HR reserve; VO_{2max}, maximal oxygen uptake; %VO_{2max}, percent of maximal oxygen uptake; VO_{2R}, oxygen uptake reserve; RPE, ratings of perceived exertion (48).

Figura 4.1. Intensità di esercizio definite nelle linee guida ACSM 2011 (1)

Si rende quindi necessario precisare più accuratamente il significato del termine "intensità", e tener conto di che ruolo altri fattori, quali recupero tra le serie, numero di serie e velocità di esecuzione, possono avere a tale riguardo.

Se si osservano i Body Builders, si potranno notare differenze notevoli nella qualità e nella quantità della loro massa muscolare. Due esempi eclatanti sono Serge Nubret, culturista degli anni '70, che amava sottoporsi ad allenamenti frequenti, con grandi volumi ma bassi carichi, e il suo oppositore, Mike Mentzer, con le sue tecniche brevi ma intense. Le loro differenti tecniche di allenamento hanno indotto differenti adattamenti muscolari (fig. 4.2).

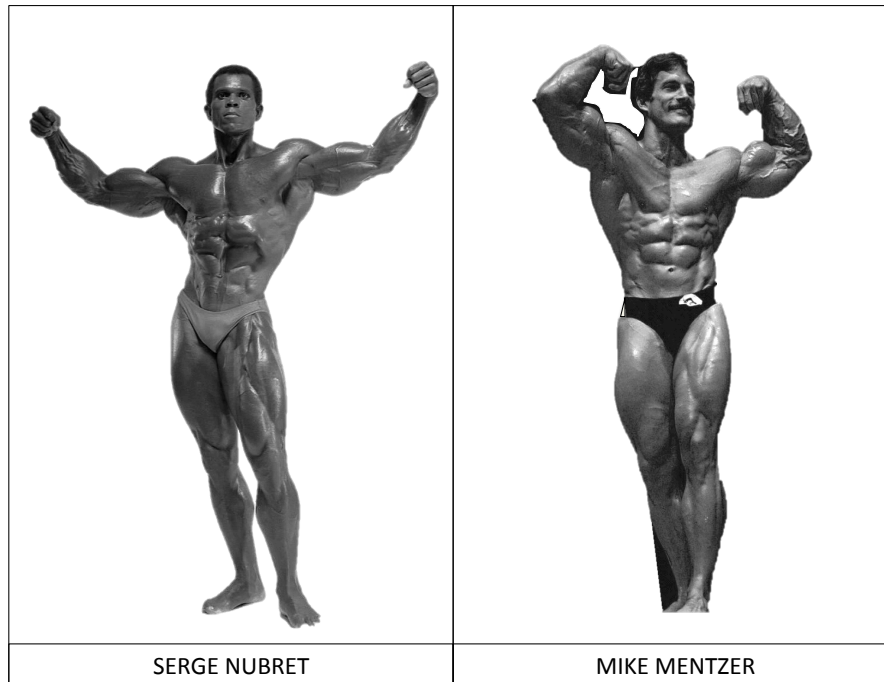


Figura 4.2. Differenze tra due Bodybuilder che utilizzano tecniche diverse.

Il muscolo scheletrico è, infatti, un tessuto altamente plastico e quindi è sensibile alle variazioni alle componenti degli allenamenti (164). Il RT, anche con le sue sfaccettature, è uno stimolo prevalentemente anabolico. Induce risposte ormonali (78, 165) e l'attivazione della via Akt-mTOR (21, 26), che porta alla sintesi proteica.

Negli ultimi anni, il mondo dello Sport Sciences ha concentrato le sue attenzione su forme di allenamento brevi ed intense. È stato in particolare il gruppo canadese di Gibala, che coniando una forma di allenamento aerobico intervallato (166), che prevedeva scatti di pochi secondi seguiti da lunghe pause attive ma blande, ad aver aperto le porte a queste forme di allenamento. Il risultato più affascinante emerso da queste ricerche è che, aumentando l'intensità dell'allenamento e riducendo di fatto il tempo dello stimolo allenante, si ottengono risultati paragonabili, o addirittura superiori, a

lunghe sedute di training. L'applicazione di questo format è in grado di migliorare la capacità ossidativa del muscolo (167, 168), la biogenesi mitocondriale (169) e il consumo di ossigeno (170) con sforzi relativamente brevi nel tempo. Il gruppo canadese ha esteso il suo programma anche a popolazioni con patologie metaboliche e cardiovascolari, e adattandone l'intensità, hanno riscontrato una maggior compliance e ottimi risultati in termini di miglioramento delle capacità ossidative (171), nella riduzione dell'iperglicemia o di altri fattori di rischio cardiovascolari (172) e nell'incremento della sensibilità all'insulina (173).

Trovare una strategia di allenamento che facesse ottenere risultati paragonabili a lunghe sedute di lavoro, ma che occupasse solo pochi minuti della giornata, è stata sicuramente un arma vincente in una società come quella odierna, dove la mancanza di tempo è uno dei maggiori ostacoli alla pratica di una costante attività fisica.

Anche il RT può essere un valido strumento per migliorare i fattori di rischio cardiovascolari, la sensibilità all'insulina e la composizione corporea; e, modificando opportunamente le sue variabili, è possibile creare un protocollo, sufficientemente intenso da stimolare l'ipertrofia muscolare, ma breve nella sua durata. È stato recentemente dimostrato dal gruppo di Paoli (174), che una singola seduta di HIIRT può migliorare il consumo energetico a riposo e ridurre il quoziente respiratorio, migliorando l'ossidazione dei grassi.

L'obiettivo di questa prima fase sperimentale è quello di studiare i meccanismi molecolari che dovrebbero condurre agli adattamenti rilevati da Paoli, e verificare se questa tipologia di RT possa essere un protocollo sicuro in termini di risposta pressoria e cardiaca all'esercizio. A tale scopo si è scelto di mettere a confronto tre differenti tipologie di allenamento, l'HIIRT, una forma di RT comunemente proposta come protocollo per l'ipertrofia e suggerita dalle linee guida internazionali (1) (TRT), e l'allenamento aerobico intervallato proposto da Gibala e colleghi (HIT) (168).

4.2. MATERIALI E METODI.

4.2.1 SOGGETTI.

A questo studio hanno partecipato 13 soggetti (età $22,04 \pm 1,26$ anni; BMI $22,79 \pm 2,16$) reclutati tra gli studenti di Scienze Motorie dell'Università di Padova. Tutti i soggetti erano sani e mediamente attivi. Dopo un'anamnesi iniziale, per escludere controindicazioni all'allenamento e al prelievo biotico, i soggetti sono stati divisi random nei tre gruppi sperimentali in modo che ogni partecipante abbia eseguito due dei tre protocolli previsti. Le caratteristiche dei soggetti suddivisi per gruppi di allenamento sono riportate in tabella 4.1.

	TRT (N=8)	HIIRT (N=9)	HIT (N=9)
Età (anni)	22,00±1,41	22,00±1,32	22,22±1,09
Peso (kg)	68,13±11,81	64,67±9,43	71,44±7,54
Altezza (m)	1,74±0,11	1,71±0,08	1,73±0,08
BMI	22,44±2,22	22,17±2,27	23,73±1,72

Tabella 4.1. Caratteristiche antropometriche dei soggetti.

4.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.

Prima di iniziare le analisi, è stata organizzata una seduta di familiarizzazione con le tre diverse tecniche di allenamento e un'ulteriore incontro per determinare la percentuale di carico (%1RM) per i gruppi HIIRT e TRT e l'intensità di allenamento (Watt) per il gruppo HIT. I test massimali di forza sono stati eseguiti sul movimento in leg extension utilizzando la tecnica delle 6RM. Il picco di VO_2 è stato ricavato durante un test incrementale ad esaurimento al cicloergometro.

A distanza di una settimana dall'ultimo incontro, i partecipanti sono stati sottoposti alla biopsia basale (pre), eseguita sul vasto laterale del muscolo quadricipite femorale. I prelievi biotici sono stati seguiti mediante ago sottile (PRECISA1407 14G – HS Hospital service s.p.a., Roma, Italia), seguendo la tecnica precedentemente descritta da Paoli (175), e distanziando il sito dell'incisione di 1 cm l'uno dall'altro per evitare influenze e danni al tessuto muscolare.

La settimana successiva i soggetti sono ritornati in laboratorio e, dopo aver eseguito il protocollo assegnatoli, sono state operate le biopsie tre seriate: una immediatamente dopo l'esercizio (0h), una a distanza di 6 ore (6h) e l'ultima dopo 24 ore (24h) dal termine dell'esercizio.

I soggetti hanno ripetuto il medesimo procedimento, variando il protocollo di allenamento e mettendo a disposizione l'arto controlaterale per il prelievo (fig. 4.3).

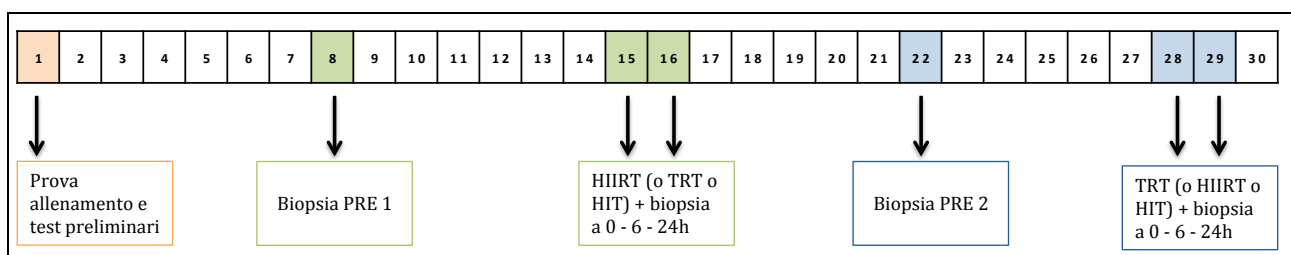


Figura 4.3. Disegno sperimentale.

4.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.

Dopo un blando riscaldamento al cicloergometro i soggetti sono stati sottoposti al protocollo specifico. I due protocolli di RT sono stati eseguiti su leg extension (Technogym, Cesena FO, Italia). I soggetti sono stati fatti posizionare sul macchinario, che è stato regolato in base alle loro caratteristiche antropometriche.

Il gruppo HIIRT ha eseguito l'allenamento secondo la metodica che è già stata spiegata nel paragrafo ad essa dedicato.

Il gruppo TRT ha eseguito 3 serie da 15 ripetizioni al 65% 1RM con 75 secondi di pausa tra le serie. Per il gruppo HIT è stato scelto di seguire il protocollo delineato dal gruppo di Gibala (168), ove ai soggetti veniva richiesto di eseguire al cicloergometro (Technogym, Cesena FO, Italia) 30 secondi "all out" seguiti da 4 minuti a 30 watt, per 6 volte consecutive.

4.2.4 ANALISI DEI CAMPIONI MUSCOLARI.

Una volta prelevati i campioni sono stati congelati a -80°C e conservati fino all'analisi. 8 mg circa di muscolo sono stati utilizzati per l'analisi del contenuto proteico mediante tecnica Western Blot. Ai campioni di muscolo sono stati aggiunti 10 volumi di lisi buffer (50 mM Tris, pH 7.5, 1 mM EDTA, 15 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 10% glycerol, 1% Triton 1%, SDS2%, e 0,1 mM DTT) a cui sono stati aggiunti gli inibitori per le fosfatasi (Complete 50X protease Inhibitor Cocktail Tablests e PhosSTOP 10x Phosphatase Inhibitor Cocktail Tables – Roche). I campioni sono stati omogeneizzati mediante tecniche manuali e quindi centrifugati a 13000 rpm per 10 minuti a 4°C. Il contenuto proteico del sopranatante è stato calcolato mediante tecnica Follin-Lowry (176). I campioni sono stati quindi diluiti in Leammli buffer e riscaldati a 100°C per 5 minuti. Per ogni blot sono stati caricati circa 30 mg di campione su un gel di poliacrylamide a gradiente 4-15% (Bio-Rad Laboratories S.r.l); la corsa elettroforetica nel buffer Tris-glicina è stata impostata a 100V per 16mA per gel. I gel sono stati blottati nelle membrane di nitrocellulosa utilizzando il transfer buffer (37 mM Tris base, 140 mM glycine, and 20% methanol) per 60 minuti a 100V a 4°C. le membrane sono state quindi incubate nella soluzione di bloccaggio (TBST; 10 mM Tris base, 150 mM NaCl, 0.05% Tween 20 e 5% BSA) per un'ora. Dopo essere state lavate con TBST sono state incubate overnight a 4°C con i seguenti anticorpi primari: pAMPK^{T172}, acetyl-CoA carboxylase (pACC^{S79}), pERK 1/2^{Thr202/pTyr204}, pAkt^{Ser473}, pS6K^{T389}, pS6^{S235/236} e p4EBP1^{T37/46} (Cell Signaling, Danvers, MA) seguendo le concentrazioni suggerite dal fornitore. Dopo l'incubazione le membrane sono stata lavate in TBST ed incubate per un'ora con l'anticorpo secondari specifico a temperatura ambiente. Le membrane sono state quindi lavate nuovamente on TBST ed esposte ad un liquido

chemio-luminescente (WesternSur PREMIUM Chemiluminescent Subs – Carlo Erba Reagentes S.r.l, Milano) per 5 minuti. L'acquisizione dell'immagine è stata rivelata con uno specifico scanner e le proteine sono state quantificate mediante il software ad esso correlato (Image Studio Licor - Version 4.0.21).

L'analisi con Real-time RT-PCR è stata fatta in collaborazione con l'università La sapienza di Roma. Per l'analisi genica sono stati riservati 4 mg di tessuto muscolare. l'RNA totale è stato estratto utilizzando il reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) secondo le istruzioni del fornitore. Un microgrammo di RNA è stato trascritto con un virus specifico. La reazione PCR è stata ottenuta mediante la tecnica Taq PCRx DNA Polymerase (GIBCO-Invitrogen, Carlsbad, CA) seguendo le seguenti condizioni: denaturazione a 95°C per 30 sec, annealing a 50-55°C per 30 sec ed estensione a 68°C per 40 sec dopo un'iniziale denaturazione a 95°C per 2 min (35 cicli). Specifici nucleotidi sono stati utilizzati per amplificare il segnale dei seguenti geni: atrogenin, beclin, IGF-1, IGF-1ea, IL-6, MGF, myogenin, myostatin, PGC-1a, PGC-1a4, STARS. La reazione è stata normalizzata in base alla quantificazione di b-actina.

4.2.5 ANALISI DEI VALORI PRESSORI E CARDIACI.

Durante l'esercizio sono stati monitorati pressione sanguigna, frequenza cardiaca e la risposta del lattato ematico. La pressione sanguigna è stata misurata con uno sfigmomanometro (Classic Stethomed – Pic, Como, Italia) al termine di ogni serie, fatta eccezione per il gruppo HIIRT, in cui i 20 secondi a disposizione nel recupero tra le serie non erano sufficienti per la misurazione, per cui i valori sono stati registrati al termine di ogni ciclo (fig. 4.4).

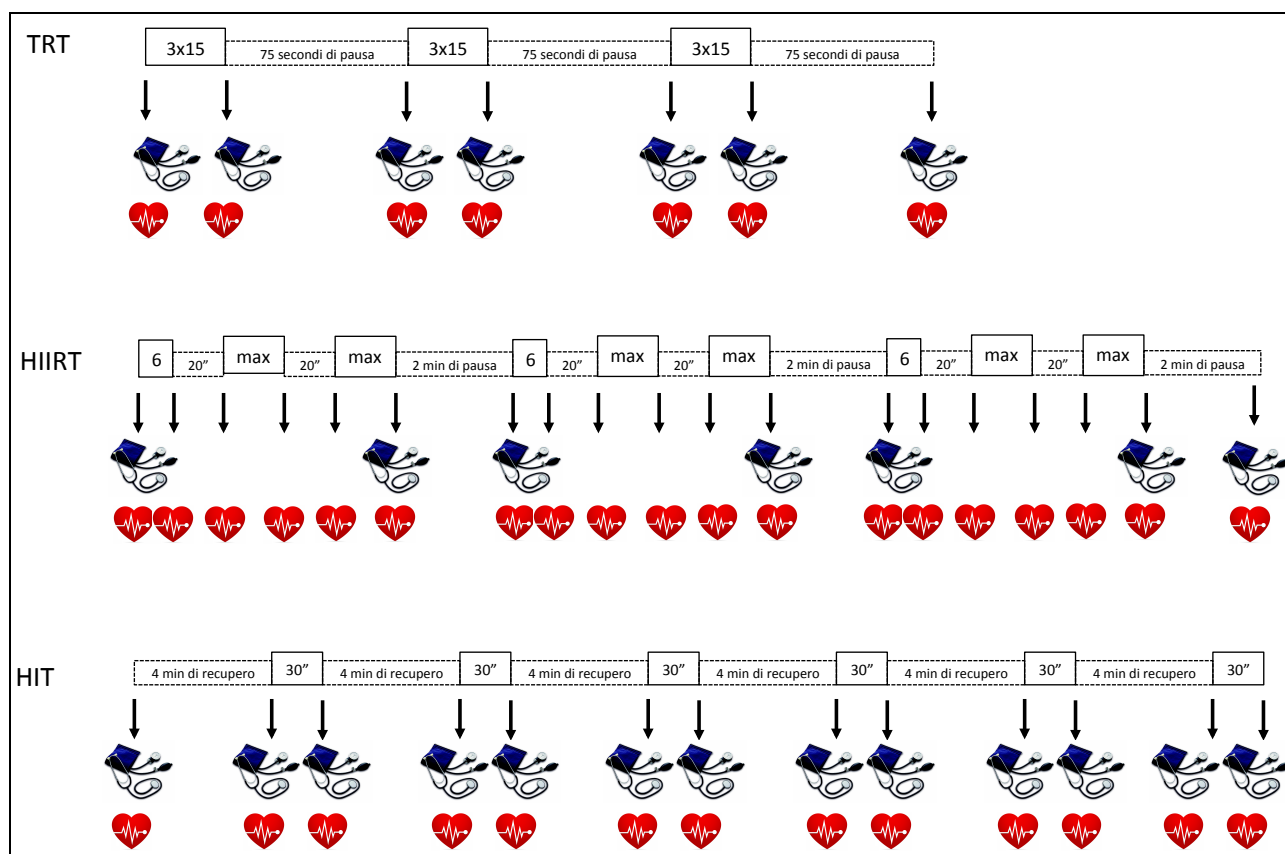


Figura 4.4. Timing delle rilevazioni della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca nei tre diversi protocolli di allenamento.

La frequenza cardiaca è stata misurata all'inizio ed al termine di ogni serie per tutti i protocolli di allenamento, mediante cardiofrequenzimetro a fascia (FT1 - Polar Electro Italia SrL, Casalecchio di Reno, BO, Italia). Il lattato ematico è stato invece analizzato con il Lactate Scout Test strips (EKF-diagnostic GmbH, Magdeburg, Germany), a livello basale, immediatamente dopo la fine dell'esercizio e a distanza di 5 e 15 minuti.

4.3. ANALISI STATISTICA.

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism versione 6.0 (GraphPad Software, San Diego, California). L'analisi della varianza ad una via (one way ANOVA) è stata effettuata per studiare gli effetti di ogni protocollo. Il two way ANOVA per misure ripetute è stato, invece, condotto per confrontare le tre tipologie di allenamento mediante un'analisi "time x training". Ogni volta che si sono rilevate differenze significative nei valori, è stato utilizzato il test di Bonferroni post-hoc. Il p-value è stato fissato a 0,05.

4.4. RISULTATI

4.4.1 ANALISI DEI CAMPIONI MUSCOLARI.

Le vie di segnale legate all'ipertrofia sono state analizzate solo per le due metodiche di RT, poiché la metodica HIT non viene proposta a tale scopo. Tutti i valori sono rappresentati come il rapporto con i livelli basali dei soggetti.

La forma fosforilata di Akt^{pT308} ha descritto un continuo incremento nelle 24 ore successive all'esercizio, mentre nel gruppo TRT si è delineato un trend negativo. Non ci sono differenze significative tra le due metodiche in nessuno dei time point presi ad esame.

La forma fosforilata di ERK 1/2^{Thr202/pTyr204} ha evidenziato andamenti simili tra le due metodiche senza rilevare differenze significative.

In entrambi i gruppi, pS6^{S235/236} era elevato a distanza di 6 ore dall'allenamento ($p < 0,05$) ed è diminuito nell'arco delle 24 ore ($p < 0,05$). I due gruppi non si sono distinti in modo significativo.

Anche l'andamento della forma fosforilata di 4EBP1^{T37/46} non ha descritto trend differenti tra le due metodiche, ma solo nel gruppo TRT, al tempo 0h, quindi immediatamente dopo l'esercizio, l'attivazione della proteina si è mostrato significativamente inferiore rispetto alla condizione iniziale ($p < 0,05$) per poi tornare ai livelli basali a distanza di 6 ore (fig. 4.5).

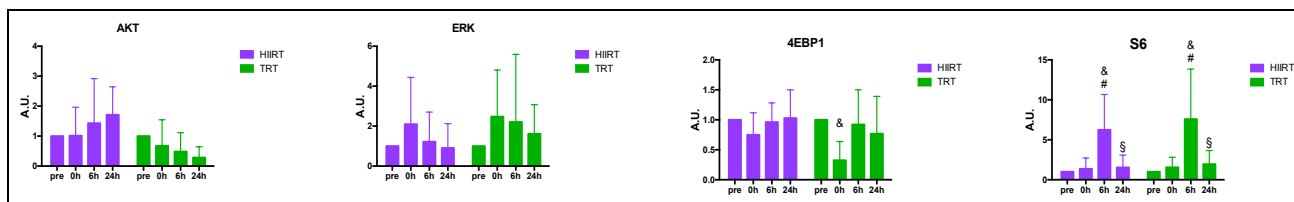


Figura 4.5. Effetto delle due tipologie di RT sulle vie di segnale legate all'ipertrofia. & = significatività rispetto a pre; # = significatività rispetto a 0h; § = significatività rispetto a 6h. $p < 0,05$.

L'analisi delle vie ossidative degli acidi grassi ha considerato anche l'allenamento HIT. L'aumento di pAMPK^{T172} si è dimostrato significativamente differente solo nelle 24 ore e tra i gruppi TRT ed HIIRT. Nel gruppo TRT, e similmente in quello HIT, il trend è stato di un'attivazione in continuo aumento, mentre nel gruppo HIIRT, fatta eccezione per il time point 0h, i valori sono rimasti ai livelli basali. L'attivazione di pACC^{S79} si è dimostrata, invece, più elevata in HIIRT immediatamente dopo l'esercizio, ma senza evidenziare differenze statisticamente significative rispetto alle altre due metodiche (fig. 4.6).

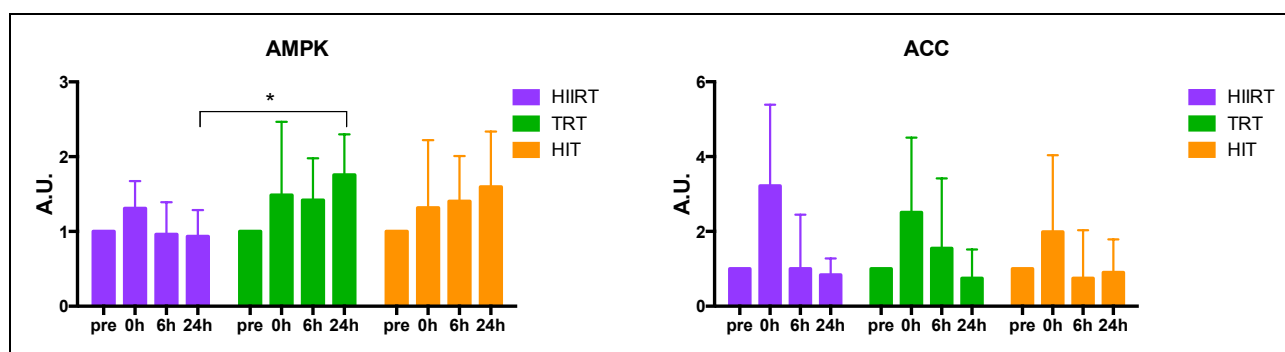


Figura 4.6. Effetto delle tre tipologie di allenamento sulle vie di segnale legate all'ossidazione dei grassi. * = $p < 0,05$.

I principali risultati ottenuti dall'analisi mediante RT-PCR per IGF-1, IGF-1ea, MGF e STARS sono rappresentati in figura 4.7.

Sia l'espressione di IGF-1 che IGF-1ea è significativamente più elevata immediatamente dopo l'esercizio nel gruppo TRT, anche se i livelli raggiunti non hanno riportato differenze rilevabili rispetto agli altri allenamenti.

L'espressione del Mechano Growth Factor (MGF) presenta un andamento simile sia nel gruppo HIIRT che TRT, con aumenti significativamente maggiori rispetto alle condizioni basali, ma senza sostanziali differenze tra i due gruppi di allenamento; a distanza di 24 ore anche con l'allenamento HIT si manifesta un incremento dell'espressione di MGF significativamente differente rispetto ai valori iniziali ($p < 0,05$).

L'analisi dell'espressione di RNA di STARS ha evidenziato una maggiore attivazione ($p < 0,05$) nel gruppo TRT rispetto ai valori iniziali con un picco alle 6 ore; anche nel gruppo HIIRT si è registrata un incremento maggiore ($p < 0,05$) a distanza di 6 ore dal termine dell'esercizio mentre non vi sono variazioni percepibili in risposta al programma HIT (fig. 4.7).

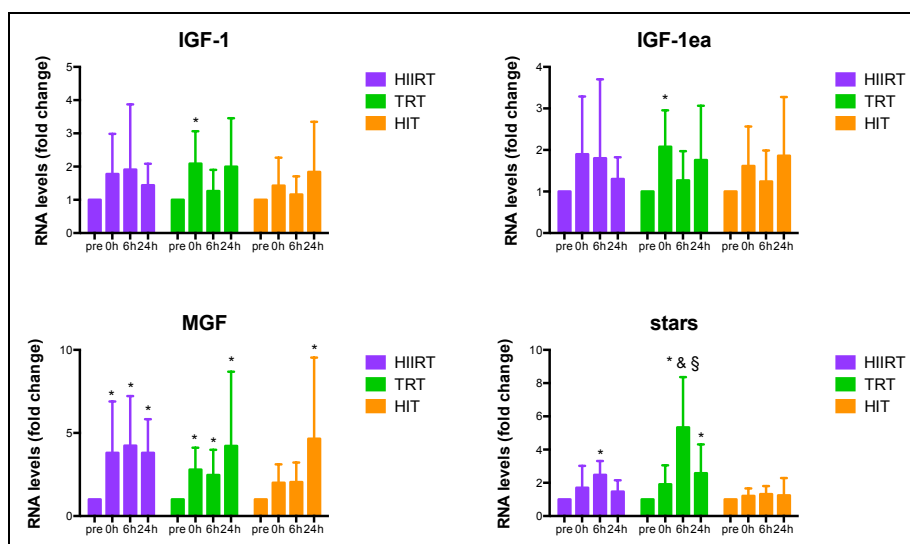


Figura 4.7. Espressione di IGF-1, IGF-1ea, MGF e STARS mRNA nelle tre tipologie di allenamento. * = significatività rispetto a pre; & = significatività rispetto a 0h; § = significatività rispetto a 24h. $p < 0,05$.

L'espressione di PCG-1a non ha invece manifestato incrementi significativi in alcuna delle tre tipologie di allenamento. Nel gruppo HIT si osserva una differenza tra i valori a tempo 0h (più elevati) e a distanza di 24 ore dal termine dell'esercizio; l'allenamento TRT risulta, inoltre, significativamente inferiore rispetto allo stesso time point del gruppo HIT ($p < 0,05$).

L'andamento dell'isoforma PGC-1a-4 è simile nei tre gruppi, ma solo per gli allenamenti TRT e HIT si riscontrano valori significativamente maggiori ($p < 0,05$) alle 6 ore rispetto alle 24 ore dal termine dell'esercizio (fig. 4.8).

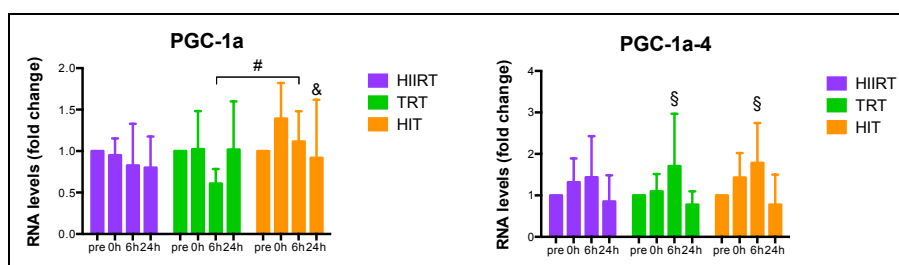


Figura 4.8. Espressione di PGC-1a e della sua isoforma PGC-1a-4 nelle tre tipologie di allenamento. # = significatività tra gruppi di allenamento; & = significatività rispetto a 0h; § = significatività rispetto a 24h. $p < 0,05$.

4.4.2 ANALISI DEI VALORI PRESSORI E CARDIACI.

I dati relativi alle misurazioni della risposta cardiaca e pressoria alle due differenti intensità di RT è riportata in tabella 4.2.

parametri	HIIRT	TRT
HR media (bpm)	128.20±15.64	116.29±14.78
SBP media (mmHg)	134.82±13.90	128.87±12.46
DBP media (mmHg)	73.38±10.90	73.94±9.66

Tabella 4.2. Valori medi registrati durante l'esecuzione dei due protocolli di RT: HR (frequenza cardiaca); SBP (pressione sistolica) e DBS (pressione diastolica).

L'analisi della frequenza cardiaca durante le due tipologie di allenamento non ha evidenziato differenze significative tra i due protocolli. La frequenza cardiaca aumenta in modo significativo rispetto i valori basali in entrambe le proposte esecutive (fig. 4.9).

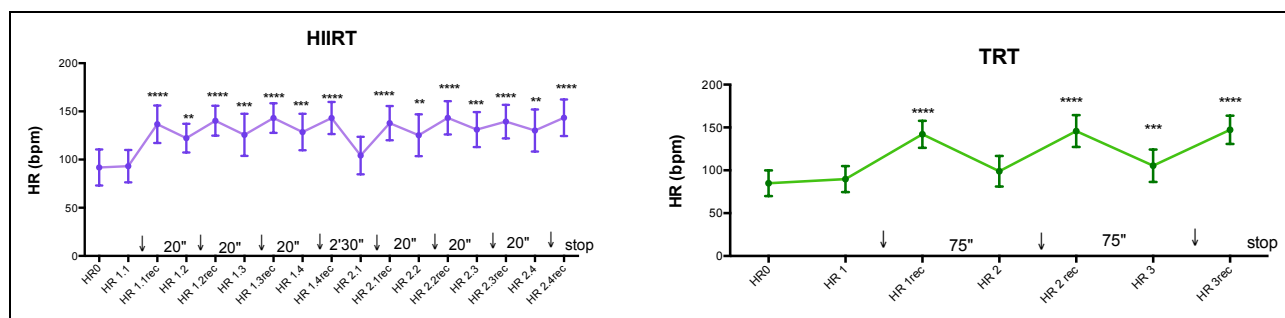


Figura 4.9. Andamento della frequenza cardiaca nelle due tipologie di RT. ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; **** = $p < 0,0001$.

Il picco di frequenza cardiaca è stato determinato dai valori massimi e minimi raggiunti durante le serie: nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata tra i due gruppi.

La pressione sistolica (SBP) è aumentata significativamente ($p < 0,05$) rispetto ai valori basali in entrambi i protocolli, mentre la pressione diastolica (DBP) non è variata. I picchi di DBP hanno raggiunto valori inferiori durante il protocollo HIIRT (64.17 ± 8.48 mmHg) rispetto al TRT (69.58 ± 8.35 mmHg) (fig. 4.10). Al termine del protocollo TRT i valori di MAP (Mean Arterial Pressure) sono risultati significativamente più elevati rispetto alle condizioni basali (11.81 ± 7.17); mentre non si sono riscontrate variazioni significative nella tecnica HIIRT (7.53 ± 11.85).

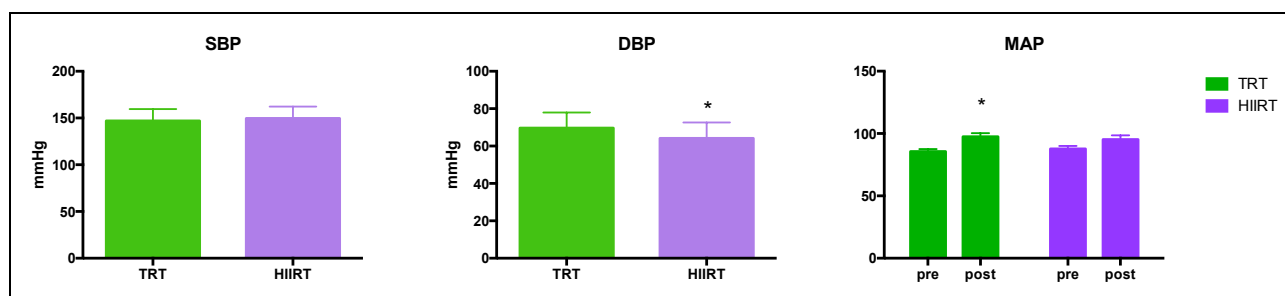


Figura 4.102. Analisi dei picchi di pressione sistolica (SBP) e diastolica (DBP) e della pressione arteriosa media (MAP). * = $p < 0,05$.

Al termine degli esercizi il doppio prodotto è aumentato in modo significativo sia nel gruppo TRT (155.47 ± 27.74) che HIIRT (86.75 ± 33.25), ma il suo valore era maggiore in seguito al protocollo TRT ($p < 0.05$).

4.5. DISCUSSIONE

Lo scopo di questo progetto era quello di valutare se vi fossero differenze di attivazione del signalling muscolare in risposta a due intensità di RT. È stato infatti ampiamente dimostrato che il RT produce differenti risposte ormonali se si variano l'intensità del carico o la durata del recupero tra le serie; e queste variazioni possono indurre differenti adattamenti nelle cellule muscolari (21).

I dati ricavati da questo esperimento non hanno evidenziato differenze significative tra i due protocolli, ma si può osservare un'attivazione di due delle proteine maggiormente implicate nelle vie di segnale che portano all'ipertrofia. L'allenamento ad alta intensità (HIIRT) sembrerebbe infatti stimolare maggiormente la sintesi di Akt, mentre il protocollo TRT sembra più coinvolto nell'attivazione di ERK. Tuttavia, anche se queste due proteine target vengono attivate in modo differente, entrambi i protocolli ottengono la medesima attivazione delle proteine ribosomiali di sintesi proteica S6 e 4EBP1. Questi dati confermano quanto recentemente descritto dal gruppo di Phillips (18), ovvero che la risposta acuta ad un allenamento con sovraccarichi non è sempre correlata agli adattamenti cronici.

È interessante notare, inoltre, come il protocollo di RT a bassa intensità (TRT) presenti un'attivazione delle vie dell'ossidazione degli acidi grassi, simile a quella di un protocollo ad alta intensità, ma di tipo aerobico (HIT); mentre l'HIIRT sembra avere un effetto temporaneo, e limitato a poche ore successive all'allenamento, nell'attivare l'asse AMPK-ACC. La via della mitocondriogenesi, non sembra essere invece interessata dall'espressione dell'RNA; che è attivo durante il protocollo aerobico, ma non subisce forti influenze nei due allenamenti contro resistenza.

Nel nostro studio abbiamo osservato una concomitante attivazione delle proteine legate ai segnali di Akt-mTOR e dell'AMPK, suggerendo che queste due vie di signalling possono perlomeno coesistere e non inibirsi completamente a vicenda, contrariamente a quanto sostenuto da alcuni autori (45, 46).

Un'altra interessante osservazione deriva dall'analisi del RNA. Il protocollo TRT sembra essere infatti legato sia alle vie dell'insulina, evidenziando un'attivazione di IGF-1 e della sua isoforma, ma anche alla stimolazione meccanica, studiata con l'espressione di MGF. L'aumento di questi RNA sono un indice della stimolazione delle cellule satelliti, e quindi un forte segnale di induzione dell'ipertrofia. L'HIIRT, invece, sembra legato prevalentemente alla risposta meccanica (MGF), e meno a quella insulinica; riducendo così la sua influenza acuta sulla sintesi proteica. D'altro canto, allenamenti con carichi maggiori all'80% 1RM vengono spesso utilizzati più per l'incremento di forza, che di massa muscolare.

La massa muscolare scheletrica è regolata, però, anche da segnali di stress meccanico che si trasferiscono dalle componenti extracellulari a quelle intracellulari, e che controllano la sintesi proteica e la loro degradazione.

L'attivatore del Rho signaling del muscolo striato (STARS) è una proteina muscolo specifica, legata all'actina, sensibile agli stress extracellulari. Una delle sue funzioni è quella di stimolare l'actina polimerizzando ed influenzando la trascrizione del SRF (serum response factor) e del PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator), geni coinvolti nella crescita e nella contrazione muscolare (177). Questi geni sembrano essere attivati in modo particolare durante il TRT, e in misura nettamente inferiore nel gruppo HIIRT. Il vero ruolo delle STARS nel muscolo scheletrico non è, però, ancora stato compreso completamente.

Oltre che studiare l'influenza dei diversi protocolli di RT sulle vie di segnale muscolare, lo scopo di questa ricerca era di verificarne la sicurezza a livello cardiovascolare. Contrariamente a quanto spesso si crede (178, 179), il protocollo ad alta intensità ha prodotto le medesime risposte in termini di innalzamento della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa, presentando invece picco della pressione diastolica minori rispetto all'allenamento a bassa intensità. Normalmente esercizi che provocano un notevole incremento dei valori di frequenza cardiaca e pressione sono controindicati, soprattutto nei soggetti cardiopatici; la tecnica HIIRT non presenta, quindi, rischi maggiori rispetto ai protocolli suggeriti proprio dalle linee guida internazionali (1). Questo effetto potrebbe essere spiegato dall'esecuzione dinamica che caratterizza il l'HIIRT, in cui la breve durata dell'occlusione arteriosa data dalla contrazione muscolare, e le altrettanto brevi pause tra una serie e l'altra, possono fungere da massaggio riattivante della circolazione.

5. SECONDA FASE SPERIMENTALE.

5.1. EFFETTI DI DUE DIFFERENTI PROTOCOLLI DI RT SU UNA POPOLAZIONE DI GIOVANI SEDENTARI.

Il RT viene descritto dalle linee guida internazionali come una componente fondamentale dell'esercizio fisico (180). Se tutti gli autori sono unanimi nel definire l'utilità di questa tipologia di allenamento nell'implementare la forza, non tutti concordano nella sua efficacia per migliorare la capacità aerobica (181, 182). Una singola seduta di RT è in grado di incrementare in modo significativo il consumo di ossigeno, mantenendolo a livelli elevati fino a 14 ore dal termine dell'esercizio (183-185); in particolare, il nostro gruppo di ricerca ha recentemente dimostrato come la metodica HIIRT riesca a mantenere un elevato VO_2 basale anche dopo 72 ore dalla seduta di allenamento (174). Altri studi hanno riportato che protocolli con 8-12 ripetizioni riescono a migliorare il consumo di ossigeno post-esercizio in modo più prolungato rispetto a RT finalizzati al miglioramento della resistenza muscolare (>15 reps) o della forza (4-6 reps) (186, 187). Sembrerebbe, quindi, che l'intensità dell'allenamento influenzi in modo positivo il consumo di ossigeno e la durata dell'EPOC (Excess Post-exercise Oxygen Consumption), ovvero quel periodo che segue l'esercizio, in cui il VO_2 aumenta per ripagare il debito di ossigeno contratto nella fase iniziale dello sforzo (188). Alcune ricerche ipotizzano che i meccanismi ormonali legati all'ipertrofia e al danno muscolare, siano coinvolti nell'aumento dell'EPOC, mediante l'alterazione dell'omeostasi cellulare (189, 190). Tuttavia, è stato anche dimostrato che programmi di RT ad alta intensità, migliorano la forza espressa senza provocare cambiamenti nella capacità aerobica (191, 192); altri autori sostengono, invece, che bassi carichi riescano a migliorare la capillarizzazione muscolare ed il picco di VO_2 (181, 182). Ancora una volta, la causa di tali divergenze va probabilmente ricercata nelle numerose combinazioni di RT utilizzate negli studi.

Dal punto di vista fisiologico, uno dei principali fattori limitanti il VO_2 è proprio il tessuto muscolare: enzimi ossidativi, mitocondri e la capacità di perfusione capillare del muscolo sono, infatti, elementi fondamentali per una buona rendita aerobica (193). Il RT, soprattutto se ad alta intensità, può essere un valido strumento per migliorare la potenza dei meccanismi energetici, e viene infatti impiegato nella preparazione agli sport di endurance (194).

D'altro canto, la capacità del RT di migliorare l'EPOC ed il metabolismo a riposo è un'altra importante componente che può avere delle influenze anche sulla perdita di peso e sul controllo

della composizione corporea. Il lavoro di Paoli sull'HIIRT (174) suggerisce che questa metodica migliori non solo l'EPOC, ma anche la spesa energetica a riposo (REE) e il quoziente respiratorio (QR). Lo studio del gruppo padovano ha però valutato gli effetti in acuto dell'allenamento, mentre restano da considerare le conseguenze a lungo termine su metabolismo e composizione corporea.

Lo scopo di questa ricerca è valutare gli effetti dell'HIIRT sul metabolismo a riposo, sulla composizione corporea e su alcuni valori ematici in giovani sedentari; abbiamo voluto inoltre verificare gli effetti su differenti espressioni di forza e sulla capacità aerobica.

5.2. MATERIALI E METODI.

5.2.1 SOGGETTI.

Hanno preso parte al progetto 20 soggetti (età $22,2 \pm 2,0$ anni; BMI $23,61 \pm 1,6$), i quali, dopo aver sostenuto il medesimo allenamento per due settimane, sono stati suddivisi casualmente nei due gruppi di studio. I soggetti erano sani e mediamente attivi, ma senza esperienze pregresse di l'allenamento con sovraccarichi. Le caratteristiche antropometriche del gruppo di lavoro sono riportate in tabella 5.1.

	TRT (N=9)	HIIRT (N=11)	totale (N=20)
Età (anni)	$22,00 \pm 2,2$	$22,30 \pm 1,80$	$22,20 \pm 2,00$
Peso (kg)	$68,60 \pm 8,40$	$68,80 \pm 12,10$	$68,70 \pm 10,30$
Altezza (m)	$1,71 \pm 0,10$	$1,71 \pm 0,10$	$1,71 \pm 0,10$
BMI	$23,50 \pm 1,00$	$23,80 \pm 2,10$	$23,60 \pm 1,60$
Body fat (%)	$24,70 \pm 6,70$	$23,90 \pm 5,60$	$24,30 \pm 6,00$

Tabella 5.1. Caratteristiche descrittive dei soggetti (media $\pm$ DS).

5.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.

Il protocollo sperimentale prevedeva 2 mesi di allenamento con una cadenza trisettimanale. Il progetto prevedeva un incontro iniziale in cui sono stati raccolti i dati anamnestici dei soggetti, per escludere qualsiasi tipo di controindicazione alle procedure sperimentali. Le valutazioni preliminari sono state suddivise in diverse giornate per evitare bias dati dall'accavallarsi delle misurazioni. In una prima giornata sono stati effettuati i prelievi ematici ed i test di forza. In un secondo incontro i soggetti sono stati sottoposti alla misurazione del metabolismo basale e al test submassimale al

cicloergometro. Infine sono stati eseguiti le misurazioni della composizione corporea e della sezione muscolare (fig. 5.1).

5.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.

I soggetti sono stati sottoposti al medesimo protocollo di esercizi, che prevedeva il coinvolgimento dei principali gruppi muscolari: pettorali, dorsali, quadricipiti e glutei, spalle e bicipiti.

Il primo gruppo ha seguito un classico programma di RT finalizzato all'ipertrofia che prevedeva 3 serie da 15 ripetizioni per ogni esercizio (TRT) con 75 secondi di pausa tra le serie, il secondo gruppo si è allenato secondo la metodica HIIRT (HIIRT) precedentemente descritta.

5.2.4 TEST DI FORZA.

I test di forza sono stati suddivisi in tre gruppi: forza dinamica (1RM), forza isometrica (handgrip) e forza esplosiva (squat jump test).

Per valutare la forza dinamica è stato scelto di applicare il metodo delle 6RM, chiedendo ai soggetti di raggiungere il carico con il quale riuscivano a svolgere al massimo 6 ripetizioni. Questa metodica è particolarmente sicura quando non vi è una grande esperienza con l'allenamento con i sovraccarichi. La ripetizione massimale è stata stimata utilizzando la formula di Brzycki (195, 196). La forza isometrica è stata misurata con l'handgrip Dynatronic 100 ergometer (Nuova Meccanica Pastorelli, Gallarate, VA, Italy), valutando la media tra 3 performance. È stato inoltre somministrato un test di resistenza alla forza, in cui ai soggetti veniva chiesto di mantenere la pressione sul dinamometro al 50% del loro massimale per il maggior tempo possibile.

Infine, dopo un adeguato tempo di recupero, ai soggetti è stato chiesto di eseguire lo squat jump test seguendo le indicazioni di Bosco (197). Ai fini dell'analisi è stato scelto di utilizzare la migliore su tre performance.

5.2.5 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA

La massa totale e regionale dell'osso, del tessuto adiposo e della "componente magra" sono stati analizzati mediante DEXA (QDR 4500 W, Hologic Italia s.r.l, Roma, Italia). Lo scanner è stato dapprima calibrato mediante un prototipo di vertebra lombare, per poi far sdraiare i soggetti in posizione supina ed avviare l'analisi. Tutti i dati relativi alla composizione corporea, ovvero la massa magra (g), la massa grassa (g), l'area totale (cm²) e il contenuto minerale osseo (BMC) sono stati ricavati sia complessivamente che settorialmente.

La percentuale di muscolo e di tessuto adiposo è stata inoltre calcolata mediante plicometria. La tecnica utilizzata prendeva in considerazione 9 pliche cutanee (tricipite, bicipite, pettorale, sottoscapolare, iliaca, addominale, coscia anteriore e poplitea), 6 circonferenze ossee (braccio, avambraccio, vita, fianchi, coscia e polpaccio) e 4 diametri ossei (gomito, polso, ginocchio e caviglia). I dati ricavati sono stati elaborati da un software (Fitnext[®], Caldogno, Vicenza, Italy) che, mediante uno speciale algoritmo, stimava la percentuale di massa magra, massa grassa e massa ossea del soggetto.

È stata inoltre effettuata l'analisi della sezione muscolare di coscia ed avambraccio mediante Tomografia Computerizzata Quantitativa periferica (pQCT), una tecnica non invasiva normalmente utilizzata per misurare la densità ossea, ma utile anche per evidenziare la sezione trasversale del ventre muscolare (CSA) in mm². Una volta posizionati su di un apposito sgabello, ai soggetti veniva richiesto di restare il più possibile immobile, mentre lo scanner si muoveva attorno agli arti per tutta la loro lunghezza ricavando le immagini, che sono state elaborate mediante un software di analisi (XCT 3000 - Stratec Medizintechnik GmbH, Tümmelsham, Austria).

5.2.6 MISURE EMATICHE.

L'analisi ematiche sono state eseguite a digiuno. I soggetti sono stati sottoposti al prelievo ematico per l'analisi di glicemia, colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, APOB, APO-A1, AST, ALT, GGT, CPK, LDH, creatinina e clearance, azotemia, acido urico, insulina testosterone libero, testosterone totale, IGF-1, IGF-1 BP1 E BP3, cortisolo, GH. L'analisi strumentale è stata eseguita dal servizio di medicina di laboratorio, dell'azienda ospedaliera di Padova.

5.2.7 METABOLISMO A RIPOSO.

Il metabolismo basale (REE) è stato calcolato a partire dal consumo di ossigeno (VO₂), dalla produzione di anidride carbonica (VCO₂) e dal quoziente respiratorio (QR) misurati con un analizzatore dei gas respiratori (Max Encore 29 System, Vmax, Viasys Healthcare, Inc., Yorba Linda, CA). È stato chiesto ai soggetti di presentarsi alla mattina a digiuno tra le 7:00 e le 8:00, quindi sono stati fatti sedere in una stanza non troppo illuminata, silenziosa e con una temperatura di circa 24°C. Il sistema è stato calibrato prima di ogni registrazione mediante un'apposita siringa. Il consumo di ossigeno è stato misurato in ml/min e normalizzato per il peso corporeo del soggetto (ml/kg/min). L'analisi è iniziata dopo circa 15 minuti dalla seduta del soggetto, i dati sono stati raccolti per 30 minuti ma solo gli ultimi 20 minuti sono stati presi in considerazione per la

rielaborazione dei parametri respiratori. I valori di VO_2 sono stati convertiti in REE (kcal/d) basandoci sull'equazione di Weir (198).

5.2.8 POTENZA AEROBICA

La massima potenza aerobica è stata misurata mediante test ad esaurimento al cicloergometro. I gas respiratori sono stati analizzati con il sistema descritto sopra, contemporaneamente alla frequenza cardiaca nei vari steps. Dopo un riscaldamento di 3 minuti, ai soggetti è stato richiesto di mantenere un ciclo di pedalata di 60 rpm per tutta la durata del test, il quale prevedeva un incremento di 15 watt ogni minuto. Il test veniva interrotto dal soggetto per esaurimento, o quando non veniva mantenuto il ciclo di pedalata. Prima dell'inizio del test, immediatamente dopo il termine dell'esercizio, a distanza di 5 e 15 minuti è stato misurato il lattato ematico (Lactate Scout Test strips, EKF-diagnostic GmbH, Magdeburg, Germany).

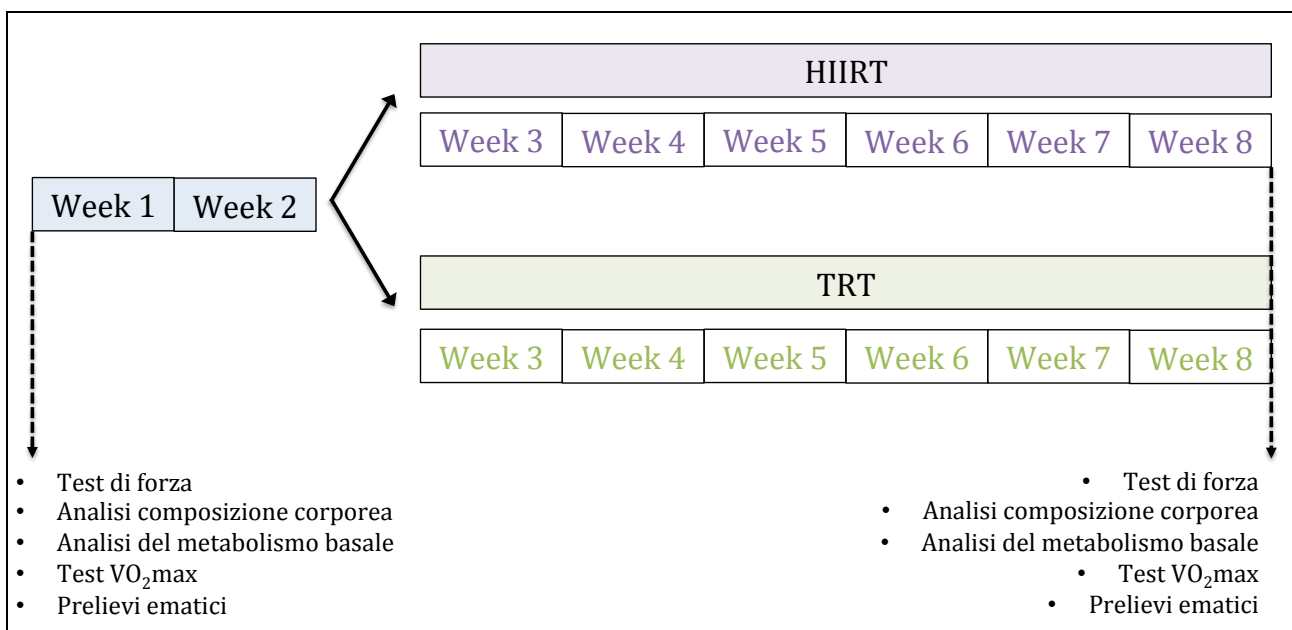


Figura 5.1. Disegno sperimentale.

5.3. ANALISI STATISTICA.

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism versione 6.0 (GraphPad Software, San Diego, California). L'analisi della varianza ad una via (one way ANOVA) è stata effettuata per studiare gli effetti di ogni protocollo. Il two way ANOVA per misure ripetute è stato,

invece, condotto per confrontare le due tipologie di allenamento mediante un'analisi "time x training". Ogni volta che si sono rilevate differenze significative nei valori, è stato utilizzato il test di Bonferroni post-hoc. Il p-value è stato fissato a 0,05.

I medesimi test statistici sono stati applicati per analizzare le differenze di genere nelle due differenti tipologie di allenamento (gender x training).

5.4. RISULTATI.

5.4.1 TEST DI FORZA

I test di forza hanno evidenziato un miglioramento generale della forza, ma non si è registrata una differenza significativa tra le due tipologie di allenamento (HIIRT +38%; TRT +27%), anche se il gruppo HIIRT ha raggiunto livelli di forza migliori in termini assoluti di carico sollevato (fig. 5.2).

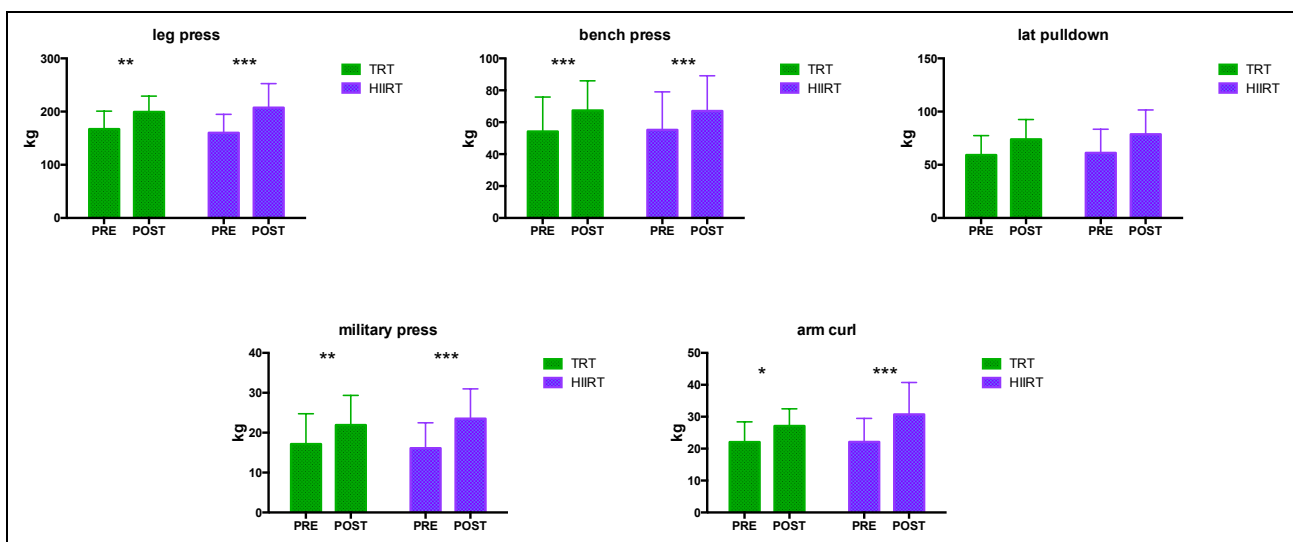


Figura 5.2. Risultati della forza dinamica. *= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, ***= $p < 0.001$.

L'analisi della differenza di genere ha evidenziato una tendenza delle donne a migliorare maggiormente l'espressione di forza (HIIRT donne +42%; HIIRT uomini +34%; TRT donne +37%; TRT uomini +27%), anche se questa differenza è risultata significativa solo per gli arti inferiori (fig. 5.3).

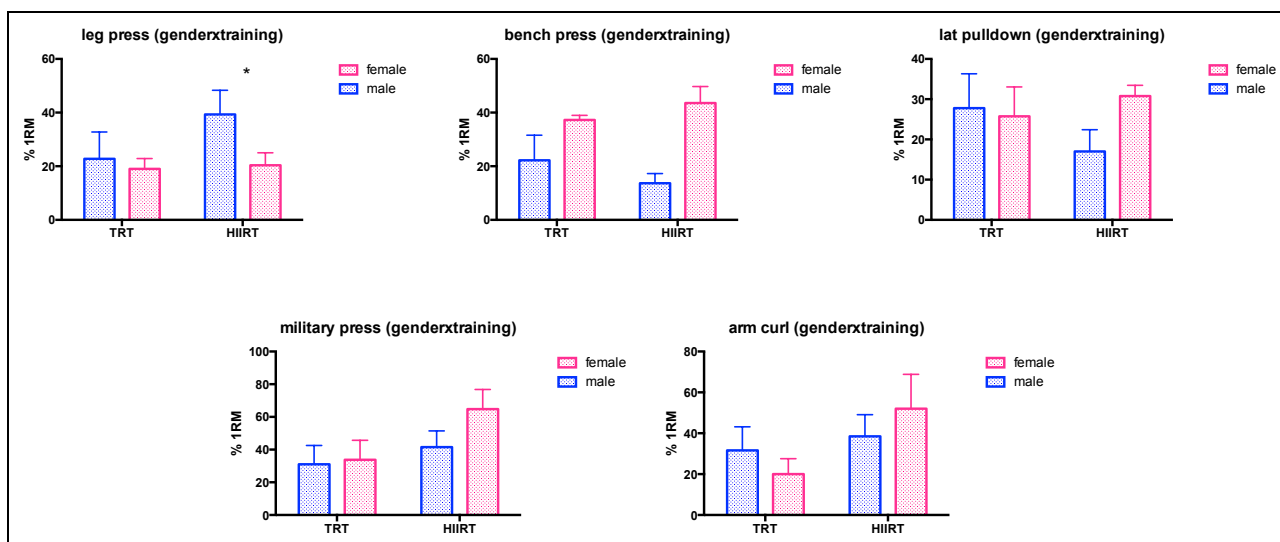


Figura 5.3. Differenze di genere nell'espressione della forza dinamica. *= $p < 0.05$.

Le misure della forza isometrica mediante handgrip test hanno evidenziato un simile lieve miglioramento della performance in entrambi i gruppi di allenamento (HIIRT +2%; TRT +1%), mentre nel test di resistenza alla forza il gruppo HIIRT (+22%) ha mostrato un miglioramento significativo rispetto al gruppo TRT (+10%). Non si segnalano differenze significative nel confronto tra i generi, anche se le donne sembrano, ancora una volta, presentare miglioramenti maggiori rispetto agli uomini (fig. 5.4).

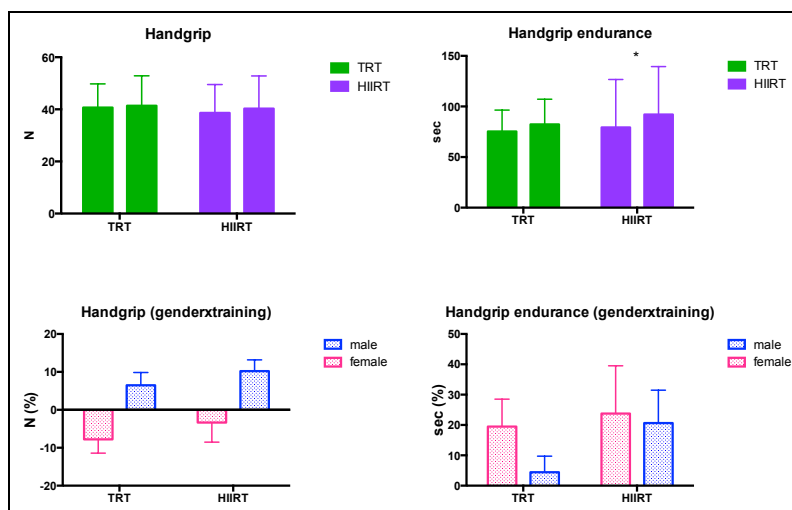


Figura 5.4. Risultati della forza statica espressa durante l'handgrip test. *= $p < 0.05$.

La performance nella forza esplosiva non ha evidenziato alcuna differenza tra due tipologie di allenamento, né tantomeno tra maschi e femmine. In entrambe le situazioni si è registrato un miglioramento nell'altezza del salto, anche se non significativo ai fini statistici (fig. 5.5).

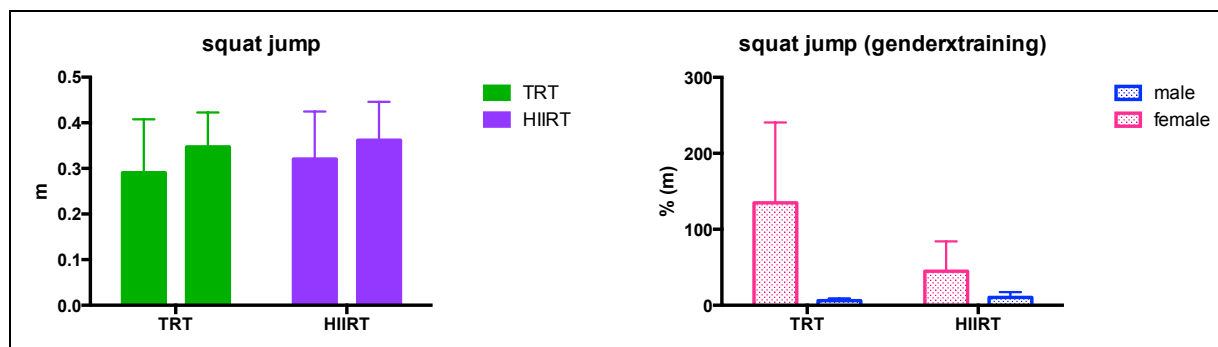


Figura 5.5. Risultati della forza esplosiva, valutata con il test di Bosco.

5.4.2 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA.

L'analisi della composizione corporea mediante DEXA ha evidenziato un aumento della massa magra, quindi della componente muscolare, in entrambi i gruppi, ma solo per il gruppo HIIRT questo aumento è risultato significativo ai fini statistici ($p < 0,05$). L'aumento della massa muscolare si è riflesso in un aumento ponderale significativo solo per il gruppo HIIRT (+3%). La massa grassa tende ad aumentare nel gruppo HIIRT (+1%) mentre nel gruppo TRT sembra decrescere (-2%), tuttavia questa esigua differenza non è significativa. Se si considera la percentuale di massa grassa rispetto all'intero peso corporeo, il rapporto tende a diminuire (TRT -3%; HIIRT -1%) a favore di un maggior aumento della massa muscolare, in entrambi i gruppi (fig. 5.6).

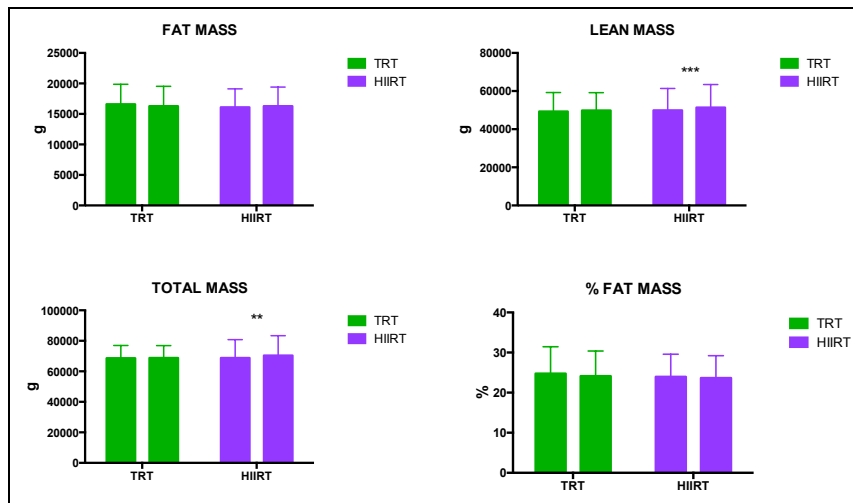


Figura 5.6. Risultati dell'analisi mediante DEXA. **= $p<0.01$, ***= $p<0.001$.

L'analisi delle differenze di genere non ha evidenziato alcuna differenza significativa tra uomini e donne in nessun parametro preso in considerazione (fig. 5.7). Si segnala negli uomini un maggior aumento della massa muscolare nel gruppo HIIRT (+ 4%) rispetto al gruppo TRT, il quale non ha subito differenze apprezzabili, e che si rispecchia nel medesimo aumento ponderale (HIIRT +3%; TRT +0%).

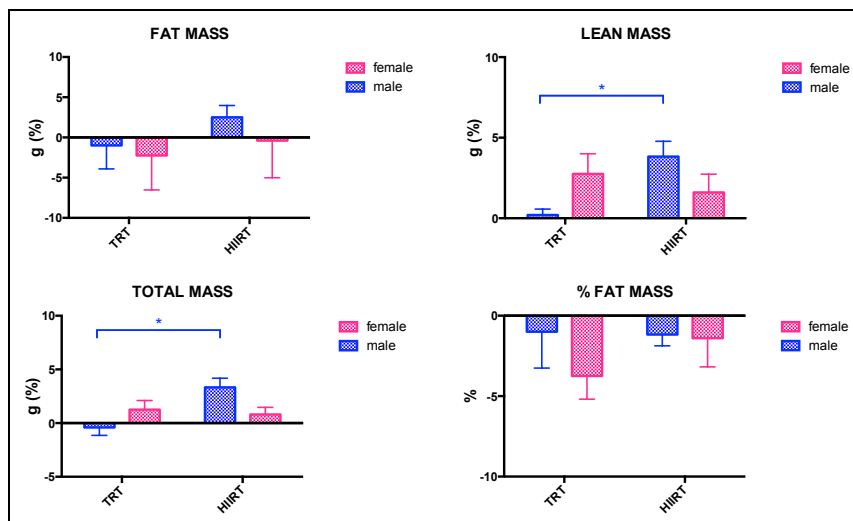


Figura 5.7. Differenze di genere nell'analisi della composizione corporea mediante DEXA. In blu le differenze tra uomini nei due protocolli di allenamento. *= $p<0.05$.

L'analisi mediante plicometria è stata sostanzialmente sovrapponibile ai risultati ottenuti con la DEXA (dati non riportati).

5.4.3 MISURE EMATICHE.

I dati relativi agli esami del sangue sono rappresentati in tabella 5.2. Non si riscontrano differenze significative pre-post in nessuno dei due interventi, i risultati sono, inoltre, simili sia per il gruppo HIIRT che TRT. Non si registrano differenze significative nelle risposte di genere (dati non riportati).

variabili	TRT		HIIRT	
	Pre	Post	Pre	Post
Colesterolo totale (nmol/L)	4,49±0,73	4,27±0,56	4,07±0,66	4,09±0,64
HDL (nmol/L)	1,25±0,33	1,38±0,31	1,37±0,38	1,35±0,40
LDL (nmol/L)	2,59±0,66	2,47±0,63	2,15±0,54	2,17±0,50
Glucosio (nmol/L)	4,82±0,29	4,66±0,30	4,92±0,34	4,93±0,30
Creatinichinasi (U/L)	100,50±57,68	135,33±99,45	125,45±110,18	94,36±45,88
Creatinina (umol/L)	86,22±13,31	84,70±12,68	86,09±12,76	83,73±13,15
Urea (mg/L)	5,56±1,30	5,24±1,05	5,32±1,57	5,29±1,59

Tabella 5.2. Risultati degli esami ematici. Non si registra alcuna differenza significativa.

Dal punto di vista ormonale (fig. 5.8) i due gruppi hanno presentato un profilo simile, fatta eccezione per l'IGF-1BP1 in cui la tendenza sembra avere andamento opposto nei due gruppi di trattamento (TRT +12%; HIIRT -16%). Anche qui non si sono registrate differenze significative dall'analisi time x training, né nell'analisi del singolo gruppo.

I livelli basali di testosterone totale (non rappresentato in figura) e libero hanno assunto andamenti leggermente differenti nei due gruppi: sia per gli uomini che per le donne allenati con la metodica HIIRT i valori sembrano diminuire (donne -4%; uomini -7%), mentre nel gruppo TRT la tendenza è all'aumento (donne +16%; uomini + 17%). L'analisi time x training per entrambi i generi non ha, comunque, riscontrato alcuna differenza statisticamente significativa.

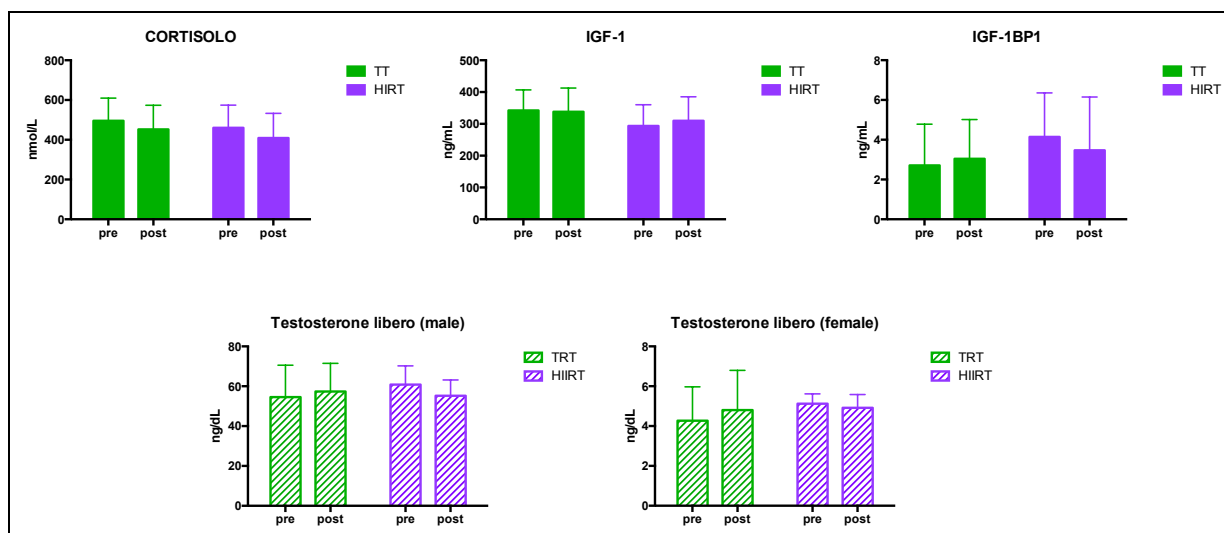


Figura 5.8. Ormoni ematici. Non si sono registrate differenze significative nei due gruppi.

5.4.4 METABOLISMO A RIPOSO.

L'analisi del metabolismo basale non ha rilevato alcuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di allenamento (fig. 5.9). In tutte le misurazioni, ad accezione del QR, i due gruppi mantengono un andamento simile. Le otto settimane di allenamento, TRT o HIIRT, non sembrano aver influenzato i dati relativi al metabolismo a riposo.

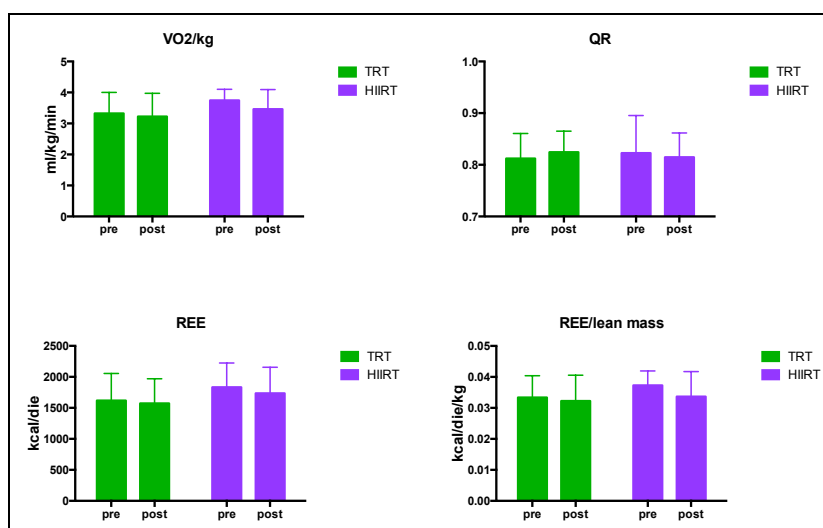


Figura 5.9. Risultati del metabolismo basale. Non si sono evidenziate differenze significative.

L'analisi delle differenze di genere non ha fatto emergere alcuna differenza statisticamente significativa. Questo risultato era simile per entrambi i gruppi di allenamento.

5.4.5 POTENZA AEROBICA.

I dati ricavati dal test per la potenza aerobica sono rappresentati in tabella 5.3. In entrambi i gruppi di allenamento si può riscontrare un miglioramento statisticamente significativo del VO_{2max} , e del relativo dato normalizzato per kg di massa corporea (VO_{2max}/kg). Non si riscontrano tuttavia differenze tra le due tipologie di allenamento.

Si registra un aumento del massimo wattaggio raggiunto in entrambi i gruppi (TRT +10%; HIIRT + 19%), ma solo nel gruppo HIIRT la differenza è statisticamente significativa ($p<0,05$).

Non si sono registrate differenze significative ai fini statistici nelle altre misurazioni effettuate.

variabili	TRT		HIIRT	
	Pre	Post	Pre	Post
VO_{2max} (L/min)	2.2±0.7	2.5±0.6*	1.9±0.6	2.3±0.5*
VO_{2max} (ml/kg/min)	31.7±7.7	36.2±7.1*	28.2±6.7	34.3±4.1*
Picco di QR	0.97±0.07	0.96±0.04	0.99±0.04	0.99±0.10
Picco di Volume espirato/min	56.0±16.2	65.7±15.5	54.8±17.6	67.4±24.1
Durata esercizio (min)	8.49±3.32	9.38±3.52	8.58±3.25	9.16±3.50
Work rate (W)	213.6±52.3	219.0±53.5	205.9±50.5	216.7±56.9*

Tabella 5.3. Risultati delle misure cardiopolmonari. * = $p<0,05$.

5.5. DISCUSSIONE.

Uno degli obiettivi principali dei programmi di allenamento è quello di migliorare la forza e la massa muscolare, e allo stesso tempo cercare di implementare la fitness cardiovascolare e ottimizzare la composizione corporea (199). Lo scopo di questa seconda fase sperimentale era proprio quello di valutare gli effetti a lungo termine dell'HIIRT, sul metabolismo, sulla forza e sulle capacità cardiopolmonari in un gruppo di giovani sedentari.

I risultati hanno confermato che un allenamento di forza tradizionale (TRT), composto da carichi moderati e un adeguato recupero tra le serie, può migliorare l'espressione di forza e, al contempo, avere degli effetti positivi anche sulla composizione corporea. Questi dati confermano quanto già dimostrato precedentemente dalla letteratura su programmi di allenamento simili (105, 200). Anche l'allenamento ad alta intensità con brevi tempi di recupero ha avuto effetti positivi su questi

parametri, dimostrando, anzi, che questa tipologia di allenamento (HIIRT) riesce ad indurre una maggiore ipertrofia a parità di incremento di forza. Questi risultati non fanno che confermare come, aumentando l'intensità del carico, si raggiunga il reclutamento completo delle unità motorie, condizione, questa, necessaria per migliorare sia la forza che l'ipertrofia muscolare (201). Il non aver evidenziato differenze significative di forza massima tra i due protocolli di allenamento è un'ulteriore conferma di quanto sta emergendo recentemente dalla ricerca scientifica: i carichi elevati non sono la "condicio sine qua non" per ottenere un effettivo incremento della risposta muscolare al RT. L'effetto del carico, infatti, sembra essere collegato alla precedente esperienza di allenamento dei soggetti.. Burd e colleghi hanno recentemente dimostrato come atleti esperti riuscissero a raggiungere un buono stimolo ipertrofico anche allenandosi a bassi carichi (202), purché venisse raggiunto l'esaurimento muscolare. Tuttavia, nonostante questo, diminuendo l'intensità del carico sembra non si riesca a mantenere la medesima attivazione delle unità motorie che si ottiene invece con allenamenti ad alta intensità (203, 204). Queste evidenze aiuterebbero a giustificare la differente risposta ottenuta dai nostri soggetti nel test all'handgrip: non abbiamo infatti evidenziato differenti risposte nella prova di forza massima, mentre nel test di endurance il gruppo HIIRT ha ottenuto miglioramenti significativamente maggiori rispetto al gruppo TRT. L'elevato carico (85% 1RM) richiesto dal protocollo HIIRT chiama in causa tutte le fibre muscolari, ma il breve recupero tra le serie concesso, non dà il tempo alle fibre più veloci di recuperare completamente, obbligando così l'utilizzo delle fibre più lente nelle ultime ripetizioni. Questa condizione, ripetuta nel tempo, ha probabilmente indotto un adattamento muscolare alla fatica locale maggiore rispetto al TRT, dove l'attivazione delle unità motorie è meno intensa e, quindi, meno stimolante nell'incrementare la resistenza all'esaurimento muscolare.

Basandoci sulle precedenti ricerche sulla metodica HIIRT condotte da Paoli (158, 161, 174), in cui si evidenziava un miglioramento del REE post esercizio e una riduzione del QR verso l'ossidazione dei grassi, ci saremmo aspettati di rilevare un miglioramento della composizione corporea e del metabolismo a riposo superiore nel gruppo HIIRT rispetto al TRT. In realtà i nostri risultati hanno evidenziato un andamento simile nei due gruppi per quanto riguarda il consumo energetico a riposo, mostrando però un andamento in senso opposto rispetto allo studio in acuto del 2012 (174). I risultati della nostra ricerca hanno, infatti, evidenziato una tendenza a diminuire la spesa energetica a riposo dopo 8 settimane di allenamento. Bisogna tuttavia precisare che alcuni autori ritengono possibile una riduzione del REE, e in particolare del suo valore normalizzato per massa magra (REE/lean mass), come conseguenza dell'allenamento intenso (205-207). Le ragioni per questa controtendenza non sono ancora chiare, un'ipotesi è relativa al timing delle rilevazioni: sembrerebbe infatti che l'innalzamento post esercizio del REE si manifesti entro 30 ore dal termine

della seduta (208), ma non oltre tale periodo. Un'altra spiegazione potrebbe essere legata all'intensità dell'esercizio proposto: se l'esercizio è molto intenso si potrebbero mettere in atto meccanismi compensatori tali da ridurre la spesa energetica a riposo. Ancora una volta sembra tornare in gioco l'esperienza dei soggetti, poiché alcuni studi condotti su atleti d'élite hanno dimostrato che essi rispondevano ad allenamenti intensi con un aumento dell'introito energetico, mentre soggetti sedentari e non abituati all'allenamento, riducevano la massa corporea e altre componenti della spesa energetica (206). A supportare quest'ultima ipotesi come valida spiegazione per il ridotto REE nel gruppo HIIRT, vi è l'aumentata sensazione di fame testimoniata dai partecipanti allo studio attraverso il diario alimentare somministrato. Ai soggetti era stato, infatti, richiesto di descrivere la loro dieta quotidiana prima dell'inizio dell'esperimento e nelle ultime settimane di allenamento, richiedendo inoltre di mantenere le normali abitudini alimentari per tutta la durata dello studio. L'analisi di questi dati (non rappresentati in questa tesi) hanno evidenziato una maggior esigenza di incrementare l'introito calorico giornaliero nel gruppo HIIRT rispetto al gruppo TRT, che è invece riuscito a non variare il proprio regime dietetico. Questa mancato controllo alimentare potrebbe inoltre spiegare il, seppur lieve, aumento di massa grassa registrato proprio nel gruppo HIIRT, come ad indicare che un programma di allenamento intenso non può essere un valido supporto per la riduzione del tessuto adiposo, se non viene suffragato da un corretto stile alimentare.

Per quanto concerne il controllo del profilo lipidico e degli altri parametri ematici, non si sono registrati differenze significative nei due gruppi di allenamento. Ma questa mancanza di risultati può essere giustificata con il campione preso ad esame, ovvero un gruppo di giovani sedentari normopeso, tutti con valori entro i ranges di riferimento..

Infine entrambe le tipologie di allenamento si sono dimostrate efficaci nell'aumentare il consumo di ossigeno, ma senza evidenti differenze tra HIIRT e TRT. I dati presenti in letteratura sull'utilità del RT nel migliorare il VO_{2max} sono piuttosto contraddittori. Alcuni autori sembrano prediligere protocolli con carichi elevati, poche ripetizioni e lunghi recuperi a tale scopo, ma vi sono altrettanti studi che invece sembrano indicare direzioni opposte (192, 209). Il dato più costante sembra essere un aumento della performance aerobica, intesa come un miglioramento del work rate e/o del tempo d'esercizio, senza un concomitante miglioramento del VO_{2max} (192, 210). In realtà, nel nostro studio, il gruppo HIIRT ha ottenuto un miglioramento sia del VO_{2max} che del work rate, confermando uno dei principi base dell'allenamento, ovvero che un miglioramento della massima potenza aerobica necessita anche di un miglioramento della forza e della capacità anaerobica (211), poiché queste componenti risultano fondamentali nel migliorare la capacità del muscolo di accedere alle proprie risorse energetiche. Nel gruppo TRT, invece, il miglioramento della performance non è

stato significativo. La spiegazione di questo evento potrebbe essere un non sufficiente intensità di allenamento, tale da permettere una migliore gestione delle scorte energetiche muscolari.

I protocolli di RT, e in particolari quelli legati ad alte intensità come l'HIIRT, vengono spesso utilizzati per incrementare la massa muscolare e la forza nella popolazione maschile. Tuttavia, non vi sono differenze così marcate nella risposta fisiologica all'esercizio. Gli uomini ottengono prestazioni di forza migliori delle donne, ma questo risultato è attribuibile alla maggior massa muscolare che li caratterizza. Normalizzando la forza con la massa muscolare del soggetto, queste differenze si attenuano (151). Se consideriamo invece l'aumento percentuale di massa muscolare e di forza, nel nostro studio le donne hanno ottenuto risultati migliori degli uomini. Non crediamo che questi dati siano il frutto di un differente meccanismo fisiologico, ma piuttosto che siano riconducibili ad una differente esperienza motoria, che vede gli uomini maggiormente abituati a lavori di forza rispetto alle donne. L'elevato e rapido incremento di forza riscontrato nelle donne è molto probabilmente legato ad un adattamento neuronale, caratteristico di chi si avvicina per la prima volta al RT.

È interessante notare come nel gruppo TRT gli uomini non abbiano modificato la loro massa muscolare, diminuendo invece la massa grassa differendo, in questo, in modo significativo dagli uomini del gruppo HIIRT. Probabilmente l'intensità dell'allenamento tradizionale non era sufficiente per stimolare l'ipertrofia nel campione preso ad esame, che ricordiamo essere di giovani mediamente attivi. Le donne TRT hanno invece risposto in modo positivo all'incremento di massa magra, anche se in termini inferiori rispetto al gruppo HIIRT, a testimonianza che allenamenti a carichi più intensi possono offrire stimoli maggiori nell'incremento di forza e massa muscolare, in soggetti non abituati a questa tipologia di allenamento (106, 212).

6. TERZA FASE SPERIMENTALE.

6.1. EFFETTI SISTEMICI E LOCALI DI UN PROTOCOLLO AD ALTA INTENSITA' SU UNA POPOLAZIONE DI ULTRA SESSANTENNI.

Il 27% della popolazione italiana è composta da anziani con più di 60 anni (dati ISTAT 2014). Uno degli effetti negativi dell'aumentata aspettanza di vita della popolazione è l'aumentare dell'incidenza delle patologie croniche, e la conseguente diminuzione della capacità funzionali della persona. Nonostante gli sforzi per ridurre la prevalenze della disabilità, 7 milioni di persone negli USA vivono in uno stato di disabilità cronica (213). La perdita di massa muscolare e di forza sono adattamenti fisiologici a cui un anziano va inevitabilmente incontro. Studi osservazionali indicano che, a partire dalla quarta decade di vita, ogni anno si perde all'incirca l'1% della massa muscolare posseduta (214, 215). Questa perdita può condurre alla condizione nota come sarcopenia (216-219) che è strettamente connessa ad una conseguente perdita di funzionalità e dipendenza nelle attività della vita quotidiana, ma è anche correlata al rischio di sviluppare condizioni patologiche croniche, come l'osteoporosi (220).

Le ricerche degli ultimi decenni sembrano confermare come molte delle insufficienze fisiologiche età-correlate siano inevitabili. Funzioni come la resistenza cardiorespiratoria, la flessibilità, la composizione corporea, la potenza, la resistenza e la forza muscolare, ma anche la coordinazione e l'equilibrio vengono meno. Queste componenti assumono tutte un ruolo fondamentale nel preservare la funzionalità dell'anziano, e ridurne, per contro, l'incidenza della disabilità (221-223). È ormai assodato come un programma di allenamento finalizzato possa quantomeno diminuire questa graduale ed inevitabile perdita e minimizzarne gli effetti. Nello specifico, l'allenamento contro resistenza (RT) è in grado di contrastare la debolezza muscolare e le conseguenze che ne derivano (220), migliora la capacità coordinative, riduce il rischio di cadute, controlla i fattori di rischio cardiovascolari prevenendo l'insorgenza di patologie croniche ed i loro sintomi (224-228).

Parameter	Aerobic Activity	Balance Exercise	Resistance Activity	Flexibility Activity
Mode	movement that does not impose excessive orthopedic stress; walking most common; aquatic exercise and stationary-cycle exercise preferable for those with weight-bearing tolerance limitations	neuromuscular training combining balance, agility and proprioceptive training; progressively difficult postures; dynamic movements with perturbations to the center of gravity	dynamic muscle-strengthening activities that include machine and free weights, weight-bearing calisthenics, resistance bands and similar resistance exercises that use major muscle groups	activities that maintain or increase flexibility using continual stretches for each major muscle group; static stretching recommended (over ballistic or PNF)
Intensity	on a 0–10 scale for rating of perceived exertion (RPE), 5–6 for moderate intensity and 7–8 for vigorous intensity	preferred intensity unclear	on a 10-point scale (no movement = 0 and maximal effort = 10), moderate intensity = 5 or 6 and vigorous intensity = 7 or 8	on a 0–10 RPE scale, 5–6
Duration	for moderate-intensity activities, an accumulated total of at least 30 minutes per day; for vigorous-intensity activities, an accumulated total of at least 20 minutes per day	preferred duration unclear	1 set of each exercise, using a resistance that allows for 10–15 repetitions per exercise	1 set of each exercise; 15–30 seconds each stretch
Frequency	minimum of 5 days per week, moderate intensity; minimum of 3 days per week, vigorous intensity	minimum of 2 days per week	minimum of 2 days per week	minimum of 2 days per week

Figura 6.1. Tabella con le linee guida ACSM per la prescrizione di attività fisica negli anziani (180)

In parallelo alla riduzione di massa muscolare, anche la forza evidenzia una correlazione inversa all'età, con una perdita di circa l'1-2% all'anno in soggetti over 65. Sembrerebbe inoltre che gli arti inferiori siano maggiormente colpiti rispetto alla parte superiore del corpo (229, 230). Fortunatamente, è stato dimostrato che l'esercizio fisico può invertire questa tendenza (225, 231); sia esso un RT di tipo eccentrico (232-235), isometrico (225, 236), ad alta o bassa intensità (237, 238) (fig. 6.1).

Ancora una volta, la complessità nello studio del RT ha fatto sì che le evidenze scientifiche siano piuttosto divergenti sulla reale valenza che questa metodica di allenamento ha sulla salute degli anziani; la conclusione condivisa da tutti è che un allenamento con sovraccarichi induce un miglioramento nell'espressione di forza muscolare (231, 239-242). Ma quale programma sia il più adatto non è ancora stato stabilito.

Gli studi effettuati sul RT ad alta intensità sembrano suggerire che un allenamento condotto al'80% di 1RM sia il più efficace nell'indurre miglioramenti di forza, mantenere la massa muscolare e il grado di mobilità articolare negli anziani (231, 243-246); tuttavia altre ricerche sembrano

dimostrare che nonostante ciò, RT ad alta intensità non siano più utili nel migliorare le prestazioni funzionali rispetto a protocolli con intensità moderata (238, 247-249).

Queste divergenze nascono soprattutto perché non è semplice isolare tutte le componenti del RT (9), e quindi i work out proposti possono differire molto tra loro.

Un'altra problematica sociale, trasferitasi anche tra la popolazione anziana, è la mancanza di tempo e di motivazione da dedicare all'attività fisica (250-252).

Una recente meta-analisi (238) ha evidenziato come su 21 studi analizzati, il dropout di soggetti anziani oscillava dallo 0% (239, 253) al 44% (244), con una discreta aderenza (66%) alle sessioni di allenamento (239, 253, 254). Le ragioni per l'abbandono dal programma di allenamento erano prevalentemente rappresentate da una mancanza di interesse (240, 244, 255), ragioni personali (240, 242, 244, 247, 256) come impegni lavorativi (247, 248, 255, 257) o problematiche di salute non dipendenti dai protocolli (240, 248, 258) o infortuni e dolenzie dovute all'allenamento (240, 248, 258). Mentre in soggetti giovani sembra esserci una preferenza per allenamenti più intensi (259), negli anziani il grado di aderenza al protocollo non sembra essere influenzato dall'intensità dell'allenamento (238).

Lo scopo di questa ricerca è di studiare gli effetti dell'intensità dell'allenamento, intesa sempre come il rapporto tra carico sollevato (1RM) e tempo di recupero, su una popolazione di anziani sedentari.

6.2. MATERIALI E METODI.

6.2.1 SOGGETTI.

Per questo studio sono stati reclutati 37 soggetti, di cui 25 hanno completato l'intero protocollo di allenamento; le caratteristiche antropometriche dei soggetti che hanno concluso l'esperimento sono riportate in tabella 6.1.

	TRT (N=9)	HIIRT (N=14)
Età (anni)	61,67±4,18	64,07±2,59
Peso (kg)	74,33±17,54	69,46±11,07
Altezza (m)	1,69±0,10	1,65±0,10
BMI	25,98±4,35	25,28±2,40

Tabella 6.1. Caratteristiche antropometriche dei soggetti.

La procedura di selezione del campione prevedeva un'anamnesi iniziale per escludere coloro affetti da patologie croniche non compatibili con il protocollo, importanti limitazioni osteoarticolari o un'età inferiore a 60 anni compiuti.

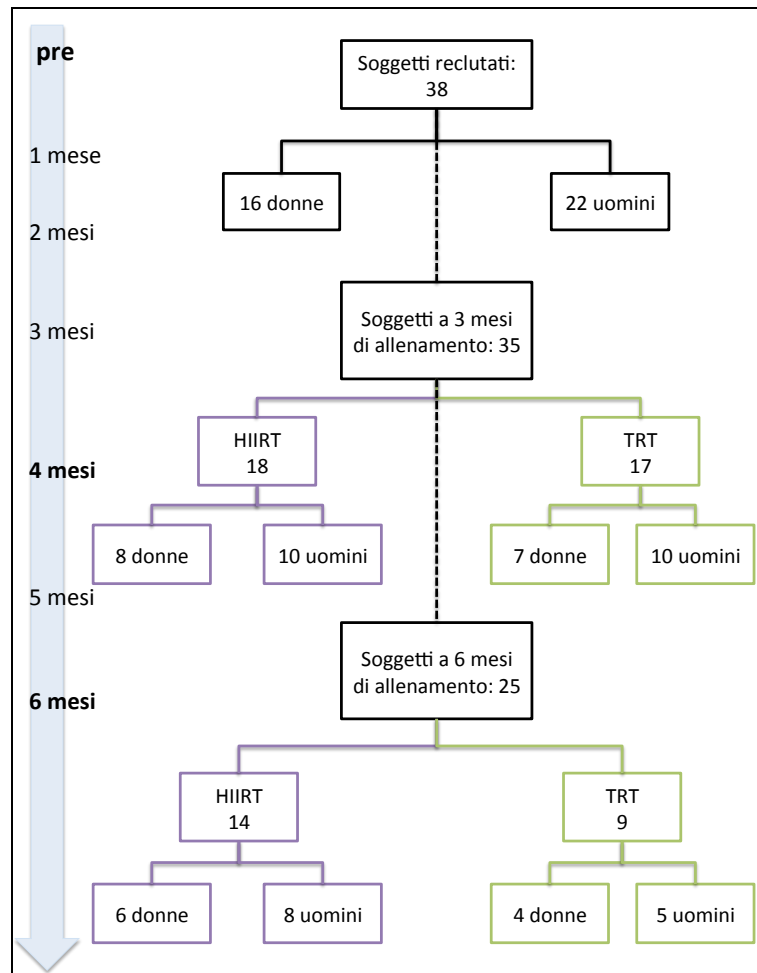


Figura 6.2. Flow diagram dell'aderenza al progetto sperimentale.

6.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.

Il protocollo sperimentale si è sviluppato in 6 mesi (fig. 6.3), in modo da garantire un graduale adattamento neurologico e muscolare dei soggetti, i quali erano tutti neofiti. Dopo un primo incontro, i soggetti sono stati convocati nel nostro laboratorio per effettuare i test iniziali per la determinazione di 1RM; l'analisi della composizione corporea ed i prelievi ematici. I test di forza sono stati ripetuti anche al quarto mese, allo scopo di verificare il miglioramento dei soggetti, ma anche per poter meglio impostare la suddivisione nei due gruppi di allenamento diversificato. Al termine dei 6 mesi, tutti i test sono stati ripetuti.

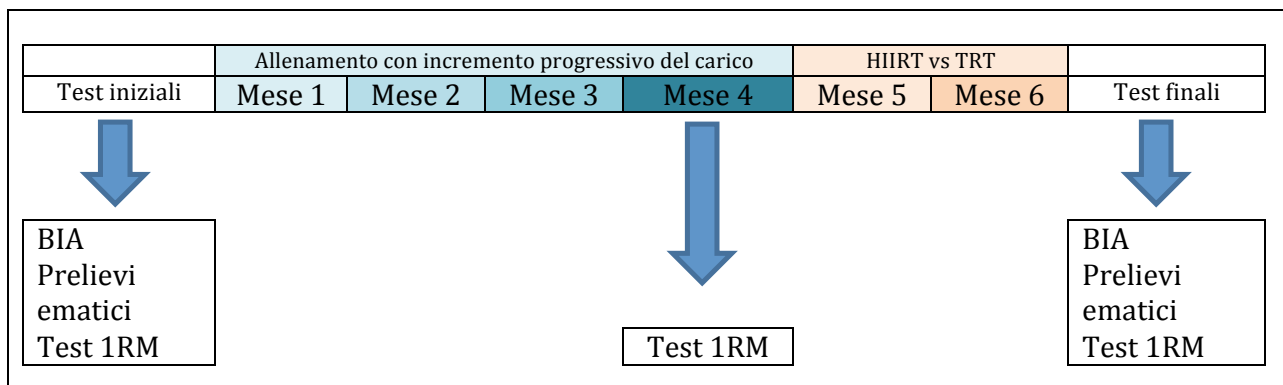


Figura 6.3. Disegno sperimentale.

6.2.3 PROTOCOLLI DI ALLENAMENTO.

Per i primi quattro mesi i soggetti hanno seguito la medesima scheda di allenamento, che prevedeva il coinvolgimento dei principali gruppi muscolari (quadricipiti e glutei, pettorali, dorsali, spalle e bicipite brachiale). L'intensità dell'allenamento era incrementale, data dall'aumento del carico (% 1RM) all'incirca ogni due settimane. Per ovviare alla noia dell'allenamento, ogni due mesi la tipologia di esercizi veniva cambiata, senza variare la muscolatura coinvolta (tab. 6.2).

Mese	Settimana	HIIRT group	TRT group	Esercizi
1	1	1. 1x15 al 60% 1RM	1. 1x15 al 60% 1RM	Leg press Chest Press Lat Pulldown Shoulder press Curl con manubri
		2. 2x15 al 60% 1RM	2. 2x15 al 60% 1RM	
	2	3x15 al 60% 1RM	3x15 al 60% 1RM	
	3	3x15 al 60% 1RM	3x15 al 60% 1RM	
	4	3x15 al 60% 1RM	3x15 al 60% 1RM	
2	5	3x12 al 65% 1RM	3x12 al 65% 1RM	Leg extension Leg Curl Distensioni con bilancere Rowing/Pulley Spinte con manubri Arm Curl Tricipiti con sbarra
	6	3x12 al 65% 1RM	3x12 al 65% 1RM	
	7	3x10 al 70% 1RM	3x10 al 70% 1RM	
	8	3x10 al 70% 1RM	3x10 al 70% 1RM	
3	9	3x8 al 75% 1RM	3x8 al 75% 1RM	
	10	3x8 al 75% 1RM	3x8 al 75% 1RM	
	11	3x8 al 75% 1RM	3x8 al 75% 1RM	
	12	3x8 al 75% 1RM	3x8 al 75% 1RM	
4	13	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	Leg press Chest Press Lat Pulldown Shoulder press Curl con manubri Tricipiti con sbarra
	14	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	15	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	16	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
5	17	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	18	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	19	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	20	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
6	21	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	22	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	23	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	
	24	HIIRT	3x8 al 75% 1RM	

Tabella 6.2. Protocollo di allenamento.

6.2.4 TEST DI FORZA.

Considerato che i soggetti erano tutti decondizionati, abbiamo optato per un test indiretto della valutazione della massima espressione di forza. Il 6RM test, oltre ad avere un'alta riproducibilità ($r=0,99$) è una soluzione adeguata quando i soggetti non hanno esperienza con il RT (174, 260, 261). La formula di Brzycki (195, 196) è stata utilizzata per stimare il carico massimale. I dati ottenuti dai test iniziali sono stati utilizzati per determinare il corretto livello di partenza dei partecipanti; il test è stato ripetuto alla 12° settimana per valutare i risultati dei primi mesi di allenamento, assestare il nuovo carico e per distribuire in modo omogeneo i soggetti nei due gruppi di intervento. I soggetti sono stati testati nelle seguenti macchine: Chest Press (pettorale), Lat Pulldown (gran dorsale), Leg Extension (quadricipite femorale), Arm Curl con barra a-z (bicipite brachiale) (Technogym, Cesena FO, Italia).

6.2.5 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA.

La valutazione della composizione corporea è avvenuta mediante bioimpedenziometria (BIA) (Akern mod. STA/BIA 101/S, Pontassieve, FI, Italia). I soggetti sono stati analizzati al mattino e a digiuno; una volta distesi su di un lettino sono stati applicati quattro elettrodi cutanei, uno sul dorso della mano, uno sull'articolazione metacarpo - falangea del III dito, uno sul dorso del piede omolaterale a livello dell'articolazione metatarso - falangea del III dito e uno sull'articolazione tibiotarsica. Mediante il software di analisi dedicato (Akern, Body Pro, Pontassieve, FI, Italia) abbiamo ricavato i valori di massa magra (FFM), massa grassa (FAT) e total body water (TBW).

6.2.6 ESAMI EMATICI.

Successivamente alla BIA, sono stati prelevati i campioni ematici per l'analisi di glicemia, colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, APOB, APO-A1, AST, ALT, GGT, CPK, LDH, creatinina e clearance, azotemia, acido urico, insulina testosterone libero, testosterone totale, IGF-1, IGF-1 BP1 E BP3, cortisolo, GH. L'analisi strumentale è stata eseguita dal servizio di medicina di laboratorio, dell'azienda ospedaliera di Padova.

6.3. ANALISI STATISTICA.

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism versione 6.0 (GraphPad Software, San Diego, California). L'analisi della varianza ad una via (one way ANOVA) è stata effettuata per studiare gli effetti di ogni protocollo. Il two way ANOVA per misure ripetute è stato,

invece, condotto per confrontare le due tipologie di allenamento mediante un'analisi "time x training". Ogni volta che si sono rilevate differenze significative nei valori, è stato utilizzato il test di Bonferroni post-hoc. Il p-value è stato fissato a 0,05.

6.4. RISULTATI.

6.4.1 FORZA.

I tests sulla forza hanno evidenziato un aumento significativo della forza nei 6 mesi di allenamento ($p < 0.0001$). Prendendo in esame gli ultimi 2 mesi di allenamento non si sono riscontrate differenze statisticamente significative ($p > 0.05$) tra le due metodiche (fig. 6.4).

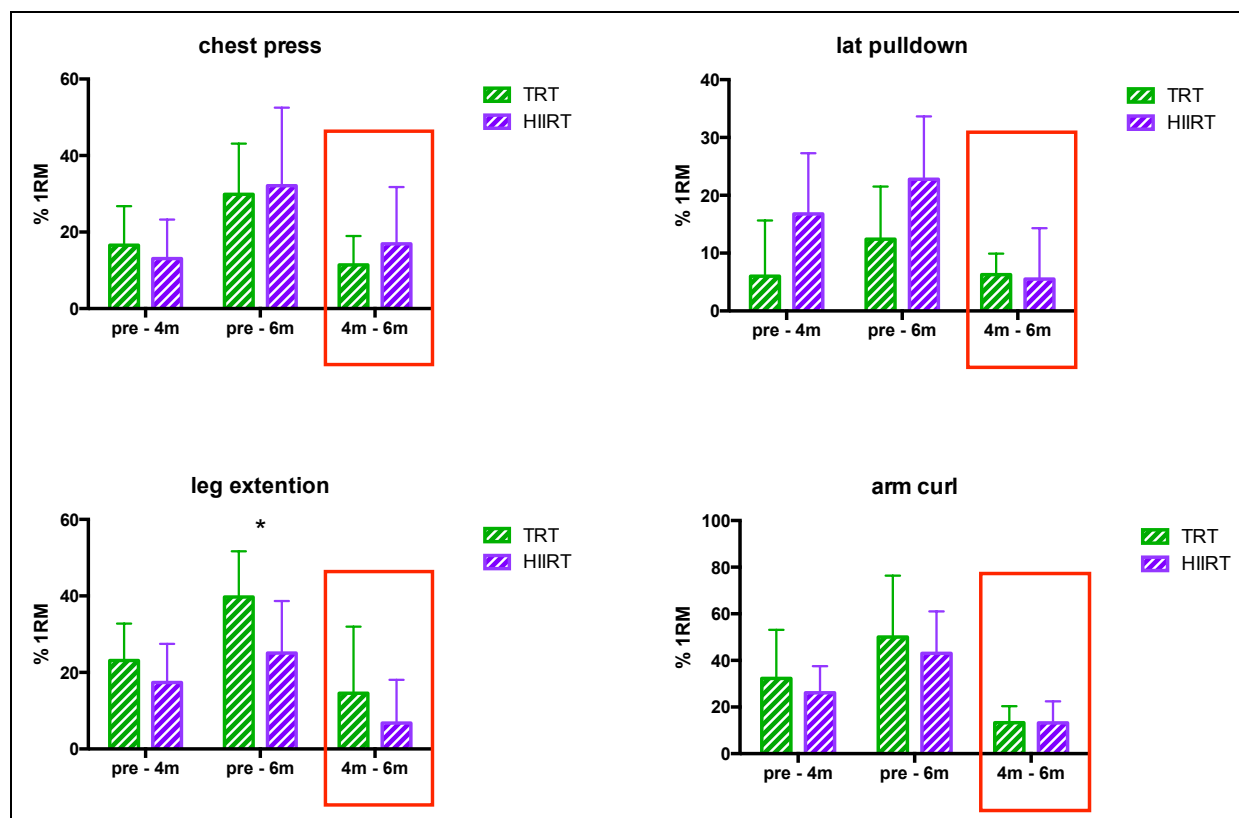


Figura 6.4. Risultati dei test di forza: differenze percentuali. Il riquadro rosso evidenzia la differenza tra HIIRT e TRT. $*=p < 0.05$.

Anche se non vi sono state differenze significative per genere (figura 6.5), si segnala una tendenza nelle donne a rispondere con incrementi percentuali maggiori (+25%) in tutti i test di forza rispetto agli uomini (+19%).

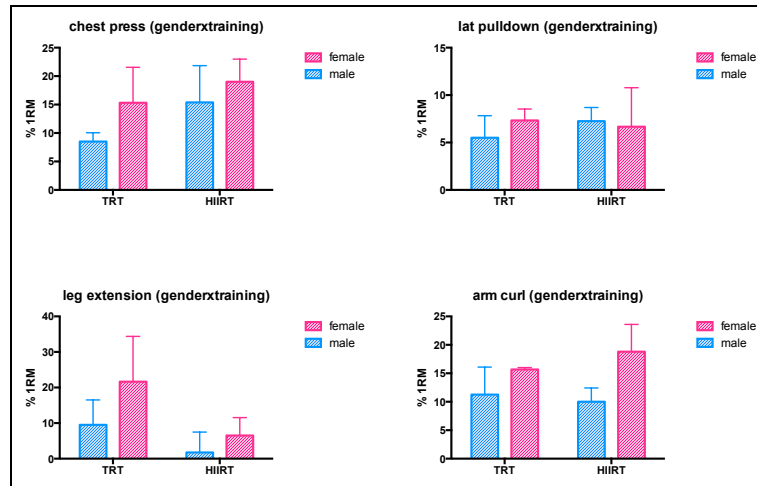


Figura 6.53. Differenze di genere nella risposta ai due differenti protocolli di allenamento.

6.4.2 COMPOSIZIONE CORPOREA.

Anche l'analisi della composizione corporea non suggerisce alcuna differenza tra le due intensità di allenamento. Tuttavia, nel gruppo TRT si riscontra una diminuzione significativa ($p < 0,05$) dell'acqua totale (TBW) e della massa magra (FFM) pari al 5%; mentre si registra un aumento significativo della massa grassa (FAT) sempre del 5% (fig. 6.6). Non si registrano differenze significative tra uomini e donne in nessuno dei due allenamenti; per entrambi i generi il gruppo HIIRT sembra presentare una miglior risposta nell'aumento della percentuale di massa magra e nella diminuzione della percentuale di massa grassa (fig. 6.7).

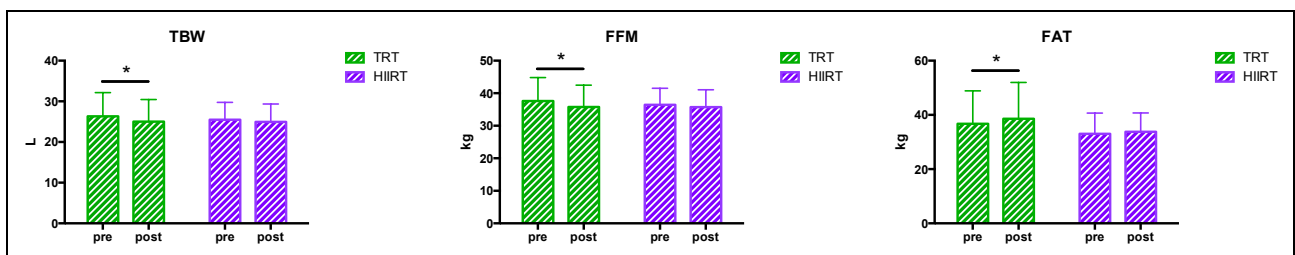


Figura 6.6. Analisi della composizione corporea mediante BIA. $*=p < 0,05$.

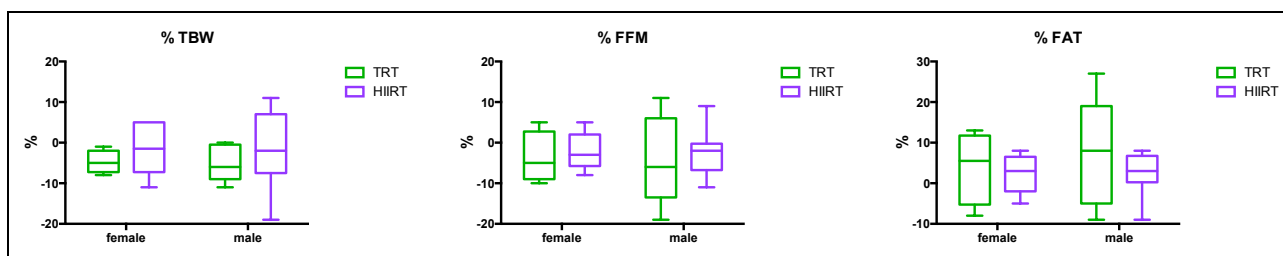


Figura 6.7. Analisi della composizione corporea gender x training. $*=p<0,05$.

6.4.3 ESAMI EMATICI.

L'esame dei valori ematici ha fatto emergere un aumento dei livelli basali di cortisolo in entrambi i gruppi (TRT +8%; HIIRT +14%), ma l'aumento è risultato significativo solo nel gruppo HIIRT. I livelli di GH sono diminuiti in entrambi i gruppi (TRT -78%; HIIRT -30%) ma in modo significativo solo nel gruppo TRT. L'insulina ha subito un decremento in entrambi i gruppi (TRT -11%; HIIRT -29%) ma significativo solo nel gruppo HIIRT. L'IGF-1 ha subito un simile incremento significativo in entrambi i gruppi (TRT -15%; HIIRT -15%). I valori di testosterone totale sono stati suddivisi per genere, e si può riscontrare un aumento in entrambi i generi, ma significativo solo per le donne (TRT uomini +6%; TRT donne +64%; HIIRT uomini +7%; HIIRT donne +24%) senza differenza tra i gruppi (fig. 6.8).

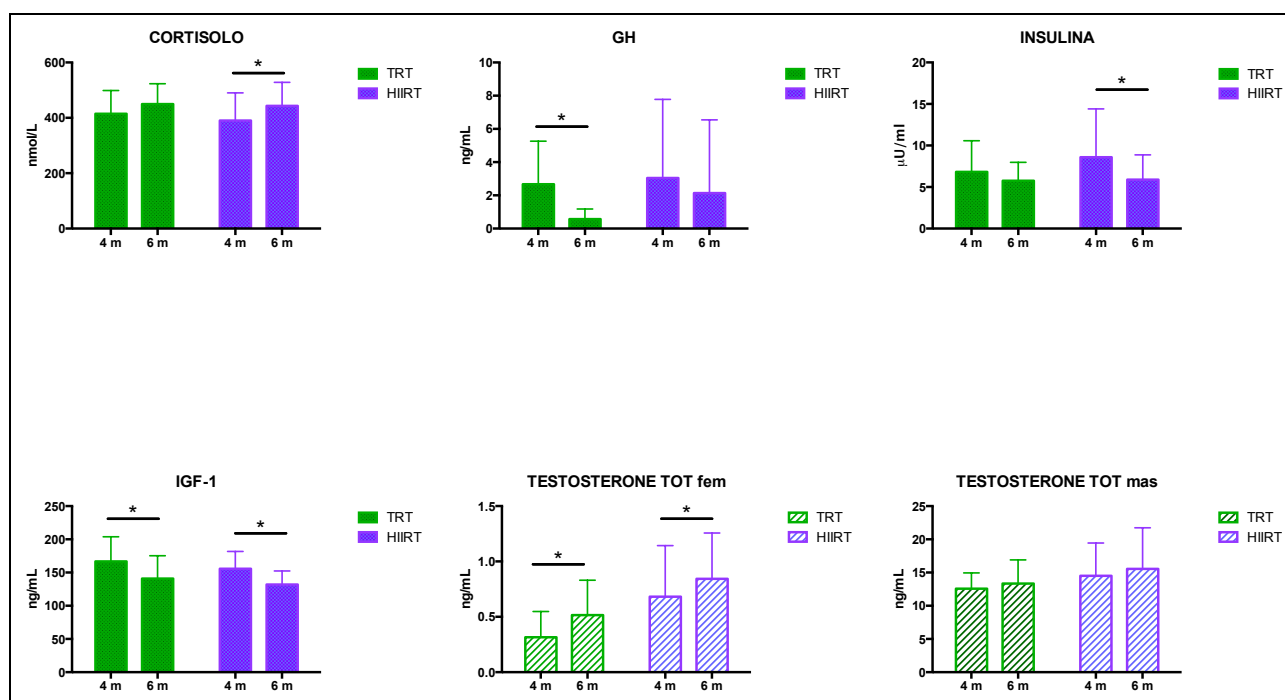


Figura 6.8. Analisi dei livelli degli ormoni anabolici. * = $p < 0.05$.

Il colesterolo totale è diminuito in entrambi i gruppi (TRT -7%; HIIRT -9%) ma in modo significativo solo nel gruppo HIIRT, ove anche i livelli di LDL sono diminuiti in misura maggiore rispetto al gruppo TRT (TRT -10%; HIIRT -11%); il colesterolo HDL è rimasto pressoché invariato in entrambi i gruppi (TRT -1%; HIIRT -2%). I trigliceridi ematici sono diminuiti in entrambi i gruppi (TRT -6%; HIIRT -18%) senza differenze tra le due tipologie di allenamento, mentre la glicemia è migliorata solo nel gruppo HIIRT (TRT +5%; HIIRT -10%), anche se non vi sono differenze significative tra i due gruppi (fig. 6.9).

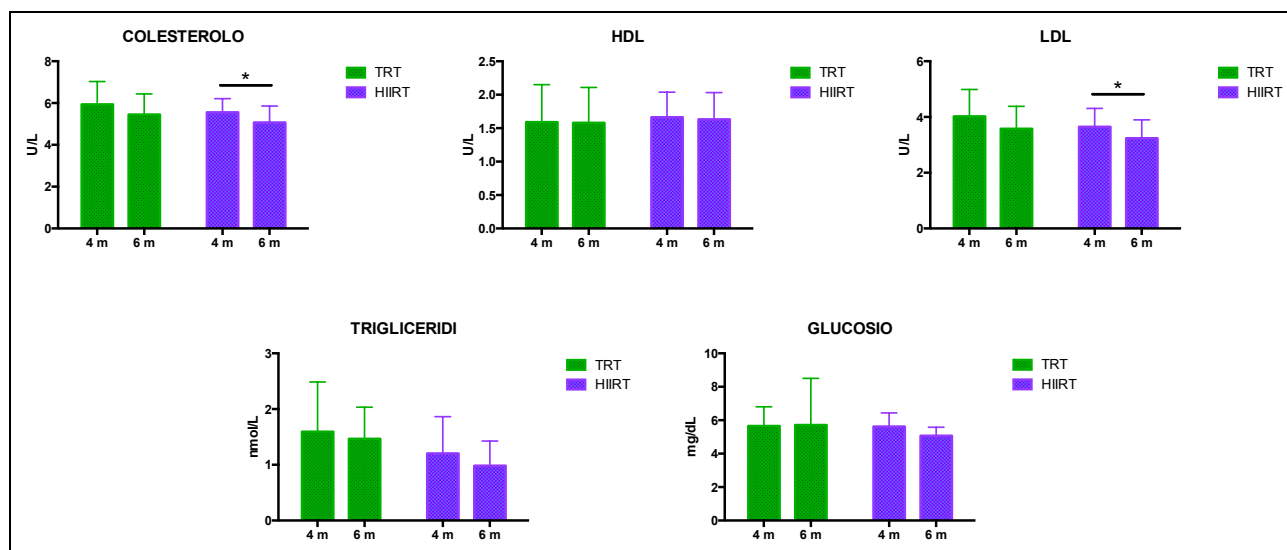


Figura 6.9. Analisi delle lipoproteine ematiche e della glicemia. * = p<0.05.

L'analisi delle differenze di genere non ha evidenziato alcuna differenza nei vari parametri presi in considerazione, fatta eccezione per i valori di creatinina, che risultano significativamente più elevati nelle donne rispetto agli uomini (fig. 6.10).

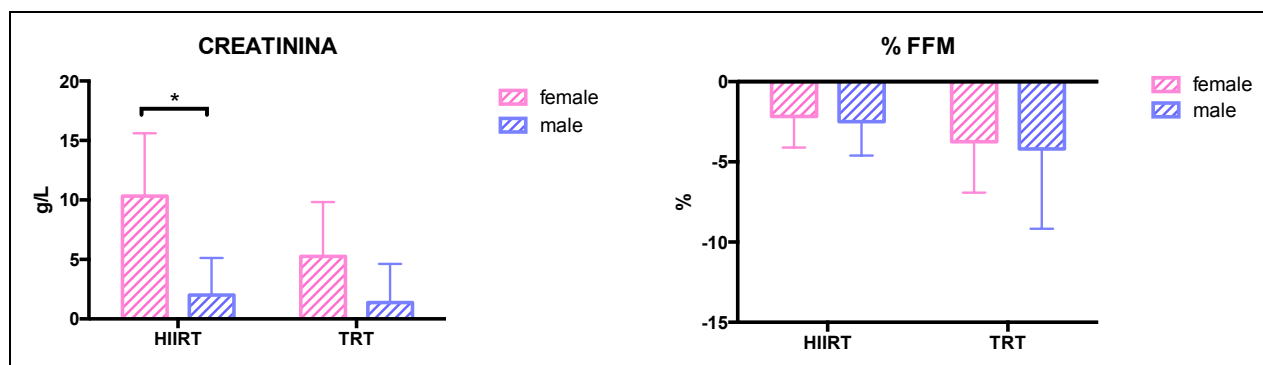


Figura 6.10. Differenze di genere nei valori di Creatinina e della massa muscolare. * = p<0.05.

6.5. DISCUSSIONE.

L'invecchiamento è accompagnato da una progressiva perdita di massa muscolare e, conseguentemente, di forza (217). Questa condizione può portare ad una disfunzionalità generale, con un aumentato rischio di cadute e di sviluppare patologie metaboliche croniche (262, 263).

L'esercizio fisico, e in particolare il RT, possono contrastare questo declino psicofisico, e diventare un arma a favore del benessere dell'anziano. Lo scopo di questa fase sperimentale era quello di verificare gli effetti della metodica HIIRT sui principali marker di salute dell'anziano. Abbiamo visto come l'intensità dell'allenamento possa influire sugli adattamenti muscolari (106), ma spesso si esita nel proporre allenamenti più intensi a soggetti over 60.

Un primo risultato rassicurante, che proviene dal nostro studio, deriva dalla tollerabilità dell'allenamento da parte del gruppo che ha preso parte al progetto. Dei 38 soggetti che sono stati reclutati nella fase iniziale, 35 hanno continuato per i primi 3 mesi, e sono quindi stati suddivisi nei due gruppi sperimentali. Di questi, 4 hanno abbandonato il gruppo HIIRT mentre 8 il gruppo TRT, pari rispettivamente al 22% e 47% (fig. 6.2). Le principali cause di abbandono sono state legate ad impegni lavorativi o personali, e scarsa motivazione nel progetto. I soggetti inseriti nel gruppo HIIRT hanno sostenuto di sentirsi maggiormente motivati nell'allenamento, ricavando maggiore soddisfazione dai risultati ottenuti.

Numerosi studi hanno descritto risultati incoraggianti sull'adattabilità del muscolo scheletrico nell'anziano, dimostrando che non vi sono differenze significative tra giovani e meno giovani sulla risposta ad uno stesso programma di RT (264). I benefici del RT sulla popolazione anziana sono ormai consolidati, ma non sono numerosi gli studi che hanno messo a confronto differenti intensità di allenamento, per approfondire in che modo il RT possa indurre tali vantaggi. Galvao e Taffe (120) hanno dimostrato che una sola serie per esercizio poteva essere utile nel migliorare la forza e la funzione muscolare, ma che programmi con volumi maggiori sono più efficaci e inducono maggiori performance nella anche nella resistenza muscolare. Per contro, Cannon e Marino (265) non hanno osservato alcuna differenza significativa in seguito a 10 settimane di RT a basso o alto volume. Non ci sono, però, ricerche recenti che abbiano lavorato sugli gli anziani con differenti intensità di RT. Nel nostro studio, entrambi i gruppi di allenamento hanno dimostrato un miglioramento in termini di espressione di forza, senza mostrare differenze significative tra le due metodologie. I soggetti hanno presentato un miglioramento progressivo dei massimali (fig. 6.11), anche se il rapporto percentuale ($[[\text{post-pre}]/\text{pre}]*100$) sembra descrivere un tendenziale maggior incremento nel gruppo TRT (fig. 6.4).

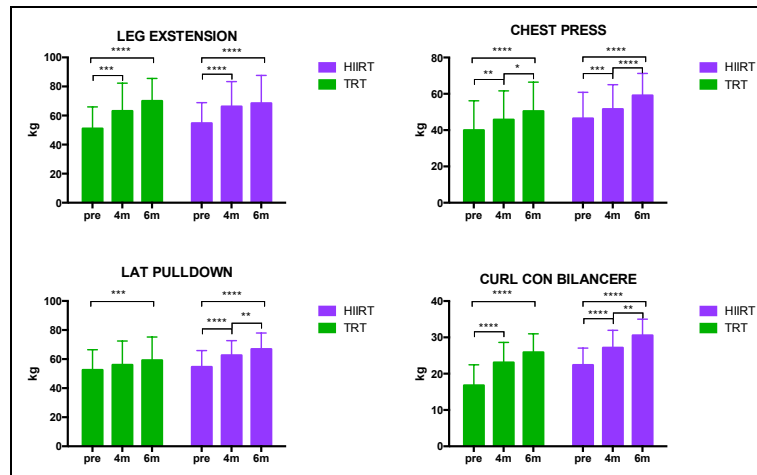


Figura 6.11. Descrizione dell'aumento della forza massima (1RM) nelle due tipologie di allenamento. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; **** = $p < 0,0001$.

Sebbene fino a qualche anno fa, la letteratura sembrava essere favorevole all'utilizzo di esercizi con carichi elevati ($RM > 80\%$) con gli anziani (241, 266), i nostri dati sembrano confermare che protocolli troppo intensi potrebbero essere meno vantaggiosi rispetto a protocolli più moderati. Il muscolo dell'anziano necessita di un maggior tempo di recupero da un esercizio ad esaurimento (267), e probabilmente questa è la principale causa del minor adattamento nel gruppo HIIRT. Questa metodica, infatti, prevede un recupero incompleto e non sufficiente a ripristinare l'intera scorta di fosfati energetici muscolari. È stato dimostrato attraverso spettroscopia MRS che l'attività delle miochinasi (adenosine diphosphate[ADP] + ADP $\leftrightarrow$ ATP + adenosine monophosphate [AMP]) è correlata alla forza massima e diminuisce con l'invecchiamento (268), supportando l'ipotesi che la disponibilità di fosfati energetici possa influenzare la qualità della risposta muscolare.

Forse, mescolando le due metodiche, e proponendo un allenamento con variazioni di intensità ma adeguati tempi di recupero, si sarebbero potuti ottenere risultati più sostanziosi, come proposto da Hunter nel 2001 (241).

Nonostante tutti i soggetti abbiano incrementato la loro forza, non si è osservato un concomitante aumento della massa muscolare. La letteratura ha ampiamente dimostrato la capacità del muscolo di aumentare la massa magra (147) agendo sia sull'aumento della CSA delle singole fibre (148, 269) che sulla stimolazione delle cellule satelliti (147). Una possibile causa per questo mancato risultato nel nostro studio, potrebbe essere ricercata in una minor costanza generale dei soggetti nelle ultime due settimane di allenamento, che potrebbe aver falsato i dati sulla composizione corporea. Questa osservazione porterebbe a supporre che, nonostante il RT sia un ottimo stimolo anabolizzante anche nella terza età, la mancata regolarità nella sua applicazione potrebbe essere sufficiente a rendere i

risultati reversibili. I dati ricavati, ad ogni modo, suggeriscono che allenamenti ad alta intensità, come l'HIIRT, siano più efficaci rispetto ad allenamenti a bassa intensità, nel ridurre la progressiva perdita di massa muscolare. Tuttavia gli stimoli somministrati non sono stati sufficienti nel contrastare pienamente questo degrado.

Questa mancata ipertrofia indotta dall'esercizio è accompagnata da una riduzione generale della concentrazione ematica degli ormoni anabolizzanti: GH, IGF-1 e l'insulina risultano, infatti, ridotti in entrambi in gruppi, anche se con andamenti diversi.. Tralasciando il calo insulinico, che secondo alcuni autori è correlato alla perdita di massa muscolare età dipendente (270), ma che secondo altri non ha un effetto rilevante nell'indurre la sintesi proteica (271, 272), l'abbassamento della concentrazione di GH e IGF-1 può essere stato un fattore decisivo nella risposta all'esercizio. I valori plasmatici di GH e IGF-1 si riducono fisiologicamente con l'età e sono spesso associati all'inattività fisica (273, 274). Il RT stimola l'espressione muscolare di IGF-1 che attiva le cellule satelliti e induce ipertrofia muscolare, tanto che alcuni autori gli attribuiscono un ruolo fondamentale nella prevenzione della sarcopenia (275). Una spiegazione quindi dei mancati miglioramenti potrebbe essere un mancato stimolo ormonale dato dall'TRT e dall'HIIRT. Bisogna sottolineare, però, che i prelievi sono stati fatti per valutare i valori basali dei parametri ematici, e non abbiamo indagato la risposta in acuto all'esercizio, ove, normalmente, GH e IGF-1 subiscono un temporaneo aumento (56, 68). In realtà alcune ricerche hanno dimostrato che un deficit nell'asse GH-IGF negli anziani non inibisce la risposta del tessuto muscolare a 10 settimane di RT progressivo (276) e d'altro canto teorie più recenti sembrano smentire l'importanza dell'assetto ormonale sulla risposta all'esercizio fisico, dimostrando che l'aumento della risposta di GH e IGF-1 non è fondamentale per indurre incrementi di forza e massa muscolare (277). Possiamo ipotizzare quindi che le nostre due tecniche di allenamento non siano state sufficienti a produrre modifiche sostanziali della concentrazione ormonale a riposo e che eventuali stimoli transienti (non misurati) non siano sufficienti a stimolare un aumento della massa muscolare. .

Se da un lato non abbiamo ottenuto i risultati sperati nel contrastare il deterioramento muscolare, d'altro canto entrambe le metodiche hanno migliorato il profilo lipemico dei soggetti. In particolare, il gruppo HIIRT ha riportato valori di colesterolo totale e LDL significativamente più bassi rispetto alle condizioni di partenza. Questo suggerisce, e conferma (158, 161), che metodiche ad alta intensità sono più efficaci nel combattere i fattori di rischio cardiovascolari e migliorare il profilo lipidico anche in soggetti anziani.

Il nostro studio non ha evidenziato differenze significative nel gender. In generale l'andamento della massa muscolare è stato simile in entrambi i gruppi di allenamento, e questo dato concorda per

certi versi con altri studi della letteratura, in cui è stato osservato un adattamento simile della massa muscolare in uomini e donne, dopo programmi prolungati di RT (147, 149).

I valori di creatinina hanno tuttavia subito un maggior incremento nelle donne rispetto agli uomini, indice probabilmente di una maggior suscettibilità di queste al danno muscolare. Alcuni studi hanno infatti confermato che i segni più chiari di danno muscolare sono più evidenti negli anziani rispetto ai giovani sottoposti a programmi di intenso RT, e che le donne anziane, in particolare, presentano valori più elevati di questi marker. La spiegazione di questo fenomeno non è ancora stata chiarita, ma gli estrogeni potrebbero aver un ruolo cruciale (278).

Se la risposta della massa muscolare è paragonabile tra i due generi, i dati relativi alla forza hanno evidenziato un maggior incremento nelle donne rispetto agli uomini. La maggior parte degli studi che hanno messo a confronto la risposta muscolare al RT, hanno riscontrato una maggior forza nei partecipanti di sesso maschile (149, 279, 280). Anche nella nostra ricerca gli uomini hanno raggiunto massimali più alti delle donne, a dimostrazione, ancora una volta, che i valori assoluti di forza sono strettamente correlati con la quantità di massa muscolare dell'individuo; ma se si considera l'incremento percentuale rispetto ai valori iniziali, le donne hanno ottenuto performance migliori. Considerando il maggior incremento di forza, a parità di variazione di massa muscolare, possiamo supporre che nelle donne siano stati attivati maggiormente meccanismi neurali di adattamento all'esercizio di RT. In generale, nelle attività quotidiane, le donne sono meno abituate a lavori che richiedono un grande impegno di forza rispetto agli uomini, e questo può aver indotto quella maggiore attivazione neuromuscolare; mentre il muscolo degli uomini, più abituato allo sforzo e al sollevamento di carichi, ha risposto in misura minore nei test massimali.

7. QUARTA FASE SPERIMENTALE.

7.1. DUE DIFFERENTI INTENSITA' DI RT A CONFRONTO: PIRAMIDALE VS HIIRT.

Per completare lo studio sulla metodica HIIRT, abbiamo deciso di confrontarla con un'altra tecnica ad alta intensità, ovvero il "piramidale". Questa metodica di RT è una delle più comuni, e spesso viene utilizzata nei protocolli di allenamento per aumentare lo stimolo ipertrofizzante. La tecnica del piramidale si fonda su un rapporto inverso tra numero di ripetizioni e carico applicato, in modo che all'aumentare dell'uno diminuisca l'altro (tab. 7.1). Ne esistono diverse variabili a seconda che il numero di ripetizioni per serie aumenti (piramide a base stretta o crescente) o diminuiscano (piramide a base allargata o decrescente). Nel caso della piramide decrescente, quella utilizzata in questo esperimento, al diminuire delle ripetizioni aumenta il carico sollevato: l'entità crescente del carico induce una maggiore risposta infiammatoria ed immunologica, le citochine prodotte (IL-6, TNF- α , TGF- β) indurranno a loro volta la proliferazione e la differenziazione delle cellule satelliti (99, 135).

Serie	Ripetizioni	Carico	Recupero
1	12	65 % 1RM	2'
2	10	70 % 1RM	2'
3	8	75 % 1RM	2'
4	6	80% 1RM	2'

Tabella 7.1. Esempio di piramidale.

Per valutare l'effetto dell'allenamento sul danno muscolare si possono scegliere varie tecniche. Quelle più comuni sono l'analisi dei "Delayed onset muscle soreness" (DOMS), ovvero la sensazione di dolore che si percepisce in risposta ad uno sforzo muscolare intenso. Normalmente la sensazione di indolenzimento muscolare viene percepita tra le 8-24 ore dall'esercizio, con un picco di intensità raggiungibile tra le 24-72 ore successive, e tendono ad attenuarsi fino a scomparire entro 3-4 giorni (281-285). Un altro indice di danno muscolare è la creatine kinase (CK), l'aumentare del

livello ematico di questo enzima è un marker indiretto dei microtraumi muscolari indotti dall'esercizio, e spesso viene associato ai DOMS (283, 284). Anche il colesterolo totale, è considerato da alcuni autori (285-288) un marker infiammatorio e quindi possibile indice del danno muscolare. Alcuni studi hanno infatti evidenziato una temporanea riduzione del colesterolo in risposta ad un trauma (289), in seguito ad un intervento chirurgico (290, 291) e anche nelle ore successive ad esercizi eccentrici (285, 287). Sembrerebbe infatti che la concentrazione sierica di colesterolo totale risponda con un rapido decremento nelle prime due ore dopo l'esercizio eccentrico, per poi stabilizzarsi ad un concentrazione di circa l'85% rispetto ai valori iniziali (287). Questa marcata riduzione della concentrazione del colesterolo totale sembra sia legata alla risposta infiammatoria, in particolare, l'aumentata richiesta di proteine per la resintesi delle membrane cellulari indurrebbero la riduzione della sintesi epatica delle lipoproteine (292-294) o un aumento dell'estrazione di colesterolo dal sangue (285). È noto ormai da decenni che l'allenamento cronico di resistenza, come la corsa o il ciclismo, induce un abbassamento dei valori di colesterolo totale, Smith e colleghi nel 1994 (285), hanno rilevato un temporaneo decremento nei giorni successivi ad un allenamento di tipo eccentrico, mentre il gruppo iraniano di Shahbazpur (287) ha confermato un abbassamento della concentrazione di questa lipoproteina già nelle prime ore successive ad una seduta di Resistance training eccentrica, rilevando una certa assonanza con quanto già evidenziato in seguito al danno infiammatorio causato da un infarto del miocardio (295, 296). Lo scopo di questa ricerca è quindi quello di valutare l'effetto di due differenti metodiche di RT ad alta intensità sul danno muscolare, mediante l'analisi dei marker ematici e sulla base dei DOMS percepiti.

7.2. MATERIALI E METODI.

7.2.1 SOGGETTI.

Per questo studio sono stati reclutati 6 soggetti ($28 \pm 5,9$ anni; $76 \pm 10,8$ kg; $176,7 \pm 8,8$ cm) con esperienza nel mondo del body building.

7.2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE.

La procedura sperimentale (fig. 7.1) prevedeva l'analisi degli indici di danno muscolare quali Creatin Kinase (CK), Colesterolo totale (CHOL TOT) e Acido Lattico (LAT) in seguito ad una singola seduta dei due protocolli allenanti eseguita dagli stessi soggetti. Allo scopo di descrivere lo

stato di dolore percepito (DOMS - Delayed Onset Muscle Soreness) è stato chiesto ai soggetti di valutare con una scala VAS l'indolenzimento muscolare.

Durate il primo incontro sono stati raccolti i valori basali ed è stato calcolato, mediante test massimale, l'1RM di ciascun soggetto. A distanza di una settimana i soggetti sono ritornati in laboratorio ed hanno effettuato su leg extension la metodica piramidale (PYR). Immediatamente dopo la seduta, dopo 2h e dopo 48h sono stati rilevati i parametri ematochimici, i valori di lattato e la sensazione di indolenzimento. Si è seguita la medesima procedura per il protocollo HIIRT, la settimana successiva.

day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
							PYR							HIIRT		
test	1RM						DOMS, CK, CHOL, LAT							DOMS, CK, CHOL, LAT		

Pre	Training	0h	2h	48h
DOMS	PYR O HIIRT	DOMS	DOMS	DOMS
CK		CK	CK	CK
CHOL TOT		CHOL TOT	CHOL TOT	CHOL TOT
LAT		LAT	LAT	///

Figura 7.1. Protocollo sperimentale

7.2.3 MISURE EMATICHE E DI DANNO MUSCOLARE.

Il campione ematologico necessario per l'analisi di CK, CHOL TOT e LAT è stato ricavato mediante una puntura sul dito indice, dopo aver sgrassato e accuratamente deterso la pelle del soggetto. Attraverso l'utilizzo di apposite strisce, munite di una zona di dosaggio e di una zona di misura con chip magnetico, il sangue è stato raccolto per capillarità e quindi immediatamente analizzato. Per l'analisi di CK e il CHOL TOT sono stati utilizzati i reagenti Reflotron System® (Roche Diagnostics S.p.a, Monza).

La striscia reattiva Reflotron® CK contiene: Creatinfosfato: 116 µg; glicerochinasi ≥ 1,0 U; glicerina 4,4 µg; glicerinfosfatossidasi ≥ 0,09 U; POD ≥ 1,7 U; ascorbatossidasi ≥ 0,41 U; ADP: 4µg; diadenosinpentafofato: 1 µg; indicatore 9,4 µg; N-acetilcisteina: 11,3 µg; EGTA 16 µg; tampone. La calibrazione del test Reflotron® CK per il calcolo dei valori di riflessione nelle attività viene effettuata per ogni lotto di strisce utilizzando il metodo di riferimento CK NAC att. di Roche Diagnostics a 37 °C sugli stessi campioni clinici dei valori ottenuti.

La striscia reattiva Reflotron® CHOL contiene: colesteroloesterasi $\geq 0,295$ U; colesteroloossidasi $\geq 0,159$ U; POD $\geq 0,59$ U; indicatore: 18,9 µg; tampone.

Il lattato ematico è stato invece analizzato con il Lactate Scout Test strips (EKF-diagnostic GmbH, Magdeburg, Germany); la concentrazione del metabolita veniva calcolata attraverso una reazione redox via mediazione di elettroliti con il sistema della lattato ossidasi.

La descrizione del DOMS prevedeva una scala numerica da 0 a 4, ove 0 corrispondeva all'assenza completa di dolore e 4 un dolore intenso e disabilitante (tab. 7.2) (297).

Valore	Descrizione
0	Assenza completa di dolore o fastidio
1	Lieve dolore o fastidio percepito solo attraverso palpazione
2	Moderato dolore o fastidio, percepito in particolare durante il movimento, ma che non limita il range di movimento
3	Dolore o fastidio severo, della durezza e/o della stanchezza alla palpazione e durante il movimento con delle limitazioni del range di movimento
4	Dolore o fastidio intenso che limita il range di movimento, non è alleviato dall'allungamento ed è disabilitante

Tabella 7.2. Scala VAS per la descrizione dei DOMS.

7.3. ANALISI STATISTICA.

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism versione 6.0 (GraphPad Software, San Diego, California). L'analisi della varianza ad una via (one way ANOVA) è stata effettuata per studiare il singolo allenamento nei 4 time-point. Il two way ANOVA per misure ripetute è stato, invece, condotto per confrontare le due tipologie di allenamento ad ogni time-point. Ogni volta che si sono rilevate differenze significative nei valori, è stato utilizzato il test di Bonferroni post-hoc. Il p-value è stato fissato a 0,05.

7.4. RISULTATI.

Le due tipologie di allenamento somministrate non sembrano influenzare in modo significativo i valori di CK (fig. 7.2), che rimangono pressoché costanti in tutti i time point presi ad esame ($p > 0.05$).

Per quanto concerne i valori di colesterolo totale (fig. 7.2), a differenza dello studio sulla concentrazione eccentrica (287), il decremento è apprezzabile tra le 2 e le 24 ore dall'allenamento ($p<0.05$) in entrambi i gruppi di allenamento. Tuttavia, con la metodica HIIRT (2h=106,33±2,80 mg/dL; 48h=111,50±4,14 mg/dL) i valori di colesterolo totale diminuiscono in modo più significativo rispetto alla metodica PYR (2h=127,50±2,66 mg/dL; 48h=122,50±2,07 mg/dL).

Analizzando la risposta del lattato (fig. 7.2), si registra un aumento significativo ($p<0,05$) della concentrazione ematica dell'acido al termine di entrambi gli esercizi, con una maggiore concentrazione nella metodica PYR (16,25±6,47 mmol/L) rispetto a quella HIIRT (9,72±3,69 mmol/L). Nelle due ore successive, i valori di lattato ematico ritornano invece ai valori basali, in egual misura per entrambe le tipologie di allenamento.

La percezione della dolenzia muscolare assume, infine, due andamenti differenti (fig. 7.2): con l'allenamento PYR si evidenziano valori di DOMS elevati negli attimi immediatamente successivi all'esercizio (2,83±1,33), con una tendenza a diminuire nelle ore successive (1,33±1,51) e a distanza di 48 ore (0,83±2,04); la risposta all'HIIRT descrive invece un andamento opposto, un indolenzimento lieve nelle ore successive all'esercizio (0,83±0,41) ed un lieve aumento a distanza di 48h (1,33±1,21).

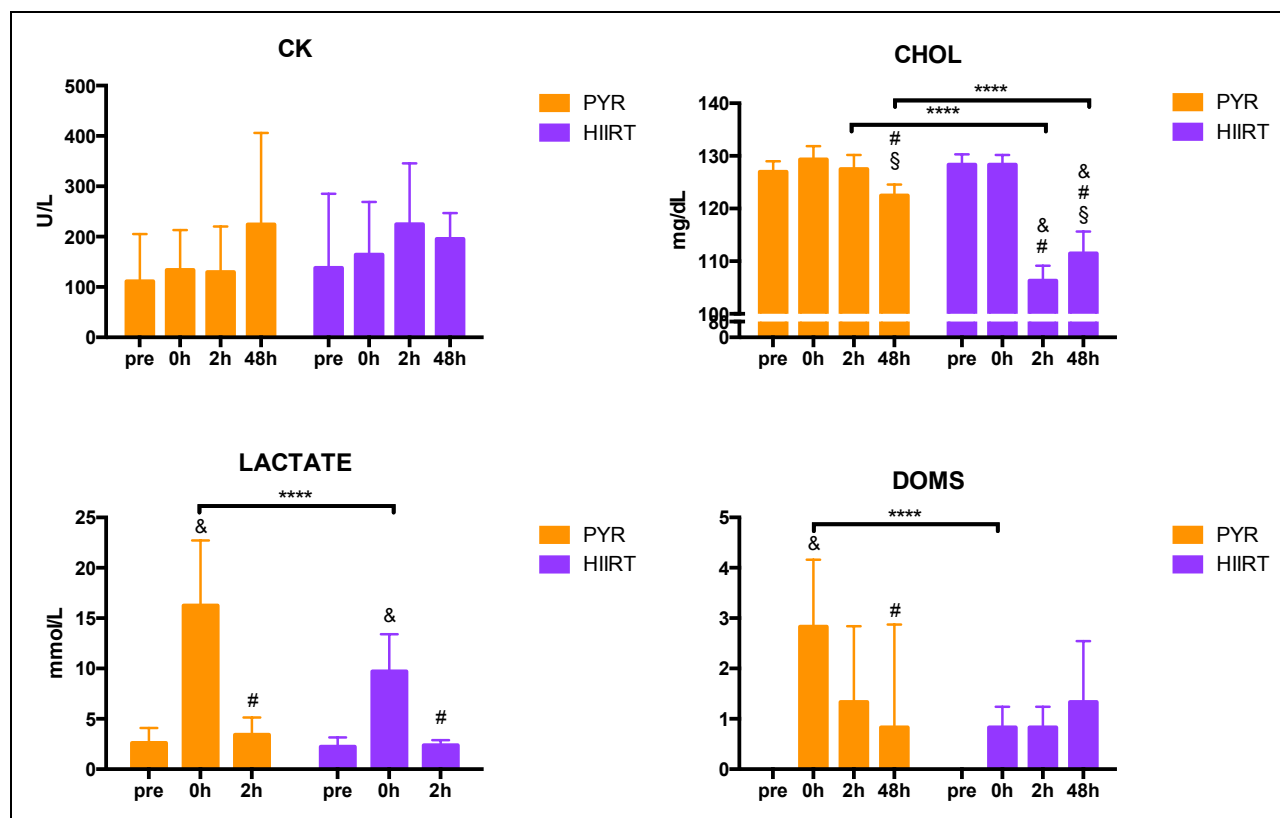


Figura 7.2. Risultati dei prelievi ematici e DOMS. & = significatività rispetto a pre; # = significatività rispetto a 0h; \$ = significatività rispetto a 2h; * = significatività PYR vs HIIRT. $p<0.05$.

7.5. DISCUSSIONE.

Lo scopo di questa ricerca era studiare gli effetti di due differenti metodiche di RT, definite ad “alta intensità”, sul danno muscolare e sulla risposta muscolare alla fatica. Per questo sono stati presi in considerazione i parametri che normalmente vengono utilizzati a tale scopo, ovvero i valori ematici di CK, colesterolo totale e lattato, ed un indice di percezione del dolore (DOMS).

I risultati ricavati dall’analisi del CK ematico non evidenziano differenze significative tra i due gruppi di allenamento; tuttavia sembrano differire nell’andamento della curva, con il gruppo PYR che segue il normale andamento di una contrazione eccentrica, ovvero con un incremento che inizia solo alle 48 ore dall’allenamento (100, 298, 299), mentre il gruppo HIIRT sembra raggiungere il suo picco nelle 2 ore post-esercizio, per poi decrescere a 48 ore.

I valori registrati sembrano, inoltre, essere inferiori rispetto a quanto viene descritto in letteratura; nel presente studio abbiamo rilevato picchi di attività a $210,08 \pm 128,07$ U/L rispetto ai valori compresi tra 2,000-10,000 IU ricavati da altri autori che hanno studiato la contrazione eccentrica (100, 285). Queste differenze possono essere spiegate con la grande variabilità interindividuale della risposta all’allenamento (299), e confermano come la concentrazione ematica di CK sia un marker qualitativo indiretto del danno muscolare, e che può essere influenzato di differenti fattori (genere, grado di allenamento, sistema linfatico, ecc).

Un risultato interessante di questo studio è il forte decremento che si registra per i valori del colesterolo totale e la differenza che si registra tra i due gruppi. Il calo di colesterolo in seguito all’esercizio fisico è già stato riscontrato in letteratura, e la spiegazione va ritrovata nel ruolo di costituente delle membrane cellulari che esso ha (289). Il colesterolo verrebbe quindi in parte utilizzato per rimarginare il danno cellulare causato dalla contrazione del muscolo e per la sintesi di nuova membrana cellulare (289, 300). Inoltre, la riduzione di questa lipoproteina potrebbe essere correlata ai meccanismi di adattamento che coinvolgono la perdita di proteine plasmatiche e che sembrano essere in qualche modo legate ai DOMS (301). Il fatto che con l’HIIRT questo calo sia più significativo rispetto al PYR, potrebbe indurre a pensare che il danno muscolare indotto da questa metodica di allenamento si maggiore rispetto all’altra, e quindi più efficace nell’indurre uno stimolo ipertrofico.

Per quanto riguarda, invece, gli indici di fatica muscolare, sia il lattato ematico che le descrizioni dei DOMS sono più elevati dopo l’allenamento PYR rispetto all’HIIRT. Questi risultati potrebbero indicare un maggior impegno richiesto per supportare la metodica piramidale, che si traduce in una maggior sensazione di fatica al termine della seduta di allenamento; con la metodica HIIRT, invece, dove ai soggetti vengono richieste poche ripetizioni, e quindi il muscolo è mantenuto sotto carico

per un tempo più limitato, la fatica viene meglio gestita e i valori di lattato sono nettamente inferiori rispetto al PYR.

8. CONCLUSIONI.

La tesi di questo dottorato ha fatto perno sullo studio di una particolare metodica di allenamento con i pesi, definita High Intensity Interval Resistance Training (HIIRT).

Questa tecnica di RT è caratterizzata da brevi tempi di recupero, poche ripetizioni ma alti carichi di allenamento, che in totale richiedono tempi di esecuzione ridotti rispetto ai più comuni metodi di allenamento. La mancanza di tempo da dedicare all'attività fisica è uno dei maggiori limiti della pratica costante, che invece viene consigliata per mantenere uno buono stato di salute generale. Trovare un allenamento che sia efficace dal punto di vista muscoloscheletrico e cardiovascolare, e che al contempo superi l'ostacolo della ridotta disponibilità temporale dei soggetti, potrebbe diventare un arma vincente a favore del benessere della popolazione.

Abbiamo osservato come la tecnica HIIRT sia una metodica sicura dal punto di vista cardiovascolare, poiché non altera il ritmo cardiaco ed i valori pressori, ma anzi, presenta picchi pressori inferiori rispetto a metodiche più blande, e sembra agire in maniera più efficace sulla riduzione delle lipoproteine ematiche collegate ad un aumentato rischio cardiovascolare (colesterolo totale e LDL). Abbiamo inoltre potuto apprezzare che la proposta di questa metodica ad alta intensità viene ben tollerata dalla popolazione anziana, dove riesce ad indurre miglioramento della forza e contrastare la perdita di massa muscolare. Tuttavia, i risultati ottenuti ci portano a ritenere che, nonostante il maggior impegno dimostrato, la tecnica HIIRT possa essere troppo intensa o la durata dello stimolo troppo breve, per indurre un adattamento anabolico nella popolazione anziana. Nonostante altri studi (149, 241) abbiano dimostrato un effetto positivo dell'allenamento ad alta intensità negli anziani, questo particolare tipo di RT sembra non essere altrettanto efficace.

Abbiamo inoltre osservato che, in una popolazione di giovani mediamente attivi, la metodica HIIRT migliora sia la forza dinamica che la resistenza muscolare, probabilmente potenziando la capacità di gestire le scorte di fosfati muscolari e l'attivazione completa delle unità motorie. La massa muscolare risponde positivamente allo stimolo ipertrofico dato dall'HIIRT, ma non si è verificato una contestuale riduzione della massa grassa. L'intensità dell'allenamento HIIRT riduce il dispendio energetico a riposo, probabilmente come meccanismo di compensazione, e quindi, senza un opportuno controllo alimentare, non è sufficiente ad indurre una riduzione della massa grassa. Abbiamo infatti verificato che la risposta delle vie di segnale muscolare legate alla mitocondriogenesi (AMPK, ACC e PGC-1 α) non vengono adeguatamente attivate da una seduta di HIIRT, mentre vi è una significativa attivazione delle vie legate all'ipertrofia.

Dal punto di vista molecolare, due differenti intensità di RT sembrano ottenere la medesima stimolazione delle proteine ribosomiali atte ad indurre la sintesi proteica, ma sembra che questo avvenga seguendo due differenti vie di segnale, Akt ed ERK rispettivamente per HIIRT e TRT. L'allenamento HIIRT sembra, inoltre, essere più sensibile agli stimoli derivanti dalla deformazione meccanica (MGF) rispetto alle vie insulino-dipendenti (IGF-1).

Non abbiamo evidenziato particolari differenze di genere nella risposta a queste metodiche di RT, se non che le donne tendono, probabilmente per questioni legate alla minor esperienza motoria, ad incrementare la loro forza in misura maggiore rispetto agli uomini, senza presentare una differenza significativa nell'aumento della massa muscolare. Questi risultati potrebbero far supporre ad una maggior attivazione di meccanismi neuromuscolari di adattamento nelle donne, cioè di apprendimento del gesto motorio, che potrebbero essere già stati esperiti negli uomini, forse più abituati nella pratica quotidiana a lavori di forza o contro resistenza.

Se confrontata con un'altra metodica ad alta intensità (PYR), la tecnica HIIRT induce un maggior danno muscolare, con una minor percezione di dolore post esercizio, migliorando quindi la sostenibilità dell'allenamento e, probabilmente, anche la compliance al protocollo.

In conclusione, differenti intensità di RT inducono adattamenti di forza differenti, e stimolano l'ipertrofia muscolare mediante vie di segnale cellulari alternative. Allenamenti ad alta intensità, come l'HIIRT, sono sicuri e possono essere proposti anche alla popolazione anziana come strumento di miglioramento dei fattori di rischio cardiovascolari, ma potrebbero essere troppo intensi per stimolare un'adeguata risposta ipertrofica.

9. BIBLIOGRAFIA.

1. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2011;43(7):1334-59.
2. Hurley BF, Roth SM. Strength training in the elderly: effects on risk factors for age-related diseases. *Sports medicine*. 2000;30(4):249-68.
3. Albright A, Franz M, Hornsby G, Kriska A, Marrero D, Ullrich I, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and type 2 diabetes. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32(7):1345-60.
4. Jozsi AC, Campbell WW, Joseph L, Davey SL, Evans WJ. Changes in power with resistance training in older and younger men and women. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 1999;54(11):M591-6.
5. Ronnestad BR, Hansen EA, Raastad T. Effect of heavy strength training on thigh muscle cross-sectional area, performance determinants, and performance in well-trained cyclists. *European journal of applied physiology*. 2010;108(5):965-75.
6. Krieger JW. Single versus multiple sets of resistance exercise: a meta-regression. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2009;23(6):1890-901.
7. Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2011;301(5):E1033-9.
8. Ghahramanloo E, Midgley AW, Bentley DJ. The effect of concurrent training on blood lipid profile and anthropometrical characteristics of previously untrained men. *Journal of physical activity & health*. 2009;6(6):760-6.
9. Paoli A. Resistance training: the multifaceted side of exercise. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2012;302(3):E387.
10. Sigal RJ, Kenny GP, Boule NG, Wells GA, Prud'homme D, Fortier M, et al. Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 2007;147(6):357-69.
11. Kraemer WJ, Ratamess N, Fry AC, Triplett-Mcbride T, Koziris LP, Bauer JA, et al. Influence of resistance training volume and periodization on physiological and performance adaptations in collegiate women tennis players. *The American Journal of Sports Medicine*. 2000;28(5):626-33.
12. Cholewa J, Guimaraes-Ferreira L, da Silva Teixeira T, Naimo MA, Zhi X, de Sa RB, et al. Basic models modeling resistance training: an update for basic scientists interested in study skeletal muscle hypertrophy. *Journal of cellular physiology*. 2014;229(9):1148-56.
13. Atherton PJ, Babraj J, Smith K, Singh J, Rennie MJ, Wackerhage H. Selective activation of AMPK-PGC-1alpha or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2005;19(7):786-8.

14. Hornberger TA, Armstrong DD, Koh TJ, Burkholder TJ, Esser KA. Intracellular signaling specificity in response to uniaxial vs. multiaxial stretch: implications for mechanotransduction. *American journal of physiology Cell physiology*. 2005;288(1):C185-94.
15. Nader GA, Esser KA. Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2001;90(5):1936-42.
16. Eliasson J, Elfegoun T, Nilsson J, Kohnke R, Eklom B, Blomstrand E. Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2006;291(6):E1197-205.
17. Coffey VG, Zhong Z, Shield A, Canny BJ, Chibalin AV, Zierath JR, et al. Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2006;20(1):190-2.
18. Mitchell CJ, Churchward-Venne TA, Cameron-Smith D, Phillips SM. What is the relationship between the acute muscle protein synthetic response and changes in muscle mass? *J Appl Physiol* (1985). 2014;jap 00609 2014.
19. Murton AJ, Billeter R, Stephens FB, Des Etages SG, Graber F, Hill RJ, et al. Transient transcriptional events in human skeletal muscle at the outset of concentric resistance exercise training. *J Appl Physiol* (1985). 2014;116(1):113-25.
20. Wilkinson DJ, Franchi MV, Brook MS, Narici MV, Williams JP, Mitchell WK, et al. A validation of the application of D(2)O stable isotope tracer techniques for monitoring day-to-day changes in muscle protein subfraction synthesis in humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2014;306(5):E571-9.
21. Spiering BA, Kraemer WJ, Anderson JM, Armstrong LE, Nindl BC, Volek JS, et al. Resistance exercise biology: manipulation of resistance exercise programme variables determines the responses of cellular and molecular signalling pathways. *Sports medicine*. 2008;38(7):527-40.
22. Henneman E, Somjen G, Carpenter DO. Functional Significance of Cell Size in Spinal Motoneurons. *Journal of neurophysiology*. 1965;28:560-80.
23. McCall GE, Byrnes WC, Dickinson A, Pattany PM, Fleck SJ. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *J Appl Physiol* (1985). 1996;81(5):2004-12.
24. Hornberger TA, Stuppard R, Conley KE, Fedele MJ, Fiorotto ML, Chin ER, et al. Mechanical stimuli regulate rapamycin-sensitive signalling by a phosphoinositide 3-kinase-, protein kinase B- and growth factor-independent mechanism. *The Biochemical journal*. 2004;380(Pt 3):795-804.
25. Baar K, Esser K. Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *The American journal of physiology*. 1999;276(1 Pt 1):C120-7.
26. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, Kline WO, Stover GL, Bauerlein R, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature cell biology*. 2001;3(11):1014-9.
27. Reynolds THt, Bodine SC, Lawrence JC, Jr. Control of Ser2448 phosphorylation in the mammalian target of rapamycin by insulin and skeletal muscle load. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(20):17657-62.
28. Kimball SR, Farrell PA, Jefferson LS. Invited Review: Role of insulin in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by amino acids or exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2002;93(3):1168-80.

29. Spiering BA, Kraemer WJ, Anderson JM, Armstrong LE, Nindl BC, Volek JS, et al. Effects of elevated circulating hormones on resistance exercise-induced Akt signaling. *Medicine and science in sports and exercise*. 2008;40(6):1039-48.
30. Hornberger TA, Chu WK, Mak YW, Hsiung JW, Huang SA, Chien S. The role of phospholipase D and phosphatidic acid in the mechanical activation of mTOR signaling in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(12):4741-6.
31. Park JB, Kim JH, Kim Y, Ha SH, Yoo JS, Du G, et al. Cardiac phospholipase D2 localizes to sarcolemmal membranes and is inhibited by alpha-actinin in an ADP-ribosylation factor-reversible manner. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(28):21295-301.
32. Lehman N, Ledford B, Di Fulvio M, Frondorf K, McPhail LC, Gomez-Cambronero J. Phospholipase D2-derived phosphatidic acid binds to and activates ribosomal p70 S6 kinase independently of mTOR. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2007;21(4):1075-87.
33. Sandri M, Barberi L, Bijlsma AY, Blaauw B, Dyar KA, Milan G, et al. Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle: the role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway. *Biogerontology*. 2013;14(3):303-23.
34. Hardie DG, Carling D, Carlson M. The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell? *Annual review of biochemistry*. 1998;67:821-55.
35. Hardie DG, Hawley SA. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*. 2001;23(12):1112-9.
36. Jakobsen SN, Hardie DG, Morrice N, Tornqvist HE. 5'-AMP-activated protein kinase phosphorylates IRS-1 on Ser-789 in mouse C2C12 myotubes in response to 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(50):46912-6.
37. Sakamoto K, Goodyear LJ. Invited review: intracellular signaling in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2002;93(1):369-83.
38. Derave W, Ai H, Ihlemann J, Witters LA, Kristiansen S, Richter EA, et al. Dissociation of AMP-activated protein kinase activation and glucose transport in contracting slow-twitch muscle. *Diabetes*. 2000;49(8):1281-7.
39. Hutber CA, Hardie DG, Winder WW. Electrical stimulation inactivates muscle acetyl-CoA carboxylase and increases AMP-activated protein kinase. *The American journal of physiology*. 1997;272(2 Pt 1):E262-6.
40. Chen ZP, Stephens TJ, Murthy S, Canny BJ, Hargreaves M, Witters LA, et al. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans. *Diabetes*. 2003;52(9):2205-12.
41. Fujii N, Hayashi T, Hirshman MF, Smith JT, Habinowski SA, Kaijser L, et al. Exercise induces isoform-specific increase in 5'AMP-activated protein kinase activity in human skeletal muscle. *Biochemical and biophysical research communications*. 2000;273(3):1150-5.
42. Winder WW, Hardie DG. Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMP-activated protein kinase in muscle during exercise. *The American journal of physiology*. 1996;270(2 Pt 1):E299-304.
43. Wojtaszewski JF, Nielsen P, Hansen BF, Richter EA, Kiens B. Isoform-specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2000;528 Pt 1:221-6.
44. Winder WW, Taylor EB, Thomson DM. Role of AMP-activated protein kinase in the molecular adaptation to endurance exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006;38(11):1945-9.

45. Bolster DR, Crozier SJ, Kimball SR, Jefferson LS. AMP-activated protein kinase suppresses protein synthesis in rat skeletal muscle through down-regulated mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(27):23977-80.
46. Kimball SR. Interaction between the AMP-activated protein kinase and mTOR signaling pathways. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006;38(11):1958-64.
47. Nakashima K, Yakabe Y. AMPK activation stimulates myofibrillar protein degradation and expression of atrophy-related ubiquitin ligases by increasing FOXO transcription factors in C2C12 myotubes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2007;71(7):1650-6.
48. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Tesch PA. Exercise-induced AMPK activation does not interfere with muscle hypertrophy in response to resistance training in men. *J Appl Physiol* (1985). 2014;116(6):611-20.
49. Rose AJ, Broholm C, Kiillerich K, Finn SG, Proud CG, Rider MH, et al. Exercise rapidly increases eukaryotic elongation factor 2 phosphorylation in skeletal muscle of men. *The Journal of physiology*. 2005;569(Pt 1):223-8.
50. Dreyer HC, Fujita S, Cadenas JG, Chinkes DL, Volpi E, Rasmussen BB. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2006;576(Pt 2):613-24.
51. Camera DM, Edge J, Short MJ, Hawley JA, Coffey VG. Early time course of Akt phosphorylation after endurance and resistance exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010;42(10):1843-52.
52. Wilkinson SB, Phillips SM, Atherton PJ, Patel R, Yarasheski KE, Tarnopolsky MA, et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *The Journal of physiology*. 2008;586(Pt 15):3701-17.
53. McConell GK, Lee-Young RS, Chen ZP, Stepto NK, Huynh NN, Stephens TJ, et al. Short-term exercise training in humans reduces AMPK signalling during prolonged exercise independent of muscle glycogen. *The Journal of physiology*. 2005;568(Pt 2):665-76.
54. Long YC, Widegren U, Zierath JR. Exercise-induced mitogen-activated protein kinase signalling in skeletal muscle. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2004;63(2):227-32.
55. Hawley JA, Zierath JR. Integration of metabolic and mitogenic signal transduction in skeletal muscle. *Exercise and sport sciences reviews*. 2004;32(1):4-8.
56. Ahtiainen JP, Pakarinen A, Alen M, Kraemer WJ, Hakkinen K. Short vs. long rest period between the sets in hypertrophic resistance training: influence on muscle strength, size, and hormonal adaptations in trained men. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2005;19(3):572-82.
57. Bottaro M, Martins B, Gentil P, Wagner D. Effects of rest duration between sets of resistance training on acute hormonal responses in trained women. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia*. 2009;12(1):73-8.
58. Kraemer WJ, Marchitelli L, Gordon SE, Harman E, Dziados JE, Mello R, et al. Hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise protocols. *J Appl Physiol* (1985). 1990;69(4):1442-50.
59. Bush JA, Kimball SR, O'Connor PM, Suryawan A, Orellana RA, Nguyen HV, et al. Translational control of protein synthesis in muscle and liver of growth hormone-treated pigs. *Endocrinology*. 2003;144(4):1273-83.
60. Herbst KL, Bhasin S. Testosterone action on skeletal muscle. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2004;7(3):271-7.

61. Hansen S, Kvorning T, Kjaer M, Sjogaard G. The effect of short-term strength training on human skeletal muscle: the importance of physiologically elevated hormone levels. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2001;11(6):347-54.
62. Gotshalk LA, Loebel CC, Nindl BC, Putukian M, Sebastianelli WJ, Newton RU, et al. Hormonal responses of multiset versus single-set heavy-resistance exercise protocols. *Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquee*. 1997;22(3):244-55.
63. Linnamo V, Pakarinen A, Komi PV, Kraemer WJ, Hakkinen K. Acute hormonal responses to submaximal and maximal heavy resistance and explosive exercises in men and women. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2005;19(3):566-71.
64. Viru A, Viru M. Resistance exercise and testosterone. *The endocrine system in sports and exercise*. 2005:319-38.
65. Deschenes MR, Kraemer WJ, Maresh CM, Crivello JF. Exercise-induced hormonal changes and their effects upon skeletal muscle tissue. *Sports medicine*. 1991;12(2):80-93.
66. Kraemer RR, Kilgore JL, Kraemer GR, Castracane VD. Growth hormone, IGF-I, and testosterone responses to resistive exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 1992;24(12):1346-52.
67. Kraemer WJ, Nindl BC, Marx JO, Gotshalk LA, Bush JA, Welsch JR, et al. Chronic resistance training in women potentiates growth hormone in vivo bioactivity: characterization of molecular mass variants. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2006;291(6):E1177-87.
68. Rahimi R, Qaderi M, Faraji H, Boroujerdi SS. Effects of very short rest periods on hormonal responses to resistance exercise in men. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2010;24(7):1851-9.
69. Fryburg DA, Barrett EJ. Growth hormone acutely stimulates skeletal muscle but not whole-body protein synthesis in humans. *Metabolism: clinical and experimental*. 1993;42(9):1223-7.
70. Gordon SE, Kraemer WJ, Vos NH, Lynch JM, Knuttgen HG. Effect of acid-base balance on the growth hormone response to acute high-intensity cycle exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1994;76(2):821-9.
71. Gosselink KL, Grindeland RE, Roy RR, Zhong H, Bigbee AJ, Grossman EJ, et al. Skeletal muscle afferent regulation of bioassayable growth hormone in the rat pituitary. *J Appl Physiol* (1985). 1998;84(4):1425-30.
72. Kraemer WJ, Gordon SE, Fleck SJ, Marchitelli LJ, Mello R, Dziados JE, et al. Endogenous anabolic hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise in males and females. *International journal of sports medicine*. 1991;12(2):228-35.
73. Vanhelder WP, Radomski MW, Goode RC. Growth hormone responses during intermittent weight lifting exercise in men. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1984;53(1):31-4.
74. Willardson JM, Burkett LN. A comparison of 3 different rest intervals on the exercise volume completed during a workout. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2005;19(1):23-6.
75. Pope ZK, Willardson JM, Schoenfeld BJ. Exercise and blood flow restriction. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2013;27(10):2914-26.
76. Bunt JC, Boileau RA, Bahr JM, Nelson RA. Sex and training differences in human growth hormone levels during prolonged exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1986;61(5):1796-801.

77. Felsing NE, Brasel JA, Cooper DM. Effect of low and high intensity exercise on circulating growth hormone in men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1992;75(1):157-62.
78. Kraemer WJ, Fleck SJ, Dziados JE, Harman EA, Marchitelli LJ, Gordon SE, et al. Changes in hormonal concentrations after different heavy-resistance exercise protocols in women. *J Appl Physiol* (1985). 1993;75(2):594-604.
79. Pyka G, Wiswell RA, Marcus R. Age-dependent effect of resistance exercise on growth hormone secretion in people. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1992;75(2):404-7.
80. Sinha-Hikim I, Roth SM, Lee MI, Bhasin S. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2003;285(1):E197-205.
81. Raastad T, Bjoro T, Hallen J. Hormonal responses to high- and moderate-intensity strength exercise. *European journal of applied physiology*. 2000;82(1-2):121-8.
82. Terjung R. Endocrine response to exercise. *Exercise and sport sciences reviews*. 1979;7:153-80.
83. Guezennec Y, Leger L, Lhoste F, Aymonod M, Pesquies PC. Hormone and metabolite response to weight-lifting training sessions. *International journal of sports medicine*. 1986;7(2):100-5.
84. Lu SS, Lau CP, Tung YF, Huang SW, Chen YH, Shih HC, et al. Lactate and the effects of exercise on testosterone secretion: evidence for the involvement of a cAMP-mediated mechanism. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997;29(8):1048-54.
85. Pause A, Belsham GJ, Gingras AC, Donze O, Lin TA, Lawrence JC, Jr., et al. Insulin-dependent stimulation of protein synthesis by phosphorylation of a regulator of 5'-cap function. *Nature*. 1994;371(6500):762-7.
86. Lizcano JM, Alessi DR. The insulin signalling pathway. *Current biology : CB*. 2002;12(7):R236-8.
87. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806.
88. Schmoll D, Walker KS, Alessi DR, Grempler R, Burchell A, Guo S, et al. Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression by protein kinase Balpha and the forkhead transcription factor FKHR. Evidence for insulin response unit-dependent and -independent effects of insulin on promoter activity. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(46):36324-33.
89. Richter EA, Mikines KJ, Galbo H, Kiens B. Effect of exercise on insulin action in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 1989;66(2):876-85.
90. Mathur N, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators of inflammation*. 2008;2008:109502.
91. Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta physiologica*. 2008;192(1):127-35.
92. Cauza E, Hanusch-Enserer U, Strasser B, Ludvik B, Metz-Schimmerl S, Pacini G, et al. The relative benefits of endurance and strength training on the metabolic factors and muscle function of people with type 2 diabetes mellitus. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2005;86(8):1527-33.
93. Cauza E, Hanusch-Enserer U, Strasser B, Kostner K, Dunky A, Haber P. Strength and endurance training lead to different post exercise glucose profiles in diabetic participants using a continuous subcutaneous glucose monitoring system. *European journal of clinical investigation*. 2005;35(12):745-51.

94. Cuff DJ, Meneilly GS, Martin A, Ignaszewski A, Tildesley HD, Frohlich JJ. Effective exercise modality to reduce insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2003;26(11):2977-82.
95. Dunstan DW, Daly RM, Owen N, Jolley D, De Courten M, Shaw J, et al. High-intensity resistance training improves glycemic control in older patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2002;25(10):1729-36.
96. Hansen D, Dendale P, Jonkers RA, Beelen M, Manders RJ, Corluy L, et al. Continuous low- to moderate-intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia*. 2009;52(9):1789-97.
97. Wilkinson SB, Tarnopolsky MA, Grant EJ, Correia CE, Phillips SM. Hypertrophy with unilateral resistance exercise occurs without increases in endogenous anabolic hormone concentration. *European journal of applied physiology*. 2006;98(6):546-55.
98. Proske U, Allen TJ. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exercise and sport sciences reviews*. 2005;33(2):98-104.
99. Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise immunology review*. 2005;11:64-85.
100. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists*. 2002;81(11 Suppl):S52-69.
101. Del Aguila LF, Krishnan RK, Ulbrecht JS, Farrell PA, Correll PH, Lang CH, et al. Muscle damage impairs insulin stimulation of IRS-1, PI 3-kinase, and Akt-kinase in human skeletal muscle. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2000;279(1):E206-12.
102. Aoi W, Naito Y, Yoshikawa T. Role of oxidative stress in impaired insulin signaling associated with exercise-induced muscle damage. *Free radical biology & medicine*. 2013;65:1265-72.
103. Kirwan JP, del Aguila LF. Insulin signalling, exercise and cellular integrity. *Biochemical Society transactions*. 2003;31(Pt 6):1281-5.
104. Adams GR, Caiozzo VJ, Haddad F, Baldwin KM. Cellular and molecular responses to increased skeletal muscle loading after irradiation. *American journal of physiology Cell physiology*. 2002;283(4):C1182-95.
105. Campos GE, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF, et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *European journal of applied physiology*. 2002;88(1-2):50-60.
106. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine and science in sports and exercise*. 2002;34(2):364-80.
107. Rippetoe M, Kilgore L. *Starting Strength*. Wichita Falls, Tx. 2005.
108. Wong TS, Booth FW. Protein metabolism in rat tibialis anterior muscle after stimulated chronic eccentric exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1990;69(5):1718-24.
109. Wong TS, Booth FW. Protein metabolism in rat gastrocnemius muscle after stimulated chronic concentric exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1990;69(5):1709-17.
110. Wong TS, Booth FW. Skeletal muscle enlargement with weight-lifting exercise by rats. *J Appl Physiol* (1985). 1988;65(2):950-4.
111. Kraemer WJ, Noble BJ, Clark MJ, Culver BW. Physiologic responses to heavy-resistance exercise with very short rest periods. *International journal of sports medicine*. 1987;8(4):247-52.

112. Robinson JM, Stone MH, Johnson RL, Penland CM, Warren BJ, Lewis RD. Effects of different weight training exercise/rest intervals on strength, power, and high intensity exercise endurance. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 1995;9(4):216-21.
113. Deschenes MR, Kraemer WJ. Performance and physiologic adaptations to resistance training. *American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists*. 2002;81(11 Suppl):S3-16.
114. Hakkinen K, Pakarinen A, Alen M, Kauhanen H, Komi PV. Relationships between training volume, physical performance capacity, and serum hormone concentrations during prolonged training in elite weight lifters. *International journal of sports medicine*. 1987;8 Suppl 1:61-5.
115. Willoughby D, Chilek D, Schiller D, Coast J. The metabolic effects of 3 different free weight parallel squatting intensities. *Journal of Human Movement Studies*. 1991;21(2):53-67.
116. Borst SE, De Hoyos DV, Garzarella L, Vincent K, Pollock BH, Lowenthal DT, et al. Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins. *Medicine and science in sports and exercise*. 2001;33(4):648-53.
117. Sanborn K, BOROS R, HRUBY J, SCHILLING B, O'BRYANT HS, JOHNSON RL, et al. Short-term performance effects of weight training with multiple sets not to failure vs. a single set to failure in women. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2000;14(3):328-31.
118. Carpinelli RN, Otto RM. Strength training. Single versus multiple sets. *Sports medicine*. 1998;26(2):73-84.
119. Schoenfeld BJ, Wilson JM, Lowery RP, Krieger JW. Muscular adaptations in low- versus high-load resistance training: A meta-analysis. *European journal of sport science*. 2014;1-10.
120. Galvao DA, Taaffe DR. Resistance exercise dosage in older adults: single- versus multiset effects on physical performance and body composition. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2005;53(12):2090-7.
121. McBride JM, Blaak JB, Triplett-McBride T. Effect of resistance exercise volume and complexity on EMG, strength, and regional body composition. *European journal of applied physiology*. 2003;90(5-6):626-32.
122. Munn J, Herbert RD, Hancock MJ, Gandevia SC. Resistance training for strength: effect of number of sets and contraction speed. *Medicine and science in sports and exercise*. 2005;37(9):1622-6.
123. Steinberg GR, Watt MJ, McGee SL, Chan S, Hargreaves M, Febbraio MA, et al. Reduced glycogen availability is associated with increased AMPKalpha2 activity, nuclear AMPKalpha2 protein abundance, and GLUT4 mRNA expression in contracting human skeletal muscle. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2006;31(3):302-12.
124. Churchley EG, Coffey VG, Pedersen DJ, Shield A, Carey KA, Cameron-Smith D, et al. Influence of preexercise muscle glycogen content on transcriptional activity of metabolic and myogenic genes in well-trained humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2007;102(4):1604-11.
125. Creer A, Gallagher P, Slivka D, Jemiolo B, Fink W, Trappe S. Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2005;99(3):950-6.
126. Nindl BC, Kraemer WJ, Marx JO, Tuckow AP, Hymer WC. Growth hormone molecular heterogeneity and exercise. *Exercise and sport sciences reviews*. 2003;31(4):161-6.
127. Ballor DL, Becque MD, Katch VL. Metabolic responses during hydraulic resistance exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 1987;19(4):363-7.
128. Paoli A. Different metabolic response to single-joint pr multiple-joint resistance training of similar total volume. *Acta Physiol*. 2011;203:243.

129. Chilibeck PD, Calder AW, Sale DG, Webber CE. A comparison of strength and muscle mass increases during resistance training in young women. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1998;77(1-2):170-5.
130. Komi PV, Kaneko M, Aura O. EMG activity of the leg extensor muscles with special reference to mechanical efficiency in concentric and eccentric exercise. *International journal of sports medicine*. 1987;8 Suppl 1:22-9.
131. Eloranta V, Komi PV. Function of the quadriceps femoris muscle under maximal concentric and eccentric contractions. *Electromyography and clinical neurophysiology*. 1980;20(2):159-54.
132. Barnett JG, Holly RG, Ashmore CR. Stretch-induced growth in chicken wing muscles: biochemical and morphological characterization. *The American journal of physiology*. 1980;239(1):C39-46.
133. Gibala MJ, Interisano SA, Tarnopolsky MA, Roy BD, MacDonald JR, Yarasheski KE, et al. Myofibrillar disruption following acute concentric and eccentric resistance exercise in strength-trained men. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2000;78(8):656-61.
134. MacDougall J. Adaptability of muscle to strength training-a cellular approach. *Biochemistry of exercise VI*. 1986:501-13.
135. Hawke TJ. Muscle stem cells and exercise training. *Exercise and sport sciences reviews*. 2005;33(2):63-8.
136. Garma T, Kobayashi C, Haddad F, Adams GR, Bodell PW, Baldwin KM. Similar acute molecular responses to equivalent volumes of isometric, lengthening, or shortening mode resistance exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2007;102(1):135-43.
137. Spreuwenberg LP, Kraemer WJ, Spiering BA, Volek JS, Hatfield DL, Silvestre R, et al. Influence of exercise order in a resistance-training exercise session. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2006;20(1):141-4.
138. Mayhew JL, Gross PM. Body composition changes in young women with high resistance weight training. *Research quarterly*. 1974;45(4):433-40.
139. Wilmore JH. Alterations in strength, body composition and anthropometric measurements consequent to a 10-week weight training program. *Medicine and science in sports*. 1974;6(2):133-8.
140. Bulcke JA, De Meirsmen J, Termote JL. The influence of skeletal muscle atrophy on needle electromyography. As demonstrated by computed tomography. *Electromyography and clinical neurophysiology*. 1979;19(3):269-79.
141. Wells CL. Women, Sport, and Performance: A Physiological Perspective. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 1992;24(2):277-8.
142. Abe T, DeHoyos DV, Pollock ML, Garzarella L. Time course for strength and muscle thickness changes following upper and lower body resistance training in men and women. *European journal of applied physiology*. 2000;81(3):174-80.
143. Hurlbut DE, Lott ME, Ryan AS, Ferrell RE, Roth SM, Ivey FM, et al. Does age, sex, or ACE genotype affect glucose and insulin responses to strength training? *J Appl Physiol* (1985). 2002;92(2):643-50.
144. West DW, Burd NA, Churchward-Venne TA, Camera DM, Mitchell CJ, Baker SK, et al. Sex-based comparisons of myofibrillar protein synthesis after resistance exercise in the fed state. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(11):1805-13.
145. Smith GI, Mittendorfer B. Similar muscle protein synthesis rates in young men and women: men aren't from Mars and women aren't from Venus. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(11):1803-4.

146. Gallagher D, Visser M, De Meersman RE, Sepulveda D, Baumgartner RN, Pierson RN, et al. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol* (1985). 1997;83(1):229-39.
147. Leenders M, Verdijk LB, van der Hoeven L, van Kranenburg J, Nilwik R, van Loon LJ. Elderly men and women benefit equally from prolonged resistance-type exercise training. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2013;68(7):769-79.
148. Trappe S, Godard M, Gallagher P, Carroll C, Rowden G, Porter D. Resistance training improves single muscle fiber contractile function in older women. *American journal of physiology Cell physiology*. 2001;281(2):C398-406.
149. Bamman MM, Hill VJ, Adams GR, Haddad F, Wetzstein CJ, Gower BA, et al. Gender differences in resistance-training-induced myofiber hypertrophy among older adults. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2003;58(2):108-16.
150. Hakkinen K, Kraemer WJ, Pakarinen A, Triplett-McBride T, McBride JM, Hakkinen A, et al. Effects of heavy resistance/power training on maximal strength, muscle morphology, and hormonal response patterns in 60-75-year-old men and women. *Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquee*. 2002;27(3):213-31.
151. Hannah R, Minshull C, Buckthorpe MW, Folland JP. Explosive neuromuscular performance of males versus females. *Experimental physiology*. 2012;97(5):618-29.
152. Toth MJ, Poehlman ET, Matthews DE, Tchernof A, MacCoss MJ. Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2001;280(3):E496-501.
153. Piccone CM, Brazeau GA, McCormick KM. Effect of oestrogen on myofibre size and myosin expression in growing rats. *Experimental physiology*. 2005;90(1):87-93.
154. Fujita S, Rasmussen BB, Bell JA, Cadenas JG, Volpi E. Basal muscle intracellular amino acid kinetics in women and men. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2007;292(1):E77-83.
155. Smith GI, Atherton P, Villareal DT, Frimel TN, Rankin D, Rennie MJ, et al. Differences in muscle protein synthesis and anabolic signaling in the postabsorptive state and in response to food in 65-80 year old men and women. *PloS one*. 2008;3(3):e1875.
156. KEOGH JW, WILSON GJ, WEATHERBY RE. A cross-sectional comparison of different resistance training techniques in the bench press. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 1999;13(3):247-58.
157. de Salles BF, Simao R, Miranda F, Novaes Jda S, Lemos A, Willardson JM. Rest interval between sets in strength training. *Sports medicine*. 2009;39(9):765-77.
158. Paoli A, Moro T, Zonin F, Filangeri D, Bianco A, Palma A, et al. Effects of high-intensity interval resistance training (HIRT) and pyramidal training (PYT) on some muscle and blood parameters. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2011;51:15.
159. Goreham C, Green HJ, Ball-Burnett M, Ranney D. High-resistance training and muscle metabolism during prolonged exercise. *The American journal of physiology*. 1999;276(3 Pt 1):E489-96.
160. Abernethy PJ, Jurimae J, Logan PA, Taylor AW, Thayer RE. Acute and chronic response of skeletal muscle to resistance exercise. *Sports medicine*. 1994;17(1):22-38.
161. Paoli A, Pacelli QF, Moro T, Marcolin G, Neri M, Battaglia G, et al. Effects of high-intensity circuit training, low-intensity circuit training and endurance training on blood pressure and lipoproteins in middle-aged overweight men. *Lipids in health and disease*. 2013;12:131.
162. Paoli A, Pacelli F, Bargossi AM, Marcolin G, Guzzinati S, Neri M, et al. Effects of three distinct protocols of fitness training on body composition, strength and blood lactate. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2010;50(1):43-51.

163. Kraemer RR, Acevedo EO, Dziewaltowski D, Kilgore JL, Kraemer GR, Castracane VD. Effects of low-volume resistive exercise on beta-endorphin and cortisol concentrations. *International journal of sports medicine*. 1996;17(1):12-6.
164. Timmons JA. Variability in training-induced skeletal muscle adaptation. *J Appl Physiol* (1985). 2011;110(3):846-53.
165. Durand RJ, Castracane VD, Hollander DB, Tryniecki JL, Bamman MM, O'Neal S, et al. Hormonal responses from concentric and eccentric muscle contractions. *Medicine and science in sports and exercise*. 2003;35(6):937-43.
166. Gibala MJ, Little JP. Just HIT it! A time-efficient exercise strategy to improve muscle insulin sensitivity. *The Journal of physiology*. 2010;588(Pt 18):3341-2.
167. Burgomaster KA, Heigenhauser GJ, Gibala MJ. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. *J Appl Physiol* (1985). 2006;100(6):2041-7.
168. Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2005;98(6):1985-90.
169. Gibala M. Molecular responses to high-intensity interval exercise. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2009;34(3):428-32.
170. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise and sport sciences reviews*. 2008;36(2):58-63.
171. Hood MS, Little JP, Tarnopolsky MA, Myslik F, Gibala MJ. Low-volume interval training improves muscle oxidative capacity in sedentary adults. *Medicine and science in sports and exercise*. 2011;43(10):1849-56.
172. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J Appl Physiol* (1985). 2011;111(6):1554-60.
173. Richards JC, Johnson TK, Kuzma JN, Lonac MC, Schweder MM, Voyles WF, et al. Short-term sprint interval training increases insulin sensitivity in healthy adults but does not affect the thermogenic response to beta-adrenergic stimulation. *The Journal of physiology*. 2010;588(Pt 15):2961-72.
174. Paoli A, Moro T, Marcolin G, Neri M, Bianco A, Palma A, et al. High-Intensity Interval Resistance Training (HIRT) influences resting energy expenditure and respiratory ratio in non-dieting individuals. *Journal of translational medicine*. 2012;10:237.
175. Paoli A, Pacelli QF, Toniolo L, Miotti D, Reggiani C. Latissimus dorsi fine needle muscle biopsy: a novel and efficient approach to study proximal muscles of upper limbs. *The Journal of surgical research*. 2010;164(2):e257-63.
176. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*. 1951;193(1):265-75.
177. Wallace MA, Russell AP. Striated muscle activator of Rho signaling is required for myotube survival but does not influence basal protein synthesis or degradation. *American journal of physiology Cell physiology*. 2013;305(4):C414-26.
178. Umpierre D, Stein R. Hemodynamic and vascular effects of resistance training: implications for cardiovascular disease. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2007;89(4):256-62.
179. Terra DF, Mota MR, Rabelo HT, Bezerra LM, Lima RM, Ribeiro AG, et al. Reduction of arterial pressure and double product at rest after resistance exercise training in elderly hypertensive women. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2008;91(5):299-305.

180. American College of Sports M, Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Medicine and science in sports and exercise*. 2009;41(7):1510-30.
181. Hepple RT, Mackinnon SL, Goodman JM, Thomas SG, Plyley MJ. Resistance and aerobic training in older men: effects on VO₂peak and the capillary supply to skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 1997;82(4):1305-10.
182. Frontera WR, Meredith CN, O'Reilly KP, Evans WJ. Strength training and determinants of VO₂max in older men. *J Appl Physiol* (1985). 1990;68(1):329-33.
183. Melby C, Scholl C, Edwards G, Bullough R. Effect of acute resistance exercise on postexercise energy expenditure and resting metabolic rate. *J Appl Physiol* (1985). 1993;75(4):1847-53.
184. Gillette CA, Bullough RC, Melby CL. Postexercise energy expenditure in response to acute aerobic or resistive exercise. *International journal of sport nutrition*. 1994;4(4):347-60.
185. Osterberg KL, Melby CL. Effect of acute resistance exercise on postexercise oxygen consumption and resting metabolic rate in young women. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2000;10(1):71-81.
186. Elliot DL, Goldberg L, Kuehl KS. Effect of resistance training on excess post-exercise oxygen consumption. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 1992;6(2):77-81.
187. Stone MH, O'Bryant H, Garhammer J. A hypothetical model for strength training. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 1981;21(4):342-51.
188. Gaesser GA, Brooks GA. Metabolic bases of excess post-exercise oxygen consumption: a review. *Medicine and science in sports and exercise*. 1984;16(1):29-43.
189. Sherwood L. *Human physiology: from cells to systems*: Cengage Learning; 2008.
190. Schuenke MD, Mikat RP, McBride JM. Effect of an acute period of resistance exercise on excess post-exercise oxygen consumption: implications for body mass management. *European journal of applied physiology*. 2002;86(5):411-7.
191. Gettman LR, Ayres JJ, Pollock ML, Jackson A. The effect of circuit weight training on strength, cardiorespiratory function, and body composition of adult men. *Medicine and science in sports*. 1978;10(3):171-6.
192. Hickson RC, Rosenkoetter MA, Brown MM. Strength training effects on aerobic power and short-term endurance. *Medicine and science in sports and exercise*. 1980;12(5):336-9.
193. Rowell LB. *Human cardiovascular control*: Oxford University Press; 1993.
194. Hoff J, Gran A, Helgerud J. Maximal strength training improves aerobic endurance performance. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2002;12(5):288-95.
195. Brzycki M. Strength testing—predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *Journal of Physical Education, Recreation & Dance*. 1993;64(1):88-90.
196. Brzycki M. Assessing Strength You can judge 1-RM by formula without trying risky maximum lifts. *Fitness Management*. 2000:34-7.
197. Bosco C, Belli A, Astrua M, Tihanyi J, Pozzo R, Kellis S, et al. A dynamometer for evaluation of dynamic muscle work. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1995;70(5):379-86.
198. Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *The Journal of physiology*. 1949;109(1-2):1-9.
199. Alcaraz PE, Perez-Gomez J, Chavarrias M, Blazevich AJ. Similarity in adaptations to high-resistance circuit vs. traditional strength training in resistance-trained men. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2011;25(9):2519-27.

200. Kraemer WJ, Mazzetti SA, Nindl BC, Gotshalk LA, Volek JS, Bush JA, et al. Effect of resistance training on women's strength/power and occupational performances. *Medicine and science in sports and exercise*. 2001;33(6):1011-25.
201. Kraemer WJ, Ratamess NA. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Medicine and science in sports and exercise*. 2004;36(4):674-88.
202. Burd NA, Moore DR, Mitchell CJ, Phillips SM. Big claims for big weights but with little evidence. *European journal of applied physiology*. 2013;113(1):267-8.
203. Akima H, Saito A. Activation of quadriceps femoris including vastus intermedius during fatiguing dynamic knee extensions. *European journal of applied physiology*. 2013;113(11):2829-40.
204. Cook SB, Murphy BG, Labarbera KE. Neuromuscular function after a bout of low-load blood flow-restricted exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2013;45(1):67-74.
205. Byrne HK, Wilmore JH. The relationship of mode and intensity of training on resting metabolic rate in women. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2001;11(1):1-14.
206. Blundell JE, Stubbs RJ, Hughes DA, Whybrow S, King NA. Cross talk between physical activity and appetite control: does physical activity stimulate appetite? *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2003;62(3):651-61.
207. Russell AP, Wadley G, Hesselink MK, Schaart G, Lo S, Leger B, et al. UCP3 protein expression is lower in type I, IIa and IIx muscle fiber types of endurance-trained compared to untrained subjects. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2003;445(5):563-9.
208. Speakman JR, Selman C. Physical activity and resting metabolic rate. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2003;62(3):621-34.
209. Hurley BF, Seals DR, Ehsani AA, Cartier LJ, Dalsky GP, Hagberg JM, et al. Effects of high-intensity strength training on cardiovascular function. *Medicine and science in sports and exercise*. 1984;16(5):483-8.
210. Marcinik EJ, Potts J, Schlabach G, Will S, Dawson P, Hurley BF. Effects of strength training on lactate threshold and endurance performance. *Medicine and science in sports and exercise*. 1991;23(6):739-43.
211. Tanaka H, Swensen T. Impact of resistance training on endurance performance. A new form of cross-training? *Sports medicine*. 1998;25(3):191-200.
212. Fleck SJ. Periodized strength training: a critical review. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 1999;13(1):82-9.
213. Manton KG, Gu X. Changes in the prevalence of chronic disability in the United States black and nonblack population above age 65 from 1982 to 1999. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(11):6354-9.
214. Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *American journal of epidemiology*. 1998;147(8):755-63.
215. Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 yr. *J Appl Physiol (1985)*. 2000;89(1):81-8.
216. Beaudart C, Gillain S, Petermans J, Reginster JY, Bruyere O. [Sarcopenia: what's new in 2014]. *Revue medicale de Liege*. 2014;69(5-6):251-7.
217. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *Clinics in geriatric medicine*. 2011;27(3):337-9.
218. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *The Journal of nutrition*. 1997;127(5 Suppl):990S-1S.
219. Rosenberg IH, Roubenoff R. Stalking sarcopenia. *Annals of internal medicine*. 1995;123(9):727-8.

220. Roubenoff R, Hughes VA. Sarcopenia: current concepts. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2000;55(12):M716-24.
221. Chandler JM, Duncan PW, Kochersberger G, Studenski S. Is lower extremity strength gain associated with improvement in physical performance and disability in frail, community-dwelling elders? *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 1998;79(1):24-30.
222. Foldvari M, Clark M, Laviolette LC, Bernstein MA, Kaliton D, Castaneda C, et al. Association of muscle power with functional status in community-dwelling elderly women. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2000;55(4):M192-9.
223. Chakravarthy MV, Joyner MJ, Booth FW. An obligation for primary care physicians to prescribe physical activity to sedentary patients to reduce the risk of chronic health conditions. *Mayo Clinic proceedings*. 2002;77(2):165-73.
224. Nelson ME, Fiatarone MA, Morganti CM, Trice I, Greenberg RA, Evans WJ. Effects of high-intensity strength training on multiple risk factors for osteoporotic fractures. A randomized controlled trial. *Jama*. 1994;272(24):1909-14.
225. Skelton DA, Young A, Greig CA, Malbut KE. Effects of resistance training on strength, power, and selected functional abilities of women aged 75 and older. *Journal of the American Geriatrics Society*. 1995;43(10):1081-7.
226. Beniamini Y, Rubenstein JJ, Faigenbaum AD, Lichtenstein AH, Crim MC. High-intensity strength training of patients enrolled in an outpatient cardiac rehabilitation program. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation*. 1999;19(1):8-17.
227. Rubenstein LZ, Josephson KR, Trueblood PR, Loy S, Harker JO, Pietruszka FM, et al. Effects of a group exercise program on strength, mobility, and falls among fall-prone elderly men. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2000;55(6):M317-21.
228. Baker KR, Nelson ME, Felson DT, Layne JE, Sarno R, Roubenoff R. The efficacy of home based progressive strength training in older adults with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *The Journal of rheumatology*. 2001;28(7):1655-65.
229. Aniansson A, Sperling L, Rundgren A, Lehnberg E. Muscle function in 75-year-old men and women. A longitudinal study. *Scandinavian journal of rehabilitation medicine Supplement*. 1983;9:92-102.
230. Skelton DA, Greig CA, Davies JM, Young A. Strength, power and related functional ability of healthy people aged 65-89 years. *Age and ageing*. 1994;23(5):371-7.
231. Fatouros IG, Taxildaris K, Tokmakidis SP, Kalapotharakos V, Aggelousis N, Athanasopoulos S, et al. The effects of strength training, cardiovascular training and their combination on flexibility of inactive older adults. *International journal of sports medicine*. 2002;23(2):112-9.
232. Hortobagyi T, DeVita P. Favorable neuromuscular and cardiovascular responses to 7 days of exercise with an eccentric overload in elderly women. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2000;55(8):B401-10.
233. Krishnathasan D, Vandervoort AA. Eccentric strength training prescription for older adults. *Topics in Geriatric Rehabilitation*. 2000;15(3):29-40.
234. LaStayo PC, Ewy GA, Pierotti DD, Johns RK, Lindstedt S. The positive effects of negative work: increased muscle strength and decreased fall risk in a frail elderly population. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2003;58(5):M419-24.
235. Lastayo PC, Larsen S, Smith S, Dibble L, Marcus R. The feasibility and efficacy of eccentric exercise with older cancer survivors: a preliminary study. *Journal of geriatric physical therapy*. 2010;33(3):135-40.

236. Frontera WR, Meredith CN, O'Reilly KP, Knuttgen HG, Evans WJ. Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. *J Appl Physiol* (1985). 1988;64(3):1038-44.
237. Steib S, Schoene D, Pfeifer K. Dose-response relationship of resistance training in older adults: a meta-analysis. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010;42(5):902-14.
238. Raymond MJ, Bramley-Tzerefos RE, Jeffs KJ, Winter A, Holland AE. Systematic review of high-intensity progressive resistance strength training of the lower limb compared with other intensities of strength training in older adults. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2013;94(8):1458-72.
239. Beneka A, Malliou P, Fatouros I, Jamurtas A, Gioxidou A, Godolias G, et al. Resistance training effects on muscular strength of elderly are related to intensity and gender. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia*. 2005;8(3):274-83.
240. Singh NA, Stavrinou TM, Scarbek Y, Galambos G, Liber C, Fiatarone Singh MA. A randomized controlled trial of high versus low intensity weight training versus general practitioner care for clinical depression in older adults. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2005;60(6):768-76.
241. Hunter GR, Wetzstein CJ, McLafferty CL, Jr., Zuckerman PA, Landers KA, Bamman MM. High-resistance versus variable-resistance training in older adults. *Medicine and science in sports and exercise*. 2001;33(10):1759-64.
242. Kalapotharakos VI, Michalopoulou M, Godolias G, Tokmakidis SP, Malliou PV, Gourgoulis V. The effects of high- and moderate-resistance training on muscle function in the elderly. *Journal of aging and physical activity*. 2004;12(2):131-43.
243. Nichols JF, Omizo DK, Peterson KK, Nelson KP. Efficacy of heavy-resistance training for active women over sixty: muscular strength, body composition, and program adherence. *Journal of the American Geriatrics Society*. 1993;41(3):205-10.
244. Taaffe DR, Pruitt L, Pyka G, Guido D, Marcus R. Comparative effects of high- and low-intensity resistance training on thigh muscle strength, fiber area, and tissue composition in elderly women. *Clinical physiology*. 1996;16(4):381-92.
245. Evans WJ. Exercise training guidelines for the elderly. *Medicine and science in sports and exercise*. 1999;31(1):12-7.
246. Trappe S, Williamson D, Godard M. Maintenance of whole muscle strength and size following resistance training in older men. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2002;57(4):B138-43.
247. Seynnes O, Fiatarone Singh MA, Hue O, Pras P, Legros P, Bernard PL. Physiological and functional responses to low-moderate versus high-intensity progressive resistance training in frail elders. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2004;59(5):503-9.
248. Sullivan DH, Roberson PK, Johnson LE, Bishara O, Evans WJ, Smith ES, et al. Effects of muscle strength training and testosterone in frail elderly males. *Medicine and science in sports and exercise*. 2005;37(10):1664-72.
249. Sullivan DH, Roberson PK, Smith ES, Price JA, Bopp MM. Effects of muscle strength training and megestrol acetate on strength, muscle mass, and function in frail older people. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2007;55(1):20-8.
250. Stutts WC. Physical activity determinants in adults. Perceived benefits, barriers, and self efficacy. *AAOHN journal : official journal of the American Association of Occupational Health Nurses*. 2002;50(11):499-507.
251. Trost SG, Owen N, Bauman AE, Sallis JF, Brown W. Correlates of adults' participation in physical activity: review and update. *Medicine and science in sports and exercise*. 2002;34(12):1996-2001.

252. Kimm SY, Glynn NW, McMahon RP, Voorhees CC, Striegel-Moore RH, Daniels SR. Self-perceived barriers to activity participation among sedentary adolescent girls. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006;38(3):534-40.
253. Cassilhas RC, Viana VA, Grassmann V, Santos RT, Santos RF, Tufik S, et al. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Medicine and science in sports and exercise*. 2007;39(8):1401-7.
254. Pruitt LA, Taaffe DR, Marcus R. Effects of a one-year high-intensity versus low-intensity resistance training program on bone mineral density in older women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1995;10(11):1788-95.
255. Harris C, DeBeliso MA, Spitzer-Gibson TA, Adams KJ. The effect of resistance-training intensity on strength-gain response in the older adult. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2004;18(4):833-8.
256. Hortobagyi T, Tunnel D, Moody J, Beam S, DeVita P. Low- or high-intensity strength training partially restores impaired quadriceps force accuracy and steadiness in aged adults. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2001;56(1):B38-47.
257. Tsutsumi T, Don BM, Zaichkowsky LD, Delizonna LL. Physical fitness and psychological benefits of strength training in community dwelling older adults. *Applied human science : journal of physiological anthropology*. 1997;16(6):257-66.
258. Vincent KR, Braith RW, Feldman RA, Magyari PM, Cutler RB, Persin SA, et al. Resistance exercise and physical performance in adults aged 60 to 83. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2002;50(6):1100-7.
259. Bartlett JD, Close GL, MacLaren DP, Gregson W, Drust B, Morton JP. High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. *Journal of sports sciences*. 2011;29(6):547-53.
260. Kraemer WJ, Fry A, Ratamess N, French D. Strength testing: development and evaluation of methodology. *Human Kinetics, Champaign, IL*. 1995:115-38.
261. Burt J, Wilson R, Willardson JM. A comparison of once versus twice per week training on leg press strength in women. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2007;47(1):13-7.
262. Evans W. Functional and metabolic consequences of sarcopenia. *The Journal of nutrition*. 1997;127(5 Suppl):998S-1003S.
263. Forbes GB, Reina JC. Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. *Metabolism: clinical and experimental*. 1970;19(9):653-63.
264. Hakkinen K, Newton RU, Gordon SE, McCormick M, Volek JS, Nindl BC, et al. Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 1998;53(6):B415-23.
265. Cannon J, Marino FE. Early-phase neuromuscular adaptations to high- and low-volume resistance training in untrained young and older women. *Journal of sports sciences*. 2010;28(14):1505-14.
266. Hunter GR, McCarthy JP, Bamman MM. Effects of resistance training on older adults. *Sports medicine*. 2004;34(5):329-48.
267. Israel S. Age-related changes in strength and special groups. *Strength and power in sport*. 1992;3.
268. Borges O, Essen-Gustavsson B. Enzyme activities in type I and II muscle fibres of human skeletal muscle in relation to age and torque development. *Acta physiologica Scandinavica*. 1989;136(1):29-36.

269. Trappe S, Williamson D, Godard M, Porter D, Rowden G, Costill D. Effect of resistance training on single muscle fiber contractile function in older men. *J Appl Physiol* (1985). 2000;89(1):143-52.
270. Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB, Wolfe RR. The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(12):4481-90.
271. Greenhaff PL, Karagounis LG, Peirce N, Simpson EJ, Hazell M, Layfield R, et al. Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin ligases, and protein turnover in human muscle. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2008;295(3):E595-604.
272. Phillips SM. Insulin and muscle protein turnover in humans: stimulatory, permissive, inhibitory, or all of the above? *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2008;295(4):E731.
273. Rudman D, Kutner MH, Rogers CM, Lubin MF, Fleming GA, Bain RP. Impaired growth hormone secretion in the adult population: relation to age and adiposity. *The Journal of clinical investigation*. 1981;67(5):1361-9.
274. Poehlman ET, Copeland KC. Influence of physical activity on insulin-like growth factor-I in healthy younger and older men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1990;71(6):1468-73.
275. Musaro A, McCullagh K, Paul A, Houghton L, Dobrowolny G, Molinaro M, et al. Localized IGF-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nature genetics*. 2001;27(2):195-200.
276. Taaffe DR, Jin IH, Vu TH, Hoffman AR, Marcus R. Lack of effect of recombinant human growth hormone (GH) on muscle morphology and GH-insulin-like growth factor expression in resistance-trained elderly men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996;81(1):421-5.
277. West DW, Burd NA, Tang JE, Moore DR, Staples AW, Holwerda AM, et al. Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow flexors. *J Appl Physiol* (1985). 2010;108(1):60-7.
278. Bar PR, Amelink GJ. Protection against muscle damage exerted by oestrogen: hormonal or antioxidant action? *Biochemical Society transactions*. 1997;25(1):50-4.
279. Lemmer JT, Hurlbut DE, Martel GF, Tracy BL, Ivey FM, Metter EJ, et al. Age and gender responses to strength training and detraining. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32(8):1505-12.
280. Tracy BL, Ivey FM, Hurlbut D, Martel GF, Lemmer JT, Siegel EL, et al. Muscle quality. II. Effects Of strength training in 65- to 75-yr-old men and women. *J Appl Physiol* (1985). 1999;86(1):195-201.
281. Newham DJ, Mills KR, Quigley BM, Edwards RH. Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions. *Clinical science*. 1983;64(1):55-62.
282. Armstrong RB. Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Medicine and science in sports and exercise*. 1984;16(6):529-38.
283. Armstrong RB. Muscle damage and endurance events. *Sports medicine*. 1986;3(5):370-81.
284. Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports medicine*. 1989;7(4):207-34.

285. Smith LL, Fulmer MG, Holbert D, McCammon MR, Houmard JA, Frazer DD, et al. The impact of a repeated bout of eccentric exercise on muscular strength, muscle soreness and creatine kinase. *British journal of sports medicine*. 1994;28(4):267-71.
286. Karstoft K, Solomon TP, Laye MJ, Pedersen BK. Daily marathon running for a week--the biochemical and body compositional effects of participation. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*. 2013;27(11):2927-33.
287. Shahbazzpour N, Carroll TJ, Riek S, Carson RG. Early alterations in serum creatine kinase and total cholesterol following high intensity eccentric muscle actions. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2004;44(2):193-9.
288. Ziemann E, Olek RA, Grzywacz T, Kaczor JJ, Antosiewicz J, Skrobot W, et al. Whole-body cryostimulation as an effective way of reducing exercise-induced inflammation and blood cholesterol in young men-->. *European cytokine network*. 2014;25(1):14-23.
289. Carlson LA, Holmquist L, Lindholm M. Plasma lipid metabolism at trauma: appearance of characteristic apolipoproteins in high density lipoproteins. *Acta chirurgica Scandinavica Supplementum*. 1985;522:87-106.
290. Man EB, Bettcher PG, et al. Plasma alpha-amino acid nitrogen and serum lipids of surgical patients. *The Journal of clinical investigation*. 1946;25(5):701-8.
291. Martin R, Cano MD, Guerrero JA, Segovia E, Vara Thorbeck R. [Growth hormone and its effects on cholesterol and lipoprotein metabolism following surgical intervention (hGH and cholesterol metabolism during surgery)]. *Nutricion hospitalaria*. 1998;13(4):181-5.
292. Birke G, Carlson LA, Liljedahl SO. Lipid metabolism and trauma. 3. Plasma lipids and lipoproteins in burns. *Acta medica Scandinavica*. 1965;178(3):337-50.
293. Graham RM, Stephens CJ, Sturm MJ, Taylor RR. Plasma platelet-activating factor degradation in patients with severe coronary artery disease. *Clinical science*. 1992;82(5):535-41.
294. Rassoul F, Richter V, Kistner C, Wisser D, Reichert B. Soluble cell adhesion molecules and parameters of lipoprotein metabolism in patients with severe burns. *The West Indian medical journal*. 2009;58(5):417-21.
295. Barth JH, Jackson BM, Farrin AJ, Efthymiou M, Worthy G, Copeland J, et al. Change in serum lipids after acute coronary syndromes: secondary analysis of SPACE ROCKET study data and a comparative literature review. *Clinical chemistry*. 2010;56(10):1592-8.
296. Nigam PK, Narain VS, Hasan M. Serum lipid profile in patients with acute myocardial infarction. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*. 2004;19(1):67-70.
297. Prou E, Guevel A, Benezet P, Marini JF. Exercise-induced muscle damage: absence of adaptive effect after a single session of eccentric isokinetic heavy resistance exercise. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 1999;39(3):226-32.
298. Clarkson PM, Nosaka K, Braun B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Medicine and science in sports and exercise*. 1992;24(5):512-20.
299. Nosaka K, Clarkson PM, McGuiggin ME, Byrne JM. Time course of muscle adaptation after high force eccentric exercise. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1991;63(1):70-6.
300. Friden J, Sjolstrom M, Ekblom B. Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *International journal of sports medicine*. 1983;4(3):170-6.
301. Fritz VK, Stauber WT. Characterization of muscles injured by forced lengthening. II. Proteoglycans. *Medicine and science in sports and exercise*. 1988;20(4):354-61.

APPENDICE

Elenco delle pubblicazioni in extenso su riviste indicizzate:

- 1) Paoli A, Pacelli QF, Neri M, Toniolo L, Cancellara P, Canato M, **Moro T**, Quadrelli M, Morra A, Faggian D, Plebani M, Bianco A, Reggiani C. Protein supplementation increases postexercise plasma myostatin concentration after 8 weeks of resistance training in young physically active subjects. *J Med Food*. 2015 Jan;18(1):137-43. IF: 1,699
- 2) Paoli A, **Moro T**, Bianco A. Lift weights to fight overweight. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2015 Jan;35(1):1-6. IF:1,195
- 3) Bianco A, Mammina C, Thomas E, Bellafiore M, Battaglia G, **Moro T**, Paoli A, Palma A. Protein supplementation and dietary behaviours of resistance trained men and women attending commercial gyms: a comparative study between the city centre and the suburbs of Palermo, Italy. *J Int Soc Sports Nutr*. 2014 Jun 18;11:30. IF: 1,825
- 4) **Moro T**, Bianco A, Faigenbaum AD, Paoli A. Pediatric resistance training: current issues and concerns. *Minerva Pediatr*. 2014 Jun;66(3):217-227. IF: 0,638
- 5) Paoli A, Pacelli QF, **Moro T**, Marcolin G, Neri M, Battaglia G, Sergi G, Bolzetta F, Bianco A. Effects of high-intensity circuit training, low-intensity circuit training and endurance training on blood pressure and lipoproteins in middle-aged overweight men. *Lipids Health Dis*. 2013 Sep 3;12:131. IF: 2,02
- 6) Paoli A, Pacelli QF, Cancellara P, Toniolo L, **Moro T**, Canato M, Miotti D, Reggiani C. Myosin isoforms and contractile properties of single fibers of human Latissimus Dorsi muscle. *Biomed Res Int*. 2013;2013:249. IF: 2,88
- 7) Paoli A, **Moro T**, Marcolin G, Neri M, Bianco A, Palma A, Grimaldi K. High-Intensity Interval Resistance Training (HIRT) influences resting energy expenditure and respiratory ratio in non-dieting individuals. *J Transl Med*. 2012 Nov 24;10(1):237. IF 3,46
- 8) Paoli A, Grimaldi K, D'Agostino D, Cenci L, **Moro T**, Bianco A, Palma A. Ketogenic diet does not affect strength performance in elite artistic gymnasts. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2012, 9:34. IF 1,64