

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Biomediche

Corso di Laurea Triennale in Scienze Motorie

Tesi di Laurea

**EFFETTI DEL CONSUMO DI PARMIGIANO REGGIANO
NELLA RISPOSTA A 12 SETTIMANE DI ESERCIZIO
ECCENTRICO IN ANZIANI SANI**

Relatore: Dott.ssa Tatiana Moro

Laureando: Emanuele Costa

N° di matricola: 1204611

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

INTRODUZIONE	2
1. L'invecchiamento di successo	2
2. L'allenamento della forza	3
3. L'esercizio eccentrico e il danno muscolare	4
4. L'utilizzo di supplementi per un recupero accelerato	7
5. Parmigiano Reggiano: componenti e caratteristiche.....	9
5.1. Short Chain Fatty Acids	10
SCOPO DELLA TESI	12
MATERIALI E METODI	13
1. Disegno sperimentale	13
2. Soggetti	13
3. Misurazioni	14
3.1. Composizione corporea	14
3.2. Test di forza ed equilibrio	15
3.3. Prelievi ematici	15
4. Protocollo di allenamento	15
5. Supplementazione	17
6. Analisi statistica	17
RISULTATI	18
1. Test di forza ed equilibrio	18
2. Composizione corporea.....	20
3. Prelievi ematici.....	22
DISCUSSIONE	26
CONCLUSIONE	31
BIBLIOGRAFIA	32

INTRODUZIONE

1. L'invecchiamento di successo

Con l'avanzare dell'età si va inesorabilmente incontro all'invecchiamento, un processo caratterizzato da un graduale declino fisico e funzionale.

Possiamo distinguere diverse "tipologie" di età, tra queste si trovano l'età cronologica, quella biologica e quella funzionale. Con "età cronologica" si intende semplicemente il tempo trascorso dalla nascita. Con "età biologica" si intende l'insieme dei processi biologici e fisiologici che implicano perdita di adattabilità, patologie, limitazioni fisiche e funzionali, disabilità ed eventualmente portano al decesso (Jones, 2005). Con "età funzionale" si intende invece la somma delle capacità organiche, psichiche e fisiche dell'individuo rispetto al resto della popolazione di pari età e genere (Jones, 2005).

Le conseguenze dell'invecchiamento possono essere contrastate seguendo un corretto stile di vita. Con il termine "successful aging" ci si vuole riferire infatti a quegli anziani che possiedono caratteristiche fisiologiche e psicosociali migliori della media, che hanno un minor rischio di andare incontro a patologie fisiche e mentali fino agli anni 80 e che si ritengono soddisfatti della propria vita (Rowe e Khan, 1987). Concentrandosi più sul funzionamento ottimale piuttosto che sulle perdite di funzionalità, Rowe e Kahn hanno identificato nei fattori modificabili come la dieta, l'esercizio fisico, le abitudini personali (ad esempio il fumo o il consumo di alcolici) e fattori psicosociali i promotori, o gli ostacoli, ad un invecchiamento normale. Pertanto, gli individui possono impegnarsi in modifiche dello stile di vita per evitare malattie e, di conseguenza, aumentare le loro possibilità di invecchiare bene.

È infatti ormai noto che l'esercizio fisico fa da protagonista nella promozione di un invecchiamento di successo in quanto previene l'insorgenza di patologie (ruolo primario), riduce le disabilità (ruolo secondario), agisce nel ripristinare le funzioni fisiologiche (ruolo terziario), aiuta nel mantenimento delle funzioni cognitive e da un grande supporto psico-sociale (Jones 2005). Mantenere un livello di attività fisica superiore alla media è quindi un obiettivo che tutti gli anziani dovrebbero perseguire.

2. L'allenamento della forza

Essere fisicamente attivi può essere considerato come il miglior strumento adatto alle persone di tutte le età che desiderano migliorare il proprio stato di salute. La diminuzione dell'attività fisica abbinata ad uno stile di vita sedentario, possono portare ad una precoce riduzione delle capacità fisiche e cognitive correlate ai processi d'invecchiamento (Koopman et al., 2009). La massa muscolare si riduce di circa il 10% per decade dopo i 40 anni ed aumenta con l'avanzare dell'età. Patologie e condizioni cliniche legate ad alterazioni del sistema muscolo-scheletrico sono più comuni dopo i 90 anni (McLeod, 2016).

Con l'invecchiamento si può quindi andare incontro alla sarcopenia, una sindrome caratterizzata dalla progressiva e generalizzata perdita di massa e forza muscolare. Allenare la forza significa andare incontro all'esigenza di prevenire e/o curare questa problematica muscolare.

Il decadimento della forza muscolare inizia dopo i 30 anni di vita. Nella sesta decade avviene una repentina perdita delle capacità muscolari di oltre il 15% fino ad un 30% con gli 80 anni di età. La perdita di forza muscolare ha come conseguenza una sostanziale diminuzione delle capacità sensoriali con una riduzione della coordinazione inter e intra muscolare. Inoltre, alla riduzione della forza muscolare sono abbinate ridotte abilità nel cammino. La perdita delle capacità muscolari e il ridotto equilibrio possono portare ad un successivo aumento delle probabilità di cadute e infortuni, talvolta con conseguenze fatali per l'individuo (Faulkner et al., 2007). Diversi studi hanno dimostrato come l'allenamento della forza, tramite il Resistance Training, possa combattere i processi d'invecchiamento rallentando e/o prevenendo la degenerazione delle capacità cognitive e fisiche (Agaard et al., 2010), rendendo fondamentale l'incremento della massa muscolare. Studi svolti su una popolazione anziana, hanno dimostrato come l'allenamento della forza, tramite resistance training, svolto per 30 minuti con una frequenza pari a due/tre volte a settimana, abbia effetti positivi in termine di prevenzione per i disturbi cardiovascolari, cancro, diabete e osteoporosi (Liu et al., 2009). Inoltre, si sono riscontrati risultati incoraggianti come un notevole aumento della forza muscolare, un aumento della velocità del cammino, riduzione del tempo impiegato

nell'alzarsi dalla posizione seduta e aumenti significativi della mobilità individuale (Liu et al., 2009).

Nel resistance training esistono diverse variabili fondamentali, senza le quali l'allenamento sarebbe disordinato, confuso e non efficace. Tra le variabili troviamo il volume, che rappresenta la quantità di lavoro svolta in una seduta di allenamento. Nel volume rientrano le ripetizioni, ovvero il movimento completo di un esercizio, le serie, ovvero un insieme di ripetizioni eseguite consecutivamente senza pause e il tempo di recupero, che indica il tempo da rispettare che trascorre tra la fine di una serie e l'inizio di un'altra nello svolgimento del medesimo esercizio. Un'altra variabile importante è l'intensità ovvero il carico esterno applicato all'esercizio. Questo viene calcolato in percentuale rispetto al carico massimale, quel carico tale da poter eseguire una sola ripetizione. Più la percentuale è elevata, maggiore sarà l'intensità dell'esercizio. Infine, troviamo la densità che rappresenta il rapporto tra le tempistiche dedicate all'esecuzione di un esercizio, con le rispettive tempistiche dedicate alla fase di recupero, e la frequenza che è riconducibile alle sedute allenanti svolte in una settimana (Paoli et al., 2013). Le variabili dell'allenamento sono strettamente interdipendenti e legate tra loro, dove all'aumentare dell'una deve corrispondere una diminuzione delle altre.

Un'altra importante distinzione comprende le varie tipologie di contrazione muscolare utilizzate nell'allenamento contro resistenza. Nella contrazione isometrica, il muscolo viene stimolato a lunghezza costante, nella contrazione concentrica si ha un accorciamento dei sarcomeri con conseguente avvicinamento dei capi articolari e nella contrazione eccentrica, il muscolo esercita una resistenza ad un carico esterno andandosi però ad allungare forzatamente tornando alla sua lunghezza di riposo (Paoli et al., 2013). Quest'ultima sarà di nostra particolare attenzione in quanto lo studio da noi svolto la vede protagonista.

3. L'esercizio eccentrico e il danno muscolare

Una contrazione eccentrica è caratterizzata da un allungamento del complesso muscolo-tendineo e avviene quando una forza applicata al muscolo supera la forza momentanea prodotta dal muscolo stesso, subendo così un allungamento forzato

del complesso muscolo-tendineo durante la sua contrazione (Lindstedt et al., 2001). Le contrazioni eccentriche sono una componente importante nei movimenti quotidiani o nelle attività sportive. I muscoli scheletrici si contraggono eccentricamente nel supportare il peso del corpo contrastando la forza di gravità, proteggendo le articolazioni andando ad ammortizzare possibili cadute o per immagazzinare energia da esprimere nella successiva contrazione concentrica (LaStayo et al., 2003). Durante una contrazione eccentrica, data una certa velocità angolare, si è visto che vengono generate forze maggiori rispetto alle altre tipologie di contrazione muscolare (Hortobagyi and Katch, 1990). Inoltre, si è visto che le contrazioni eccentriche richiedono una minore attivazione di unità motorie e un minor consumo di ossigeno ed energia se messe in relazione alle contrazioni concentriche (Abbott et al., 1952), infatti, la richiesta metabolica nell'esecuzione di un esercizio che prevede l'utilizzo della contrazione eccentrica è approssimativamente quattro volte inferiore rispetto allo stesso esercizio se eseguito solo nella fase concentrica. Si è visto come l'esercizio eccentrico induce maggior danno muscolare rispetto ad altri tipi di esercizi se eseguiti con contrazione differenti (Friden and Lieber, 1992). Il ridotto numero di fibre muscolari reclutate e l'aumentata capacità di esprimere forza nella contrazione eccentrica, può causare stress meccanico elevato alle strutture coinvolte provocando microlesioni delle fibre muscolari stesse (Lieber and Friden, 1999). Questa teoria suggerisce che durante la contrazione eccentrica, i sarcomeri più deboli assorbono la maggior variazione di lunghezza (Morgan, 1990). Questi potrebbero essere allungati oltre il punto di sovrapposizione del miofilamento, provocandone così la rottura. Queste microlesioni del complesso muscolo-tendineo causate dall'allungamento forzato sono seguite dalla rigenerazione muscolo-tendinea e alla sintesi di nuovo collagene (Guilhem et al., 2010). Tale danno muscolare provoca l'effetto DOMS (Delayed – onset muscle soreness), quella sensazione di dolore, solitamente provata con la palpazione, contrazione e allungamento del muscolo in seguito ad esercizi di base eccentrica. Tale indolenzimento muscolare appare tra le 12 e le 24 ore in seguito all'esercizio eccentrico, su quei muscoli non abituati a questa tipologia di contrazione, con picchi tra le 24 e le 72 ore, prima di diminuire progressivamente dopo 5–7 giorni dalla seduta di allenamento. Tra le varie ipotesi che motivano

l'insorgenza di quest'effetto, possiamo trovare il rilascio di acido lattico, danni del tessuto connettivo, danni muscolari, stress ed infiammazione ossidativa (Hyldahl and Hubal, 2014). Tuttavia, più che un indicatore del danno muscolare, l'effetto DOMS è una conseguenza all'inizio della fase di rigenerazione muscolare, che nel tempo induce ad ipertrofia (Coudreuse, et al., 2004). Sono stati condotti diversi studi circa l'allenamento dell'ipertrofia che dimostrano la superiorità del resistance training in base eccentrica rispetto agli allenamenti di forza concentrici (Julian et al., 2018). Tuttavia, i risultati sembrano essere estremamente variabili per poter confermare maggiori guadagni nella massa muscolare in seguito ad allenamenti eccentrici (Julian et al., 2018). Infatti, nella loro revisione, Franchi et al. (2014) traggono la conclusione, anche se inaspettata, che i cambiamenti nelle dimensioni muscolari sono simili tra l'allenamento eccentrico e concentrico quando sono abbinati per carico o lavoro. È stato dimostrato come la contrazione eccentrica, porti ad una progressiva attivazione di geni responsabili della crescita e allo sviluppo delle cellule. Tra questi adattamenti troviamo l'attivazione delle cellule satelliti. Le fibre muscolari sono cellule polinucleate e per via della loro incapacità a dividersi, è necessaria una fonte alternativa delle stesse. Le cellule satelliti ricoprono questo ruolo andando a “fondersi” alle fibre muscolari già esistenti, in seguito a stimoli appropriati, come esercizi di resistance training, in risposta alla richiesta di rigenerazione del tessuto muscolare (Chargé et al., 2004). Si è visto però che avviene un'attivazione delle cellule satelliti anche in seguito ad esercizi fisici che non provocano danno muscolare, necessaria per rifornire la “scorta” delle stesse (Chargé et al., 2004). Queste vie di adattamento molecolare paiono essere maggiori con la contrazione eccentrica se confrontata a quella concentrica o isometrica (Chen et al., 2002; Barash et al., 2004; Kostek et al., 2007), presumibilmente dovuto alla sua elevata capacità di creare stress meccanico a livello muscolare. Si è visto, infatti, che nella contrazione eccentrica i livelli dell'Insulin – like growth factor 1 (IGF-1) e mechano – growth factor (entrambi regolatori della crescita muscolare) erano maggiori se confrontati con i rispettivi livelli nella contrazione concentrica (Barash et al., 2004). Grazie al ridotto costo energetico richiesto durante una contrazione eccentrica se confrontata con quella concentrica, si è visto come allenamenti di base eccentrica siano particolarmente raccomandati per il recupero della massa e forza

muscolare nella popolazione anziana (Hoppeler, 2016). A rinforzare la scelta di un allenamento eccentrico per la popolazione anziana, uno studio pubblicato nel 2019 da Katsura et al., che metteva a confronto le due tipologie di contrazione nell'allenamento, ha dimostrato che dopo 8 settimane di allenamento con una frequenza di 3 sedute a settimana, il gruppo eccentrico ha significativamente aumentato i valori di forza muscolare negli arti inferiori, la mobilità e migliorato il comportamento posturale nei soggetti. Infatti, Katsura et al., suggeriscono l'utilizzo di un protocollo di allenamento ponendo enfasi alla fase eccentrica, per mantenere e migliorare le capacità fisiche.

4. L'utilizzo di supplementi per un recupero accelerato

Un importante concetto da tenere a mente è che un adeguato intake proteico è fondamentale per garantire l'omeostasi muscolare, che provvede alla richiesta di aminoacidi essenziali utili a bilanciare la degradazione proteica delle vie cataboliche, supportando così la crescita muscolare e la funzionalità muscolare. A differenza degli altri macronutrienti, per le proteine non esiste una "scorta" alla quale attingere, quando queste sono carenti nell'organismo. Infatti, quando l'intake proteico è insufficiente a soddisfare il fabbisogno giornaliero, i processi catabolici prevarranno su quelli anabolici portando ad un bilancio proteico negativo, costringendo l'organismo a reperire le proteine direttamente dai muscoli scheletrici (Biolo et al., 2002), portando così ad una risposta atrofica muscolare, compromettendone la crescita e aumentando i rischi correlati ad un'inadeguata forza muscolare. I processi d'invecchiamento possono portare i soggetti ad una perdita di massa muscolare dovuto ad uno squilibrio cronico tra la sintesi e la degradazione delle proteine, legato ad una diminuzione dell'attivazione delle vie di segnalazione del mammalian Target Of Rapamycin (mTOR, un regolatore della crescita cellulare e della sintesi proteica) e all'inattività (Dreyer et al., 2008). Diverse prove dimostrano infatti come la popolazione anziana necessiti di maggiori quantità di proteine rispetto ai giovani, per compensare le condizioni infiammatorie e cataboliche associate alle malattie croniche e acute che si verificano comunemente con l'invecchiamento (Rousset et al., 2003), per garantire il benessere fisico e per

prevenire la riduzione delle capacità fisiche (Symons et al., 2009). Gli aminoacidi essenziali, in particolar modo la leucina, sono in grado di stimolare direttamente la sintesi proteica attivando la via del mTOR (Fujita et al., 2007). Si è visto infatti, come negli anziani, la dose di aminoacidi da assumere con l'intento di promuovere la sintesi proteica muscolare è maggiore se confrontata a quella della popolazione giovane. Infatti, la dose di leucina adeguata a stimolare la sintesi proteica nei soggetti anziani è approssimativamente di 3g (Paddon-Jones et al., 2009), che corrisponde a circa 25-30g di proteine ad alto valore biologico, a differenza della popolazione giovane alla quale basta la quantità di leucina contenuta in 10-20g di proteine ad alto valore biologico (Cuthbertson et al., 2005). Ad oggi, le dosi giornaliere raccomandate per la popolazione adulta, definite dalla RDA negli Stati Uniti d'America e PRI in Europa, sono rispettivamente di 0,80g e 0,83g per chilo corporeo al giorno (Who et al., 2007). Tuttavia, una percentuale significativa di adulti anziani (circa il 10%-25%) consuma meno proteine della RDA (Fugoni et al., 2008). Le quantità di proteine, che le persone anziane dovrebbero assumere quotidianamente, consigliate nella RDA, sembrano però essere insufficienti a proteggere la popolazione anziana alla perdita di massa muscolare in seguito a sarcopenia (Wolf et al., 2008). Un recente studio confrontava due gruppi, formati da soggetti con età superiore ai 70 anni, che assumevano proteine ad alto valore biologico. Il primo ne assumeva meno di 0,8g/kg/BW/day, l'altro invece ne assumeva più di 1,2g/kg/BW/day. I risultati hanno dimostrato come il gruppo che prendeva meno proteine era maggiormente colpito a perdita di peso involontaria, con conseguente riduzione della massa e forza muscolare. Questi risultati suggeriscono come un'assunzione di proteine ad alto valore biologico maggiori di 1g/kg/BW/day possa preservare la massa muscolare prevenendo l'indesiderata riduzione del peso corporeo (Gray-Donald et al., 2014). A rinforzare questa teoria, uno studio dalla durata di 6 anni su una popolazione anziana femminile ha rilevato che ad una maggiore assunzione di proteine, era associata una migliore condizione fisica e tassi più lenti di declino funzionale (Beasley et al., 2013). Inoltre, altri studi hanno dimostrato che se nella popolazione anziana si assumono quantità maggiori di proteine rispetto alle quantità consigliate nella RDA, ci sarà una riduzione della massa corporea, un incremento della forza muscolare degli arti superiori e inferiori,

un aumento della velocità del passo e miglioramenti nell'equilibrio statico (Gregorio et al., 2014). Questi studi dimostrano l'importanza dell'assunzione di proteine ad alto valore biologico per il mantenimento della massa muscolare (mantenendo così il bilancio proteico positivo) e le capacità fisiche nella popolazione anziana.

5. Parmigiano Reggiano: componenti e caratteristiche

Il Parmigiano Reggiano contiene al suo interno diverse componenti con una particolare attività biologica e per questo viene considerato, in accordo con le definizioni impartite dall'UE, come “functional food”, ovvero quei cibi che possono migliorare la salute e prevenire patologie ai soggetti che ne fanno un costante uso (Cannella et al., 2008).

Le proteine costituiscono circa il 33% delle componenti che caratterizzano il Parmigiano Reggiano. Queste proteine presentano alte concentrazioni di tutte le tipologie di aminoacidi essenziali come isoleucina, leucina, lisina, treonina, triptofano, valina, metionina, fenilalanina, tirosina e istidina (Cannella et al., 2008).

I grassi derivanti dai latticini sono tra i più complessi nella dieta dell'uomo, consistendo in più di 400 specie diverse di acidi grassi. Tra questi troviamo acidi grassi a catena lunga, media e corta (Jensen, 2002). Molti di questi acidi grassi sono presenti nella nostra dieta tramite l'assunzione dei vari prodotti derivanti dai latticini (Kratz et al., 2013). I trigliceridi che compongono il Parmigiano Reggiano sono caratterizzati per più del 25% da acidi grassi a catena corta e media, il che li rende più facilmente assorbibili in quanto percorrono vie di assimilazione differenti rispetto a quelle degli acidi grassi a catena lunga. Inoltre, il colesterolo contenuto nel Parmigiano Reggiano è relativamente basso, solo 83-91 mg per 100 g di formaggio (Garini et al., 2008).

Un'altra importante caratteristica del Parmigiano Reggiano è la totale assenza di lattosio. L'intolleranza al lattosio induce ad una riduzione nell'assunzione di calcio, come conseguenza dell'eliminazione del latte e dei latticini dalla dieta (Pancaldi et al., 2008). Alcuni studi dimostrano come l'assunzione di Parmigiano Reggiano aiuti a raggiungere la corretta quantità di calcio in quei soggetti con intolleranza al

lattosio per poter così prevenire patologie ossee come l'osteoporosi (Cannella et al., 2008). Altre componenti del Parmigiano Reggiano sono i sali minerali. In grande abbondanza troviamo il calcio, il fosforo, il sodio e il cloro; in particolar modo facciamo riferimento alla presenza del calcio, 1159 mg per 100 g di Parmigiano Reggiano, utile insieme alla vitamina D e alle proteine nello sviluppo e mantenimento della struttura ossea. Diversi studi fanno riferimento all'assunzione di questi nutrienti come gli strumenti per prevenire la riduzione di matrice ossea e quindi ridurre i rischi di fratture nei soggetti più anziani (Bonjour et al., 2011). Essendo una fonte di questi importanti nutrienti, il Parmigiano Reggiano gioca un ruolo positivo per la salute delle ossa (Pampaloni et al., 2011).

5.1 Short Chain Fatty Acids

Gli acidi grassi a catena corta (in inglese Short Chain Fatty Acids – SCFA) contenuti nel Parmigiano Reggiano sono di nostra particolare attenzione, in quanto studi dimostrano come l'assunzione di SCFA, in particolare l'acido butirrico, portino ad un'azione di prevenzione e soppressione nell'insorgenza di patologie e tumori del colon (Hamer et al., 2008) e, come riportato dalla metanalisi di Sivaprakasam et al., del 2016, tramite i loro recettori sono anche in grado di influenzare altre funzioni gastrointestinali, regolano l'adipogenesi, influenzano l'attività del sistema nervoso centrale e la salute cardiovascolare. Inoltre, studi dimostrano come gli acidi grassi a catena corta, siano in grado di svolgere un'azione antiossidante che porta a ridurre i rischi cardio metabolici insieme alla riduzione delle infiammazioni croniche (Tan et al., 2014).

La popolazione anziana è soggetta a inflammaging, una situazione infiammatoria cronica provocata da un continuo carico antigenico e da elementi stressanti esterni di diversa natura (Franceschi et al., 2000). Si è visto come diverse persone a livello genetico siano meno capaci di altre nel combattere, a livello immunitario, questi elementi stressanti, e di conseguenza saranno più predisposti all'inflammaging, e quindi a patologie come l'aterosclerosi, osteoporosi, diabete e Alzheimer (Franceschi, et al., 2000). Lo stato infiammatorio acuto e transitorio ha effetti benefici in seguito a lesioni dei tessuti, attivando quei processi adattativi che

portano ad una più efficace risposta rigenerativa. Quando però lo stato infiammatorio diventa cronico e persistente, l'organismo non riesce a rispondere fisiologicamente allo stimolo stressante, come l'esercizio fisico, e conseguentemente ci sarà una degenerazione dei tessuti (Franceschi et al., 2000). Nel nostro progetto vogliamo quindi verificare se sia possibile trasportare a livello sistemico l'azione antinfiammatoria degli SCFA contenuti nel Parmigiano Reggiano per garantire una migliore risposta adattiva all'allenamento nella popolazione anziana.

SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questo progetto è verificare l'efficacia di un supplemento alimentare come quello del Parmigiano Reggiano nella risposta a 12 settimane di esercizio eccentrico in anziani sani. Essendo un prodotto ad alto contenuto proteico, capace di ricoprire tutte le tipologie di aminoacidi essenziali e con alte concentrazioni di SCFA (Short Chain Fatty Acid), ci aspettiamo che abbinare il consumo regolare di Parmigiano Reggiano all'esercizio di tipo eccentrico possa migliorare la risposta muscolare in termini sia di massa muscolare che di forza.

Ci aspettiamo inoltre che il contenuto di SCFA sia sufficiente a ridurre a livello sistemico markers legati allo status infiammatorio dell'anziano. Tuttavia, resterà da valutare l'effetto di un utilizzo cronico di questo supplemento sui valori lipidici (colesterolo e trigliceridi), potenzialmente pericolosi nella popolazione anziana.

MATERIALI E METODI

1. Disegno sperimentale

Lo studio segue il disegno di uno studio parallelo randomizzato controllato. I soggetti sono stati allocati in maniera casuale in uno dei 2 gruppi intervento: PRO prevedeva l'assunzione giornaliera di proteine del siero del latte, PAR prevedeva l'assunzione di 50 g/die di Parmigiano Reggiano. Tutti i partecipanti sono inoltre stati sottoposti ad un allenamento eccentrico per gli arti inferiori per tre volte settimanali per un totale di dodici settimane.

I soggetti si sono presentati presso il laboratorio di Nutrizione e Fisiologia dell'Esercizio dell'Università di Padova per eseguire i test di screening e gli allenamenti.

Durante il primo incontro, dopo aver firmato il consenso informato ai soggetti è stato chiesto di compilare una scheda socio-anagrafica per accertare l'eleggibilità secondo i criteri di inclusione ed esclusione. Una volta confermata l'ammissibilità allo studio, i partecipanti sono stati sottoposti ad una valutazione della composizione corporea tramite l'ausilio di BIA e DEXA e un prelievo ematico. A seguire la loro capacità funzionale è stata misurata mediante lo Short Physical Performance Battery (SPPB) test. Test di massima forza volontari sono invece stati eseguiti durante la prima settimana di allenamento.

Tutti i test sono stati svolti prima e dopo il periodo di allenamento.

2. Soggetti

Hanno aderito al progetto 26 soggetti, ma essendo lo studio ancora in corso, tratteremo i dati solamente di 14 soggetti, di età compresa tra i 62 e i 73 anni ($67,07 \pm 3,32$). Il reclutamento è stato svolto tramite passaparola. I criteri d'inclusione erano che i soggetti dovessero avere più di 60 anni, essere in buono stato di salute ma che non si allenassero con una frequenza maggiore di due volte a settimana con allenamenti di pesistica e che non assumessero già integratori proteici nella loro dieta; sono stati esclusi tutti quei soggetti che presentavano conclamate patologie cardiorespiratorie e metaboliche.

Ai partecipanti non è stata richiesta nessuna modifica circa il loro stile di vita, inclusa la dieta alimentare, per tutta la durata dello studio. Le caratteristiche antropometriche dei soggetti sono rappresentate in *Tabella 1*.

Tabella 1. Caratteristiche antropometriche dei partecipanti allo studio.

	PAR	PRO
N (F, M)	7 (4,3)	7 (4,3)
Età (Anni)	66,57 ± 3,31	67,57 ± 3,51
Altezza (cm)	166 ± 8,25	170,29 ± 11,95
Peso (Kg)	67,5 ± 7,93	75,67 ± 9,02
BMI (Kg/m ²)	25,17 ± 1,02	25,11 ± 2,64
Massa Grassa (%)	19,64 ± 2,60	21,91 ± 4,51
WHR	0,86 ± 0,07	0,87 ± 0,08

3. Misurazioni

Tutti i partecipanti aderenti allo studio sono stati sottoposti al medesimo iter di test. Nel giorno di screening i soggetti si sono presentati a digiuno dalla sera precedente. Di seguito sono descritte le misurazioni effettuate:

3.1 **Composizione corporea:** L'indice di massa corporea (BMI) è stato calcolato in kg/m²: il peso corporeo e l'altezza sono stati misurati utilizzando uno stadiometro con bilancia (Wunder C201, Italia). I soggetti sono quindi stati fatti distendere per circa 3 minuti prima di eseguire nell'ordine la misurazione mediante bioimpedenziometria BIA (BIA 101 BIVA PRO – Akern S.R.L., Italia) e successivamente mediante densitometria assiale a raggi X (Horizon DXA System; QDR 4500 W, Hologic Italia s.r.l, Roma, Italia). Dall'analisi della BIA si sono ricavati dati di idratazione corporea, l'acqua intracellulare corporea, l'acqua extracellulare corporea e l'angolo di fase; mentre dalla DXA si sono ottenuti indici di densità ossea, massa magra e massa grassa.

La circonferenza di vita e fianchi è stata misurata con un metro da sarta. Dal rapporto tra la circonferenza della vita e quella dei fianchi, abbiamo ricavato il WHR (Waist-hip Ratio).

3.2 Test di forza ed equilibrio: La massima forza espressa durante gli esercizi di leg extension, chest press e leg press è stata calcolata indirettamente utilizzando il test 10RM. Durante il test 10RM, i soggetti sono stati progressivamente accompagnati a raggiungere il carico con cui erano in grado di eseguire un massimo di 10 ripetizioni. Questo metodo è particolarmente sicuro quando il partecipante non ha esperienza con l'esercizio o nella popolazione anziana. La forza massima è stata quindi stimata utilizzando la formula di Brzycki (Brzycki, 1993). La forza di presa della mano, indice anche di forza generale, è stata valutata con l'hand grip test utilizzando un dinamometro portatile (Hand Grip Dynamometer – Biometrics Ltd., Regno Unito). Successivamente sono stati svolti gli SPPB test (Short Physical Performance Battery) per analizzare l'equilibrio statico, la velocità di cammino e il tempo impiegato per alzarsi dalla sedia.

3.3 Prelievi ematici: I prelievi ematici sono stati svolti da personale medico specializzato, prima della rilevazione della composizione corporea. È stato rilevato il controllo glicemico, il profilo lipidico e lo status infiammatorio.

4. Protocollo di allenamento

I soggetti hanno partecipato ad un protocollo di allenamento della durata di 12 settimane, con una frequenza tri-settimanale. Ogni seduta di allenamento era seguita da almeno un giorno di recupero. Il protocollo di allenamento era sviluppato con una fase dedicata al warm up, un corpo centrale e la fase di cool down, della durata totale di circa 40 minuti:

- Warm up: la fase di warm up della durata di 5' circa prevedeva delle andature per stimolare l'equilibrio dinamico, 30" equilibrio mono podalico sul piede dx e 30" equilibrio mono podalico sul piede sx, 10 ripetizioni di squat utilizzando una sedia come supporto e 10 ripetizioni di piegamenti sulle braccia a muro.

- **Corpo centrale:** il corpo centrale dell'allenamento prevedeva 2 serie da 15 ripetizioni per ogni esercizio, inizialmente con un carico pari al 60% di 1RM, per poi progressivamente aumentare fino ad eseguire 3 serie da 8 ripetizioni all'80% di 1RM. La sequenza degli esercizi è stata svolta con l'idea di alternare l'allenamento degli arti inferiori e superiori, e così suddivisa: leg press, chest press, leg extension e pulley con elastici. Ai soggetti è stato imposto di rispettare la velocità d'esecuzione di 1,5 secondi per la fase concentrica e 4,5 secondi per la fase eccentrica in tutti gli esercizi dedicati agli arti inferiori. Per terminare la fase centrale dell'allenamento sono state svolte due serie di plank con contrazione isometrica inizialmente da 20" andando poi ad aumentare progressivamente la durata.
- **Cool down:** la fase di cool down è stata svolta con esercizi di stretching per la catena posteriore delle gambe e dei muscoli pettorali.

Nella *Tabella 2* è schematizzata la seduta di allenamento:

Tabella 2. Schema di una seduta di allenamento.

ESERCIZI	MUSCOLI COINVOLTI
Andature	Warm Up
Equilibrio monopodalico	Warm Up
Squat su sedia	Warm Up - gambe
Piegamenti a muro	Warm Up - braccia
Leg Press	Gambe
Chest Press	Pettorali - braccia
Leg Extension	Gambe
Pulley con elastici	Dorsali
Plank	Core
Stretching	Cool down

5. Supplementazione

I soggetti sono stati assegnati, casualmente, in due gruppi: il gruppo d'intervento, che prevedeva l'assunzione giornaliera di 50g di Parmigiano Reggiano e il gruppo di controllo che prevedeva invece l'assunzione giornaliera di 15g di proteine in polvere del siero del latte. Il gruppo PAR doveva prendere 25g di Parmigiano Reggiano dopo la seduta di allenamento e i restanti 25g verso sera, mentre il gruppo PRO doveva assumere 15g di proteine preferibilmente la mattina. Il protocollo di allenamento rimaneva il medesimo per entrambi i gruppi.

6. Analisi statistica

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism version 9.3.1 (GraphPad Software, San Diego, California USA). È stato utilizzato il test Two-way ANOVA per misure ripetute per valutare le differenze dei due interventi (PAR o PRO) sui fattori allenamento e supplemento. Ogni volta che si è riscontrato un effetto significativo per uno od entrambi i fattori si è applicato il post-hoc test di Šidák per identificarne le specifiche. Le differenze sono state considerate significative a $p < 0,05$. In caso di significatività statistica, i dati sono stati descritti tramite grafico, mentre i dati non statisticamente significativi, sono presentati come $\text{media} \pm \text{DS}$ in tabella.

RISULTATI

1. Test di forza ed equilibrio

Sono stati valutati per l'aspetto della funzionalità fisica, la forza degli arti superiori mediante l'hand grip, l'equilibrio e capacità fisiche mediante lo Short Physical Performance Battery test e durante l'allenamento è stato fatto il 10 RM per stimare la forza massima dei principali gruppi allenati. Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sull'hand grip. Dall'analisi non sono emersi cambiamenti statisticamente significativi ($p > 0,05$).

Sullo Short Physical Battery test non ci sono stati cambiamenti statisticamente significativi sui punteggi (*Tabella 3*); tuttavia, 3 soggetti appartenenti ad entrambi i gruppi hanno però aumentato il loro punteggio totale di 1 punto. Valutando invece la performance sulla velocità di cammino (in ms) e sulla forza degli arti inferiori (in ms), si può notare un effetto significativo del fattore allenamento ($p < 0,0001$), indice che entrambi i gruppi (PAR $p = 0,0007$ e PRO $p = 0,0001$) hanno migliorato la loro performance (*Figura 1A*).

Tabella 3. Dati di hand grip e punteggi SPPB.

	PAR			PRO		
	PRE	POST	p value	PRE	POST	p value
SPPB punteggio totale	11,14±1,21	11,29±1,11	0,64	11,29±0,76	11,57±0,53	0,21
SPPB punteggio equilibrio	4±0	4±0	ns	4±0	4±0	ns
SPPB punteggio sit to stand	4±0	4±0	ns	4±0	4±0	ns
SPPB punteggio cammino	3,14±1,21	3,29±1,11	0,64	3,29±0,76	3,57±0,53	0,21
Handgrip	34,60±5,69	37,00±10,19	0,43	33,77±7,89	34,26±6,85	0,96

Il medesimo risultato è stato evidenziato per la performance di SPPB cammino. Dall'analisi è emerso un effetto significativo per il fattore allenamento ($p=0,0025$) e all'analisi del multiple comparisons è emerso che il gruppo PAR è migliorato in maniera statisticamente significativa $p=0,0135$, mentre il gruppo PRO non ha evidenziato questa differenza statisticamente significativa (*Figura 1B*).

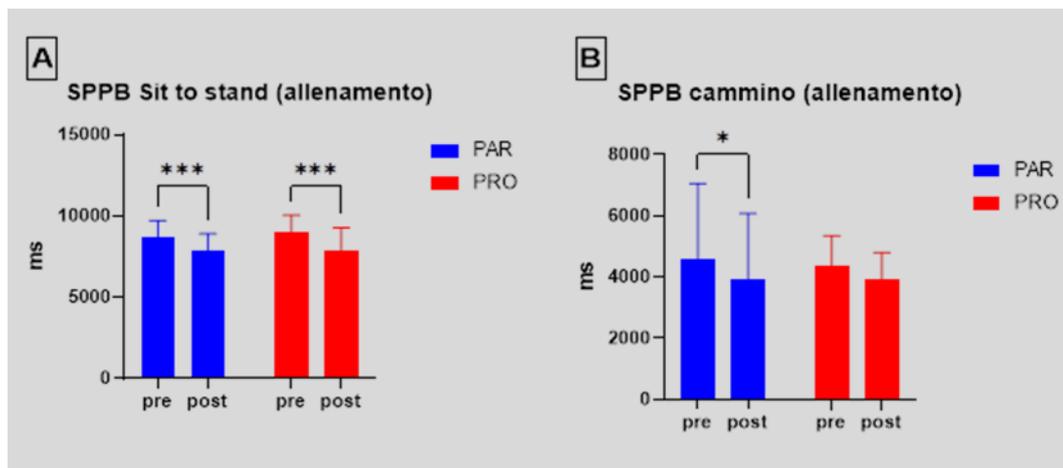


Figura 1: Il grafico A descrive i dati della performance del sit to stand.

Il grafico B descrive i dati della performance del cammino.

Per quanto riguarda la performance specifica dei test di forza fatti in palestra durante gli allenamenti, il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sul test 1 RM di leg press (*Figura 2A*), chest press (*Figura 2B*) e leg extension (*Figura 2C*). Dall'analisi è emerso un effetto significativo per il fattore allenamento ($p<0,0001$) su tutte le tipologie di esercizio. Entrambi i gruppi (PAR $p<0,0001$ e PRO $p<0,0001$) hanno migliorato la loro performance.

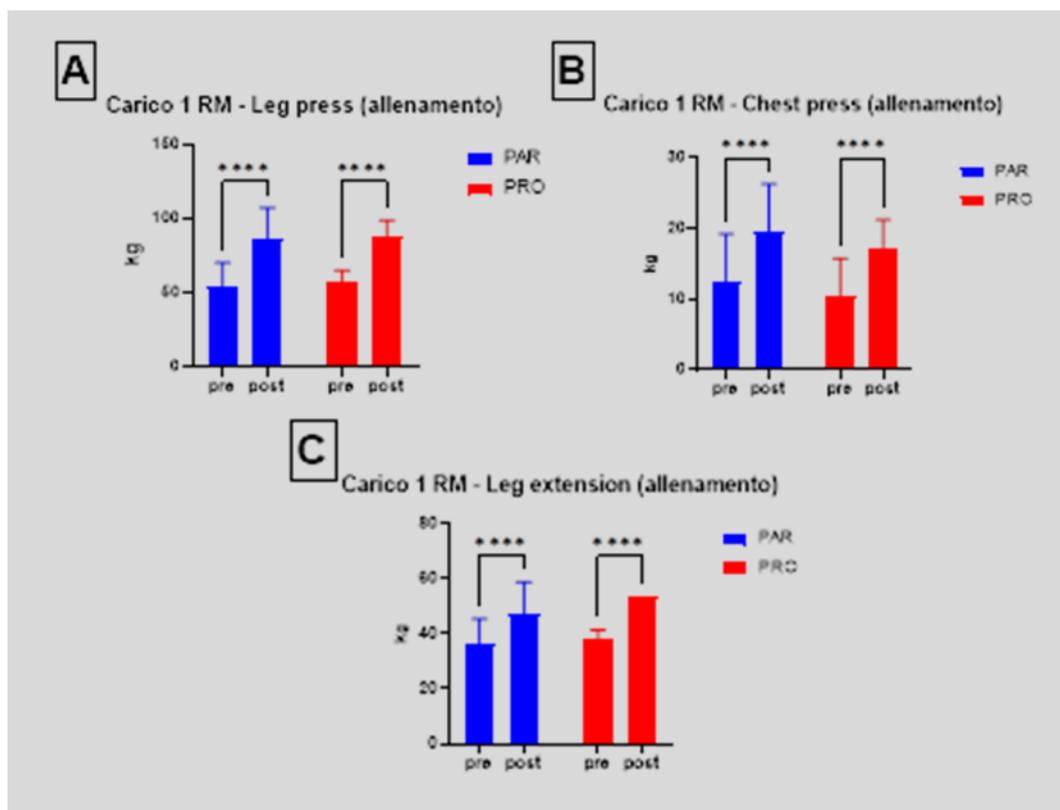


Figura 2: Il grafico A descrive i dati di 1RM di leg press. Il grafico B descrive i dati di 1 RM di chest press. Il grafico C descrive i dati di 1RM di leg extension.

2. Composizione corporea

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sulla massa magra. Dall'analisi è emerso un effetto significativo per il fattore allenamento ($p=0,0110$). All'analisi del multiple comparisons è emerso che solo il gruppo PRO ha aumentato la massa muscolare in maniera statisticamente significativa del +3,21% con $p=0,0339$, mentre il gruppo PAR ha aumentato la massa muscolare del +2,01% ma con un $p>0,05$ (Figura 3).

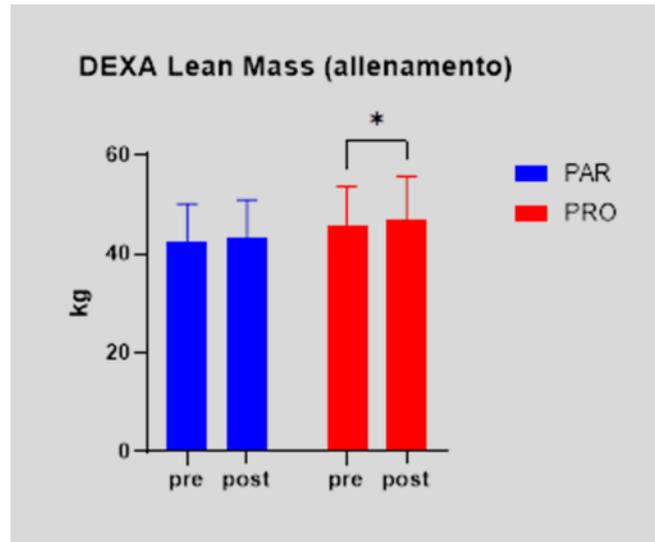


Figura 3: Il grafico descrive i dati della massa magra.

Il test Two.way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sulla massa grassa e matrice ossea. Dall'analisi non sono emersi cambiamenti statisticamente significativi né per il fattore supplemento, né per il fattore allenamento ($p > 0,05$). Nella *Tabella 4* sono indicati i dati di massa grassa e matrice ossea.

Tabella 4. Dati di massa grassa e matrice ossea.

	PAR			PRO		
	PRE	POST	p value	PRE	POST	p value
DEXA Massa grassa	24,92±2,45	24,26±3,76	0,45	24,73±5,72	23,81±6,53	0,23
DEXA Matrice ossea	2,27±0,43	2,26±0,40	0,91	2,40±0,46	2,42±0,49	0,42

Per quanto riguarda lo status di idratazione rilevato mediante BIA misurando l'acqua corporea totale, l'acqua intracellulare corporea, l'acqua extracellulare

corporea e l'angolo di fase, è stato utilizzato il test Two-way ANOVA per misure ripetute. Dall'analisi non sono emersi cambiamenti statisticamente significativi. Non si sono evidenziati cambiamenti statisticamente significativi neanche sui dati della massa muscolare di braccia e gambe (ASMM). I dati sono descritti con media e deviazione standard nella *Tabella 5*.

Tabella 5. Dati di acqua corporea totale, acqua intracellulare corporea, acqua extracellulare corporea e angolo di fase.

	PAR			PRO		
	PRE	POST	p value	PRE	POST	p value
BIA - TBW	35,48±5,20	35,02±5,56	0,30	38,42±6,87	38,80±7,56	0,49
BIA - ICW	17,77±2,78	17,75±2,89	0,99	18,90±3,35	19,68±3,83	0,07
BIA - ECW	17,72±2,65	17,28±2,89	0,40	19,52±3,64	19,12±3,78	0,51
BIA - PhA	5,18±0,41	5,28±0,43	0,70	5,02±0,35	5,28±0,26	0,19
BIA - ASMM	17,25±2,82	17,13±2,88	0,64	18,78±3,38	19,12±3,70	0,08

3. Prelievi ematici

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sui valori ematici quali glicemia, insulina, colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi. Dall'analisi non sono emersi effetti significativi né per il fattore supplemento né per il fattore allenamento ($p>0,05$). I dati sono descritti con media e deviazione standard nella *Tabella 6*.

Tabella 6. Dati di glicemia, insulina, colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi.

	PAR			PRO		
	PRE	POST	p value	PRE	POST	p value
GLICEMIA	87,00±10,41	93,57±10,16	0,33	90,57±5,59	97,29±11,32	0,32
INSULINA	7,34±3,36	7,79±3,75	0,88	7,71±5,97	8,21±8,12	0,85
CHOL TOT	203,14±33,08	199,86±22,61	0,88	204,29±35,68	197,71±44,71	0,61
HDL	60,43±6,37	57,43±7,63	0,53	70,71±21,80	68,43±20,32	0,69
LDL	128,43±31,36	130,71±25,03	0,91	123,43±23,49	120,43±31,09	0,85
TRIGLICERIDI	94,00±31,98	85,71±20,40	0,72	79,57±16,60	96,57±46,58	0,28

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sui valori ematici quali CPK, IGF-1 e creatinina. Per la CPK e l'IGF-1 dall'analisi non sono emersi effetti significativi né per il fattore supplemento né per il fattore allenamento ($p > 0,05$). Per quanto riguarda la creatinina, si è visto un'interazione tra i due fattori allenamento e supplemento, ma all'analisi del multiple comparisons si nota che nessun fattore predilige sull'altro. I dati sono descritti con media e deviazione standard nella *Tabella 7*.

Tabella 7. Dati di CPK, IGF-1 e creatinina

	PAR			PRO		
	PRE	POST	p value	PRE	POST	p value
CPK	109,00±38,22	106,71±29,53	0,98	125,14±109,73	148,29±152,82	0,22
CREATININA	0,76±0,15	0,73±0,12	0,36	0,83±0,11	0,86±0,13	0,18
IGF-1	168,33±51,93	168,17±49,37	0,99	156,57±40,62	149,00±41,27	0,72

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sull'IL-6. Dall'analisi sono emersi effetti significativi per il fattore supplemento ($p=0,0125$). Alla successiva analisi post hoc di Šidák, non appaiono però effetti statisticamente significativi né per PAR ($p=0,9775$), né per PRO ($p=0,8651$) come evidenziato dalla *Figura 4*.

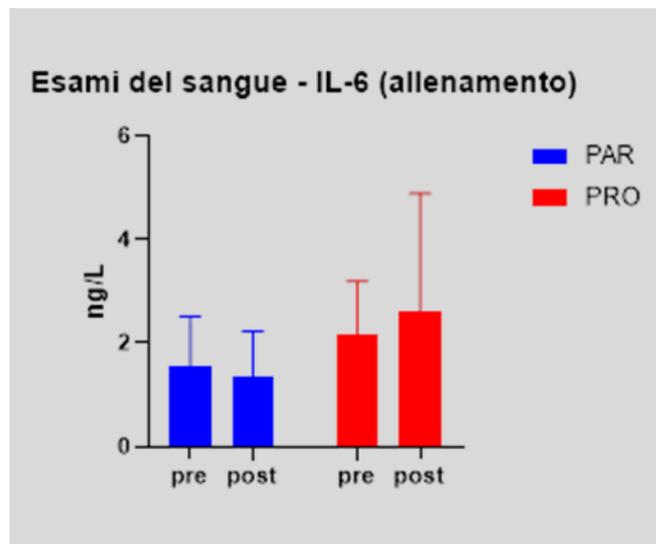


Figura 4: Il grafico descrive i dati dell'IL-6.

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sull'IL-6 (Figura 5). Dall'analisi sono emersi effetti significativi per il fattore supplemento ($p=0,0418$).

Alla successiva analisi post hoc di Šidák, non appaiono però effetti statisticamente significativi né per PAR ($p=0,0603$), né per PRO ($p=0,9161$).

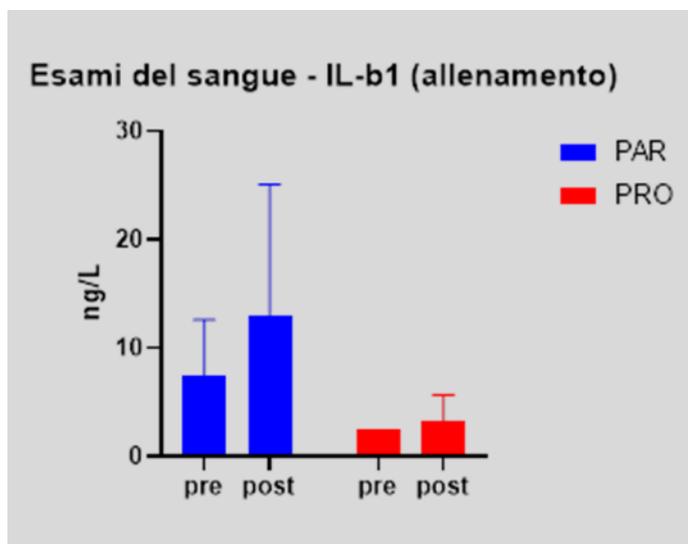


Figura 5: Il grafico descrive i dati dell'IL-1b.

Il test Two-way ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per esaminare l'effetto del fattore supplemento e dell'allenamento sul $TNF\alpha$ (Figura 6). Dall'analisi è emersa un'interazione tra i due fattori allenamento e supplemento con $p=0,0160$. Con l'analisi del post hoc di Šidák, è emerso un effetto statisticamente significativo per il fattore supplemento nel gruppo PAR con $p=0,0313$, mentre nel gruppo PRO non si sono riscontrati effetti statisticamente significativi ($p=0,4696$).

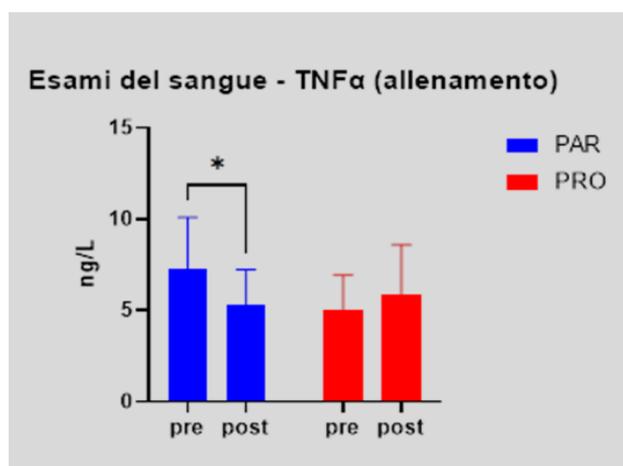


Figura 6: Il grafico descrive i dati del $TNF\alpha$.

DISCUSSIONE

Lo scopo di questo progetto era verificare l'efficacia di un supplemento alimentare come quello del Parmigiano Reggiano nella risposta a 12 settimane di esercizio eccentrico in anziani sani. Essendo un prodotto ad alto valore biologico, contenente tutti gli aminoacidi essenziali e con alte concentrazioni di SCFA (Short Chain Fatty Acid), ci aspettavamo che abbinare il consumo regolare di Parmigiano Reggiano all'esercizio di tipo eccentrico potesse migliorare la risposta muscolare in termini sia di massa muscolare che di forza. Dato il ruolo antinfiammatorio degli SCFA, ci aspettavamo inoltre che il regolare consumo di Parmigiano Reggiano, abbinato alla pratica costante di attività fisica, inducesse una riduzione a livello sistemico dei principali markers infiammatori, tipicamente elevati nella popolazione anziana.

Come riportato da diversi studi, l'allenamento della forza, tramite il Resistance Training, combatte i processi d'invecchiamento rallentando e/o prevenendo la degenerazione delle capacità cognitive e fisiche (Agaard et al., 2010). Inoltre, diverse prove dimostrano come la popolazione anziana necessiti di maggiori quantità di proteine rispetto ai giovani, per compensare le condizioni infiammatorie e cataboliche associate alle malattie croniche e acute che si verificano comunemente con l'invecchiamento (Rousset et al., 2003), per garantire il benessere fisico e per prevenire la riduzione delle capacità fisiche (Symons et al., 2009). Mettendo a confronto il gruppo PAR e PRO volevamo verificare se un supplemento come il Parmigiano Reggiano potesse appunto sostituirne degli altri per bilanciare l'apporto proteico e combattere l'infiammazione cronica nella popolazione anziana.

1. Capacità funzionali

I risultati emersi in seguito all'analisi statistica dei dati riguardanti la funzionalità fisica, hanno riportato aumenti statisticamente significativi nella performance del cammino e del sit to stand e aumenti nel carico per il 1RM test. Questi dati si possono ritenere soddisfacenti in quanto in seguito a tre mesi di allenamento eccentrico, ci aspettavamo un aumento della forza e un aumento della velocità del passo. I punteggi totali degli SPPB non hanno però evidenziato modifiche statisticamente significative. Confrontando questi ultimi dati con lo studio svolto

da Amasene et al., del 2019, possiamo notare un aumento significativo nel punteggio totale degli SPPB. Tuttavia, i soggetti che hanno preso parte a quello studio partivano da un punteggio totale <10, mentre nel nostro studio presentavano un punteggio totale >10. Inoltre, i soggetti selezionati per lo studio di Amasene et al., avevano un'età >80 anni con precedente ospedalizzazione. I nostri soggetti presentavano quindi un maggiore stato di salute in partenza e con un margine di miglioramento inferiore rispetto ai soggetti dello studio sopracitato. Per quanto riguarda la performance dell'hand grip, non abbiamo riscontrato cambiamenti statisticamente significativi, andando in linea ai risultati dello studio di Leenders et al., i quali affermano che la forza di presa della mano non rappresenta un valore clinicamente valido per descrivere modifiche funzionali in seguito ad un protocollo di resistance training nella popolazione anziana.

2. Composizione corporea

I risultati mostrano un aumento della massa muscolare statisticamente significativo per quanto riguarda il fattore allenamento, che per il gruppo PRO è risultato significativo e pari al +3,21%, mentre è emerso un aumento non statisticamente significativo per il gruppo PAR del +2,01%. Non si è raggiunta la significatività nel gruppo PAR probabilmente perché tre soggetti su sette hanno diminuito la massa muscolare. Al momento non disponiamo di dati sufficienti per giustificare questo mancato miglioramento, ed ulteriori indagini saranno necessarie. Ad ogni modo, la media di miglioramento osservata durante le 12 settimane di allenamento è al momento in linea con quanto presente in letteratura, soprattutto in considerazione che i soggetti reclutati erano inesperti e non allenati. Altri studi (Nabuco et al., 2018) nei quali è stato utilizzato un protocollo di allenamento simile al nostro, hanno evidenziato un aumento della massa muscolare di $+3,4 \pm 2,9\%$. Possiamo quindi affermare che da questo punto di vista, il nostro studio va in parallelo ad altri studi già effettuati in quanto l'aumento della massa muscolare è pressoché simile. L'utilizzo della BIA ci ha permesso di valutare lo status d'idratazione dei soggetti considerando l'acqua corporea totale, l'acqua corporea extracellulare, l'acqua corporea intracellulare e l'angolo di fase. Quest'ultimo è un indice utilizzato

cl clinicamente come marker di stato fisico e di integrità cellulare: normalmente gli anziani presentano valori inferiori rispetto a soggetti giovani a causa di stati di malnutrizione e disidratazione. I risultati del presente studio non hanno evidenziato cambiamenti significativi; anche qui c'è da sottolineare che i partecipanti allo studio non risultavano clinicamente compromessi.

Non avendo voluto modificare la dieta alimentare nei soggetti che hanno partecipato al nostro studio, è importante evidenziare come l'aumento dell'apporto calorico legato all'introduzione del Parmigiano Reggiano nella dieta giornaliera, non abbia causato un aumento della massa grassa nei soggetti appartenenti al gruppo PAR. Da un punto di vista osseo, non ci aspettavamo particolari cambiamenti; era interessante verificare se l'assunzione giornaliera di calcio, presente nel Parmigiano Reggiano, per 12 settimane, potesse influenzare in qualche modo i valori della densità minerale ossea. I risultati non hanno però evidenziato cambiamenti, andando così a confermare quanto già conosciuto, cioè che per avere cambiamenti osteogenici, 12 settimane di resistance training non sono sufficienti, come specificato anche nello studio di Watson et al., del 2018.

3. Dati ematici

I risultati non hanno dimostrato cambiamenti statisticamente significativi per quanto riguarda i valori glicemici. Tuttavia, dall'analisi statistica si nota un leggero rialzo di questi, sia nel gruppo PRO, sia nel gruppo PAR. Non avendo modificato la dieta dei soggetti, ci saranno altri fattori che possono motivare questo leggero cambiamento.

È interessante invece notare che, nonostante l'aumento della percentuale di grassi nella dieta data dall'assunzione del Parmigiano Reggiano, i valori delle lipoproteine non è stata alterata. La concentrazione di colesterolo è un indice strettamente controllato nella popolazione anziana, perché un eccesso di grasso può promuovere insulina resistenza contribuendo così allo sviluppo di aterosclerosi e aumentare il rischio di incorrere in disturbi cardiovascolari (CVDs) (Tortosa et al., 2017). I risultati evidenziano però come non ci siano stati cambiamenti statisticamente

significativi sui valori di HDL, LDL e trigliceridi, sostenendo quindi la scelta del Parmigiano Reggiano come supplemento alimentare sicuro e promettente.

Per la creatinina si può notare un'interazione tra i fattori allenamento e supplemento, ma all'analisi del multiple comparisons non si evidenzia alcuna significatività statistica. È importante evidenziare che è presente un leggero aumento dei valori basali della creatinina nel gruppo PRO e una diminuzione nel gruppo PAR, legata probabilmente ai cambiamenti di massa muscolare.

I risultati non hanno evidenziato aumenti statisticamente significativi per quanto riguarda l'IGF-1. Essendo l'IGF-1 (Insuline-like growth factor) un fattore di crescita cellulare, ci aspettavamo un aumento dei suoi valori in seguito a tre mesi di allenamento eccentrico, ipotizzando anche un aumento della massa muscolare. Tuttavia, non ci sono stati aumenti importanti in termini di massa muscolare, giustificando i valori emersi in seguito alle analisi dell'IGF-1.

La popolazione anziana è soggetta a inflammaging, una situazione infiammatoria cronica provocata da un continuo carico antigenico e da elementi stressanti esterni di diversa natura (Franceschi et al., 2000). Si è visto come diverse persone a livello genetico siano meno capaci di altre nel combattere, a livello immunitario, questi elementi stressanti, e di conseguenza saranno più predisposti all'inflammaging, e quindi a patologie come l'aterosclerosi, osteoporosi, diabete e Alzheimer (Franceschi, et al., 2000). Lo stato infiammatorio acuto e transitorio ha effetti benefici in seguito a lesioni dei tessuti, attivando quei processi adattativi che portano ad una più efficace risposta rigenerativa. Quando però lo stato infiammatorio diventa cronico e persistente, l'organismo non riesce a rispondere fisiologicamente allo stimolo stressante, come l'esercizio fisico, e conseguentemente ci sarà una degenerazione dei tessuti (Franceschi et al., 2000). Nella review di Tortosa et al., del 2017, è descritto l'utilizzo di omega-3 ed altri acidi grassi come strumento per combattere lo stato infiammatorio. Si è visto infatti come l'utilizzo di omega-3 diminuisca i valori dei markers infiammatori come il TNF α e IL-6 e abbia un rapporto inversamente proporzionale con l'obesità, e i disturbi cardiovascolari (CVDs). Nel nostro studio abbiamo voluto analizzare l'IL-

1b, l'IL-6 e il TNF α , perché sono i principali marker infiammatori che vengono controllati per valutare lo status infiammatorio. I risultati hanno evidenziato significatività statistica per il fattore supplemento per il marker TNF α nel gruppo PAR, abbassandone i valori. Dal grafico dell'IL-6 si può notare come anche se non è presente una significatività statistica, i valori si sono abbassati nel gruppo PAR, mentre nel gruppo PRO i valori sono leggermente aumentati. Per quanto riguarda l'IL-1b, i risultati non hanno evidenziato cambiamenti statisticamente significativi. Tuttavia, è da notificare che nella maggior parte dei soggetti, all'analisi dei dati ematici, i valori dell'IL-1b erano al di sotto dei valori minimi legati alla sensibilità dello strumento, e al momento della distribuzione randomizzata dei soggetti, questi siano stati collocati nel gruppo PRO, facendo sì che i soggetti appartenenti al gruppo PAR partissero con i valori dell'IL-1b più alti. Involontariamente si è creata così una disparità, rendendo difficile interpretare i risultati. Alla luce di questi risultati sembrerebbe che sia possibile utilizzare il Parmigiano Reggiano come supplemento per ridurre lo status infiammatorio cronico che colpisce la popolazione anziana, limitandone i disturbi correlati.

CONCLUSIONE

Questo studio voleva verificare l'efficacia di un supplemento alimentare come quello del Parmigiano Reggiano nella risposta a 12 settimane di esercizio eccentrico in anziani sani. I risultati non hanno evidenziato nessun effetto del Parmigiano Reggiano in termini di aumento della forza muscolare e modifiche della composizione corporea. Tuttavia, ci sono state delle diminuzioni dei valori dei marker infiammatori come il TNF α e l'IL-6. Essendo il Parmigiano Reggiano un alimento ricco di proteine ad alto valore biologico, facilmente reperibile e un ottimo insaporitore, possiamo affermare che l'utilizzo cronico di questo alimento può sostituire altre tipologie di supplementazioni con lo scopo di diminuire lo status infiammatorio nella popolazione anziana.

BIBLIOGRAFIA

1. Aagaard, Per, et al. "Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure." *Scandinavian journal of medicine & science in sports* 20.1 (2010): 49-64.
2. Abbott, B. C., Bigland, B., and Ritchie, J. M. (1952). The physiological cost of negative work. *J. Physiol.* 117, 380–390.
3. Amasene, Maria, et al. "Effects of Leucine-enriched whey protein supplementation on physical function in post-hospitalized older adults participating in 12-weeks of resistance training program: A randomized controlled trial." *Nutrients* 11.10 (2019): 2337.
4. Barash, I. A., Mathew, L., Ryan, A. F., Chen, J., and Lieber, R. L. (2004). Rapid muscle-specific gene expression changes after a single bout of eccentric contractions in the mouse. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 286, C355–C364.
5. Beasley, Jeannette M., et al. "Biomarker-calibrated protein intake and physical function in the Women's Health Initiative." *Journal of the American Geriatrics Society* 61.11 (2013): 1863-1871.
6. Biolo, Gianni, et al. "Inverse regulation of protein turnover and amino acid transport in skeletal muscle of hypercatabolic patients." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87.7 (2002): 3378-3384.
7. Bonjour JP, Benoit V, Pourchaire O, Rousseau B, Souberbielle JC. Nutritional approach for inhibiting bone resorption in institutionalized elderly women with vitamin D insufficiency and high prevalence of fracture. *J Nutr Health Aging.* 2011; 15:404–9.
8. Brzycki, Matt. "Strength testing—predicting a one-rep max from reps-to-fatigue." *Journal of physical education, recreation & dance* 64.1 (1993): 88-90.
9. Cannella C, Pizzoferrato L. Dossier: Parmigiano Reggiano: a naturally functional product. Rome, Italy: National Research Institute for Food and Nutrition (INRAN); 2008. Available from: storage.parmigiano-reggiano.it/file/Dossier_PR_20100222_1–27.pdf (in Italian).

10. Chargé, Sophie BP, and Michael A. Rudnicki. "Cellular and molecular regulation of muscle regeneration." *Physiological reviews* 84.1 (2004): 209-238.
11. Chen, Y. W., Nader, G. A., Baar, K. R., Fedele, M. J., Hoffman, E. P., and Esser, K. A. (2002). Response of rat muscle to acute resistance exercise defined by transcriptional and translational profiling. *J. Physiol.* 545(Pt 1), 7–41.
12. Coffey, V. G., and Hawley, J. A. (2007). The molecular bases of training adaptation. *Sports Med.* 37, 737–763.
13. Coudreuse, J. M., P. Dupont, and C. Nicol. "Delayed post effort muscle soreness." *Annales de réadaptation et de médecine physique: revue scientifique de la Société française de rééducation fonctionnelle de réadaptation et de médecine physique.* Vol. 47. No. 6. 2004.
14. Cuthbertson, Daniel, et al. "Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle." *The FASEB Journal* 19.3 (2005): 1-22.
15. Dreyer, Hans C., et al. "Chronic paraplegia-induced muscle atrophy downregulates the mTOR/S6K1 signaling pathway." *Journal of applied physiology* 104.1 (2008): 27-33.
16. Duchateau, J., and Baudry, S. (2014). Insights into the neural control of eccentric contractions. *J. Appl. Physiol.* 116, 1418–1425. doi: 10.1152/jappphysiol.00002.2013.
17. Faulkner, John A., et al. "Age-related changes in the structure and function of skeletal muscles." *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 34.11 (2007): 1091-1096.
18. Franceschi and J. Campisi Chronic inflammation (Inflammaging) and its potential contribution to age associated diseases *Journal of Gerontology A biol Sci Med Sci* (2104).
19. Franceschi et al. Inflammaging An evolutionary perspective on Immunosenescence *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 908, 244-254, (2000).

20. Franchi, M. V., Atherton, P. J., Reeves, N. D., Fluck, M., Williams, J., Mitchell, W. K., et al. (2014). Architectural, functional and molecular responses to concentric and eccentric loading in human skeletal muscle. *Acta Physiol.* 210, 642–654. doi: 10.1111/apha.12225.
21. Franchi, M. V., Mitchell, K. W., Hoppeler, H., and Narici, M. V. (2017a). Editorial: physiology and clinical potential of eccentric exercise. *Front. Physiol.* 8:891. doi: 10.3389/fphys.2017.00891.
22. Friden, J., and Lieber, R. L. (1992). Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med. Sci. Sports Exerc.* 24, 521–530.
23. Fujita, Satoshi, et al. "Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis." *The Journal of physiology* 582.2 (2007): 813-823.
24. Fulgoni III, Victor L. "Current protein intake in America: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004." *The American journal of clinical nutrition* 87.5 (2008): 1554S-1557S.
25. Garini L, Verduci E, Scaglioni S, Bernasconi S. Nutrition in childhood. Update on nutritional aspects of ParmigianoReggiano cheese. Proceedings of the conference Acquisitions related to the nutritional value of Parmigiano-Reggiano cheese; 2008 March 8; Reggio Emilia, Italy; 2008. pp. 7–56 (in Italian).
26. Gerson E R Campos, Department of Biomedical Sciences, College of Osteopathic Medicine, Ohio University, Irvine Hall, rm 430, Athens, OH 45701, USA (2002).
27. Gray-Donald, Katherine, et al. "Protein intake protects against weight loss in healthy community-dwelling older adults." *The Journal of nutrition* 144.3 (2014): 321-326.
28. Gregorio, Leah, et al. "Adequate dietary protein is associated with better physical performance among post-menopausal women 60–90 years." *The journal of nutrition, health & aging* 18.2 (2014): 155-160.

29. Guilhem, G., Cornu, C., and Guevel, A. (2010). Neuromuscular and muscle-tendon system adaptations to isotonic and isokinetic eccentric exercise. *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 53, 319–341. doi: 10.1016/j.rehab.2010.04.003.
30. Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 27:104–119.
31. Hoppeler, Hans. "Moderate load eccentric exercise; a distinct novel training modality." *Frontiers in physiology* 7 (2016): 483.
32. Hortobagyi, T., and Katch, F. I. (1990). Eccentric and concentric torque-velocity relationships during arm flexion and extension. Influence of strength level. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 60, 395–401.
33. Hyldahl, R. D., and Hubal, M. J. (2014). Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle Nerve* 49, 155–170. doi: 10.1002/mus.24077.
34. Jensen RG. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci.* 2002; 85:295–350. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4).
35. Jones, C. Jessie, and Debra J. Rose. Physical activity instruction of older adults. *Human Kinetics*, 2005.
36. Julian, V., Thivel, D., Costes, F., Touron, J., Boirie, Y., Pereira, B., et al. (2018). Eccentric training improves body composition by inducing mechanical and metabolic adaptations: a promising approach for overweight and obese individuals. *Front. Physiol.* 9:1013. doi: 10.3389/fphys.2018.01013.
37. Katsura, Y., Takeda, N., Hara, T. et al. Comparison between eccentric and concentric resistance exercise training without equipment for changes in muscle strength and functional fitness of older adults. *Eur J Appl Physiol* 119, 1581–1590 (2019).
38. Koopman, René, and Luc JC van Loon. "Aging, exercise, and muscle protein metabolism." *Journal of applied physiology* 106.6 (2009): 2040-2048.

39. Kostek, M. C., Chen, Y. W., Cuthbertson, D. J., Shi, R., Fedele, M. J., Esser, K. A., et al. (2007). Gene expression responses over 24 h to lengthening and shortening contractions in human muscle: major changes in CSRP3, MUSTN1, SIX1, and FBXO32. *Physiol. Genomics* 31, 42–52.
40. Kratz M, Baars T, Guyenet S. The relationship between highfat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur J Nutr.* 2013; 52:1–24. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0418-1>.
41. LaStayo, P. C., Woolf, J. M., Lewek, M. D., Snyder-Mackler, L., Reich, T., and Lindstedt, S. L. (2003b). Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* 33, 557–571.
42. Leenders, Marika, et al. "Elderly men and women benefit equally from prolonged resistance-type exercise training." *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences* 68.7 (2013): 769-779.
43. Lieber, R. L., and Friden, J. (1993). Muscle damage is not a function of muscle force but active muscle strain. *J. Appl. Physiol.* 74, 520–526.
44. Lieber, R. L., and Friden, J. (1999). Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *J. Sci. Med. Sport* 2, 253–265.
45. Lindstedt, S. L., LaStayo, P. C., and Reich, T. E. (2001). When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions. *News Physiol. Sci.* 16, 256–261.
46. Liu, C. J., & Latham, N. K. (2009). Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults. *Cochrane database of systematic reviews*, (3).
47. McLeod M, Breen L, Hamilton DL, Philp A. Live strong and prosper: the importance of skeletal muscle strength for healthy ageing. *Biogerontology.* 2016 Jun;17(3):497-510.
48. Morgan, D. L. (1990). New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys. J.* 57, 209–221.

49. Nabuco, Hellen CG, et al. "Effects of whey protein supplementation pre-or post-resistance training on muscle mass, muscular strength, and functional capacity in pre-conditioned older women: a randomized clinical trial." *Nutrients* 10.5 (2018): 563.
50. Neil D Reeves, Constantinos N Maganaris, Stefano Longo, Marco Narici et al., 2009, Institute for Biomedical Research into Human Movement & Health, Manchester Metropolitan University, John Dalton Building, Oxford Road, Manchester M1 5GD, UK.
51. Overend, T. J., Versteegh, T. H., Thompson, E., Birmingham, T. B., and Vandervoort, A. A. (2000). Cardiovascular stress associated with concentric and eccentric isokinetic exercise in young and older adults. *J. Gerontol. Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 55, B177–B182.
52. Paddon-Jones, Douglas, and Blake B. Rasmussen. "Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia: protein, amino acid metabolism and therapy." *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 12.1 (2009): 86.
53. Pampaloni B, Bartolini E, Brandi ML. Parmigiano-Reggiano cheese and bone health. *Clinical Cases Mineral Bone Metab.* 2011; 8:33–6.
54. Pancaldi M, Mariotti I, Balli F. Intestinal inflammation in nursing infants: different causes and a single treatment... but of protected origin. *Acta Biomed.* 2008; 79:144–50.
55. Paoli, A., Neri, M., & Bianco, A. (2013). *Principi di metodologia del fitness* (Vol. 2). Erika Edizioni.
56. Reeves, N. D., Maganaris, C. N., Longo, S., and Narici, M. V. (2009). Differential adaptations to eccentric versus conventional resistance training in older humans. *Exp. Physiol.* 94, 825–833. doi: 10.1113/expphysiol.2009.046599.
57. Roig, M., O'Brien, K., Kirk, G., Murray, R., McKinnon, P., Shadgan, B., et al. (2009). The effects of eccentric versus concentric resistance training on muscle

- strength and mass in healthy adults: a systematic review with meta-analysis. *Br. J. Sports Med.* 43, 556–568. doi: 10.1136/bjism.2008.051417.
58. Rousset, Sylvie, et al. "Daily protein intakes and eating patterns in young and elderly French." *British Journal of Nutrition* 90.6 (2003): 1107-1115.
 59. Rowe, J. W. and Kahn, R. L. (1987). Human aging: usual and successful. *Science*, 237, 143–149.
 60. Schoenfeld, B. J., Ogborn, D. I., Vigotsky, A. D., Franchi, M. V., and Krieger, J. W. (2017). Hypertrophic effects of concentric vs. eccentric muscle actions: a systematic review and meta-analysis. *J. Strength. Cond. Res.* 31, 2599–2608. doi: 10.1519/JSC.0000000000001983.
 61. Shijin Xia et al An update on Inflammaging: mechanism prevention and treatment *Journal of Immunology Research* (2016).
 62. Sivaprakasam, Sathish, Puttur D. Prasad, and Nagendra Singh. "Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis." *Pharmacology & therapeutics* 164 (2016): 144-151.
 63. Symons, T. Brock, et al. "A moderate serving of high-quality protein maximally stimulates skeletal muscle protein synthesis in young and elderly subjects." *Journal of the American Dietetic Association* 109.9 (2009): 1582-1586.
 64. Talbot, J. A., and Morgan, D. L. (1998). The effects of stretch parameters on eccentric exercise-induced damage to toad skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 19, 237–245.
 65. Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., & Macia, L. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Advances in immunology*, 121, 91-119.
 66. Tortosa-Caparrós, Esther, et al. "Anti-inflammatory effects of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease and metabolic syndrome." *Critical reviews in food science and nutrition* 57.16 (2017): 3421-3429.

67. Watson, Steven L., et al. "High-intensity resistance and impact training improves bone mineral density and physical function in postmenopausal women with osteopenia and osteoporosis: the LIFTMOR randomized controlled trial." *Journal of Bone and Mineral Research* 33.2 (2018): 211-220.
68. Wayne L Westcott, 2012, Department of Exercise Science, Quincy College, Quincy, MA 02169, USA.
69. WHO, Joint. "Protein and amino acid requirements in human nutrition." *World Health Organization technical report series* 935 (2007): 1.
70. Wolfe, Robert R., and Sharon L. Miller. "The recommended dietary allowance of protein: a misunderstood concept." *Jama* 299.24 (2008): 2891-2893.