

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO
EMILIA

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con
Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa (CHIMOMO)

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale

in

SALUTE E SPORT

(Presidente: Prof.ssa Milena Nasi)

**Effetti dell'allenamento in condizioni ipobariche sulla funzione
mitocondriale e sullo stress ossidativo negli atleti**

Relatore: Prof.ssa Milena Nasi

Studente: Rosa Pia Mascolo

Correlatori: Dottoressa Valentina Selleri

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	5
1.1 L'altitudine e le variazioni di PO ₂	5
1.2 L'ipobarismo e i suoi effetti.....	6
1.3 L'allenamento ipossico intermittente (IHT).....	8
1.4 Elevation training mask.....	10
1.5 Normativa.....	11
2. SCOPO DELLA TESI.....	12
3. MATERIALI & METODI.....	13
3.1 Selezione e arruolamento dei soggetti.....	13
3.2 Protocollo di allenamento.....	13
3.3 Raccolta parametri cardiovascolari.....	14
3.4 Processazione dei campioni ematici.....	14
3.5 Analisi dello stress ossidativo nei monociti.....	15
3.6 Analisi dell'attività mitocondriale.....	15
3.8 Analisi statistica.....	16
4. RISULTATI.....	17
4.1 Risultati dei 5 parametri vitali fondamentali.....	17
4.2 Risultati delle analisi ematochimiche.....	18

4.3 Radicali liberi dell'ossigeno (ROS).....	20
4.5 Creatina chinasi.....	21
4.6 Estradiolo.....	22
 5. <i>DISCUSSIONE</i>	 23
 6. <i>LIMITAZIONI</i>	 25
 7. <i>CONCLUSIONE</i>	 26
 <i>BIBLIOGRAFIA</i>	 27

1. INTRODUZIONE

1.1 L'altitudine e le variazioni di PO_2

L'altitudine rappresenta la distanza verticale di un punto rispetto al livello medio del mare (s.l.m.). In ambito fisiologico e sportivo, di particolare interesse sono le cosiddette “alte quote”, generalmente comprese tra i tremila e i cinquemila metri s.l.m. e nelle quali si verificano significative modificazioni delle condizioni atmosferiche (1). In particolare, ciò che rappresenta una vera e propria sfida fisiologica è la progressiva riduzione della pressione parziale di ossigeno (PO_2) nell'ambiente.

Questo fenomeno non è dovuto a un calo della quantità delle molecole di ossigeno presenti nell'aria, che rimane invariata (20,93%) così come quelle degli altri gas presenti in atmosfera, ma dipende esclusivamente dalla minore quantità di pressione atmosferica (o barometrica) esercitata su tali molecole (1).

Infatti, la pressione parziale di ossigeno si può calcolare moltiplicando la pressione barometrica con la percentuale di ossigeno presente nell'aria.

$$PO_2 = \text{pressione atmosferica} \times 0,2093$$

La pressione atmosferica è fondamentale per poter aiutare il corpo ad estrarre l'ossigeno dall'aria e trasportarlo ai tessuti, e diminuisce con l'aumentare dell'altitudine (2).

Altitudine (mt)	0 mt s.l.m.	1610 mt	2210 mt	4300 mt	8848 mt
Pressione barometrica (mmHg)	760	631	585	430	253
% O_2	20.93 %	20.93 %	20.93 %	20.93 %	20.93 %
PO_2	159	132	122	90	53
Temperatura (C°)	15°	9°	2°	-11°	-43°

Tabella 1. Variazioni delle condizioni ambientali e della pressione parziale di ossigeno a differenti altitudini.

1.2 L'ipobarismo e i suoi effetti

L'alta quota, cioè un ambiente ipobarico, può causare lo sviluppo di ipossia ipossica, una condizione in cui si ha una carenza di ossigenazione a livello alveolare che porta a sua volta a un ridotto apporto di ossigeno ai tessuti corporei. I sintomi più comuni che un soggetto avverte in stato di ipossia sono respiro affannoso, aumento della frequenza cardiaca, confusione, cianosi, affaticamento e debolezza (2).

Il corpo per poter far fronte all'ipobarismo e mantenere l'omeostasi, mette in atto dei cambiamenti sia fisiologici sia metabolici, che fanno parte dei processi di acclimatazione in quota. Gli adattamenti richiedono un determinato lasso di tempo per diventare efficaci e questo varia in base all'altitudine alla quale ci si trova. Inoltre, ogni volta che si aumenta la quota, è necessario attendere ulteriore tempo affinché l'organismo possa sviluppare e consolidare nuovi adattamenti (3).

Gli adattamenti si dividono in due gruppi. Il primo comprende i due principali cambiamenti corporei che avvengono appena si è in alta quota:

1. Aumento della ventilazione: il corpo possiede dei recettori, chiamati chemocettori periferici, che sono sensibili alla riduzione della PO_2 e all'aumento della pressione parziale di anidride carbonica (PCO_2) e si trovano nelle arterie carotidee e nell'arco aortico.
In un ambiente ipobarico (sopra i 2000 metri) questi recettori sono molto stimolati e ciò comporta un aumento del drive respiratorio per favorire l'iperventilazione. Si genera quindi un incremento immediato della ventilazione polmonare dovuto soprattutto all'aumento del volume corrente. L'aumento della ventilazione aiuta il corpo a mantenere il livello di ossigeno corporeo stabile, ma a discapito di una ridotta concentrazione di anidride carbonica corporea (ipercapnia) (1). Questo porta a una condizione nota come alcalosi respiratoria, in cui il pH ematico è superiore a 7,45 e ha due effetti: sposta la curva dell'ossiemoglobina verso sinistra rendendo l'emoglobina più affine all'ossigeno, ma rilasciandolo con maggiore difficoltà ai tessuti; impedisce che la ventilazione aumenti ulteriormente a causa dello stimolo ipossico durante uno sforzo massimale rendendola simile a quella s.l.m. (1,3).
2. Aumento dell'attività cardiaca: in alta quota si osserva un incremento dell'attività simpatico-adrenergica che favorisce il rilascio di catecolamine, in particolare noradrenalina e adrenalina. Quest'ultima contribuisce all'aumento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca determinando un incremento della gittata cardiaca, mentre il volume sistolico tende a rimanere pressoché invariato.

Il secondo gruppo di adattamenti è formato da tutti quei cambiamenti che avvengono dopo un'esposizione prolungata all'alta quota:

1. Regolazione dell'equilibrio acido-base: a causa dell'iperventilazione causata dall'ipossia acuta, la pressione parziale di anidride carbonica si abbassa e i valori del pH si alzano. Per tale ragione il rene è stimolato ad eliminare lo ione bicarbonato plasmatico attraverso le urine, rendendole più alcaline. Questo meccanismo è chiamato compensazione metabolica per l'alcalosi metabolica, e serve a far ritornare ai valori normali il rapporto tra bicarbonato e anidride carbonica (4).
2. Paradosso del lattato: questa definizione è stata utilizzata per la prima volta nel 1981 dopo una spedizione medica americana sul monte Everest in cui si verificarono basse concentrazioni di lattato ematico in soggetti acclimatati che pedalavano su cyclette a 6300 metri di altitudine (5). Il termine "paradosso" si riferisce al fatto che i livelli di lattato, anziché aumentare a causa della ridotta presenza di ossigeno, diminuiscono durante l'esercizio fisico in un soggetto acclimatato rispetto a una persona esposta a ipossia acuta (6).
3. Cambiamenti ematici: nelle prime ore in alta quota si verifica una diminuzione del volume plasmatico dovuto allo spostamento dei liquidi corporei dallo spazio intravascolare agli spazi intracellulari, comportando una diminuzione della gittata cardiaca sub massimale e massimale (1). Durante le prime due settimane in alta quota, il numero totale dei globuli rossi nel sangue aumenta perché la ridotta pressione parziale di ossigeno stimola i reni, già durante le prime tre ore di esposizione all'alta quota, a rilasciare alti livelli di eritropoietina (EPO), un ormone che favorisce l'eritropoiesi (cioè la formazione di globuli rossi). Nonostante dopo circa un mese i livelli di eritropoietina tornino ai livelli basali, la policitemia, una condizione caratterizzata dall'aumento di eritrociti, continua a essere marcata anche per più di tre mesi. Tutto ciò si traduce in un aumento dell'ematocrito, ovvero la percentuale di volume plasmatico composto da eritrociti (3).

Infatti, se andassimo a comparare le percentuali di ematocrito medio tra i soggetti che vivono in alta quota (Ande Centrali, 4549 mt) e tra quelli residenti s.l.m. potremmo notare che il primo gruppo ha un ematocrito medio del 60-65% rispetto al secondo che è solo del 45-48%. Tuttavia, dopo sei settimane di esposizione all'alta quota, anche i soggetti provenienti dal livello del mare mostrano un incremento dell'ematocrito fino al 59% (3).

In relazione alla policitemia, aumenta anche la concentrazione di emoglobina (Hb) nel sangue, la quale tende ad accrescere in modo proporzionale con l'aumentare dell'altitudine in cui le persone vivono. Grazie a tali adattamenti, sia la gittata cardiaca massima e il volume di consumo di ossigeno massimo aumentano, ma le prestazioni non raggiungono generalmente

i livelli osservati s.l.m. Inoltre vi è un aumento della concentrazione di 2,3 difosfoglicerato nei globuli rossi che sposta la curva dell'ossiemoglobina verso destra, rendendo l'emoglobina meno affine all'ossigeno e facilitandone così il suo rilascio ai tessuti (1,3).

I mitocondri sono la “centrale energetica” della cellula, al loro interno avviene la fosforilazione ossidativa ed i processi di trasformazione dell'energia (7).

In base alla loro localizzazione all'interno della cellula, i mitocondri vengono classificati in:

- Mitocondri intermiofibrillari, che si trovano tra le fibre contrattili del muscolo e sono quelli più numerosi.
- Mitocondri subsarcolemmali, che si trovano tra il sarcolemma e le miofibrille più esterne.

I mitocondri formano una rete interconnessa la cui funzione è quella di garantire l'omeostasi metabolica e bioenergetica utilizzando il metabolismo aerobico (8). Gli adattamenti mitocondriali dipendono dalla durata dell'esposizione all'alta quota e dalla quantità di mitocondri intermiofibrillari (8). Dallo studio di Schytz et al. (8) si sono potuti notare gli adattamenti mitocondriali generati da un ambiente ipossico. Sono stati arruolati 9 residenti s.l.m. fisicamente attivi e sani, e successivamente esposti a un'altitudine di 3454 metri per 28 giorni (8). Dopo 7 giorni e a fine esperimento sono state fatte delle biopsie al muscolo vasto laterale per vedere se ci sono state o meno delle variazioni a livello mitocondriale. Dai risultati si è potuto notare un aumento del volume dei mitocondri intermiofibrillari e una diminuzione del volume dei mitocondri subsarcolemmali, mentre il volume totale mitocondriale risultava aumentato. Al contrario, la densità delle creste mitocondriali ha subito un decremento, ma, nonostante ciò, la fosforilazione ossidativa non è risultata compromessa (8).

1.3 L'allenamento ipossico intermittente (IHT)

Nei Giochi Olimpici del 1968 a Città del Messico, situata a 2400 metri, si è potuto notare il dominio degli atleti acclimatati all'altitudine. È da quel momento che si è diffusa la teoria dell'allenamento in alta quota, per sfruttare gli adattamenti indotti da un ambiente ipossico al fine di migliorare la performance, soprattutto per gli sport di endurance (9).

Negli anni sono stati sviluppati diversi metodi di allenamento che includono l'altitudine:

- “*Live High - Train High*” (LHTH), questo protocollo prevede di vivere e allenarsi a quote moderate, tra circa i 1800 e 2500 metri, per diverse settimane (10). Porta a un miglioramento del massimo consumo di ossigeno (VO_2 max) grazie agli adattamenti ematici, ma il limite è quello di non potersi allenare a intensità troppo elevate rispetto a

quelle utilizzate ai livelli del mare e di poter causare un piccolo decondizionamento negli atleti di élite (11).

- “*Live High – Train Low*” (LHTL), questo protocollo è nato dall’ipotesi di poter stimolare gli adattamenti fisiologici indotti dall’ipossia facendo vivere gli atleti a quote moderate (2500 metri) e facendoli allenare a bassa quota (1500 metri), così da evitare il rischio di decondizionamento associato all’esercizio ipossico (12). Nello studio di Levine et al. (12) è stato osservato un miglioramento del $\text{VO}_2 \text{ MAX}$, attribuito agli adattamenti indotti dall’ambiente ipossico. Tali adattamenti hanno determinato un trasferimento positivo sulla performance degli atleti s.l.m. rispetto ai soggetti che vivevano e si allenavano ad alta quota (12).
- “*Intermittent Hypoxic Exposure*” (IHE), è definita come un’esposizione all’ipossia dalla durata da pochi secondi a diverse ore. Questi episodi di ipossia intermittente sono separati da un ritorno alla normossia o a livello di ipossia inferiore (10).

L’esposizione ipossica intermittente combinata con sessioni di allenamento in ipossia è definito allenamento ipossico intermittente (IHT), in cui durante l’allenamento si alternano periodi di ipossia a periodi di normossia (10).

Nello studio di Cuzba et al. (13) sono stati analizzati gli effetti IHT sulle capacità aerobiche e sulla prestazione di endurance, dividendo 20 ciclisti di élite in due gruppi: un gruppo sperimentale formato da 10 ciclisti che dovevano allenarsi in un ambiente ipossico normobarico, un gruppo di controllo formato da 10 ciclisti che dovevano allenarsi in condizioni normossiche. Alla fine delle tre settimane di allenamento il gruppo sperimentale ha migliorato in modo significativo la capacità aerobica e la prestazione di endurance, grazie all’aumento della $\text{VO}_2 \text{ MAX}$, della potenza sviluppata e una riduzione del tempo impiegato per terminare l’allenamento. Al contrario, nel gruppo di controllo non si sono verificati cambiamenti significativi. In entrambi i gruppi, non si sono notati cambiamenti nelle variabili ematiche (13) (14).

La meta-analisi di Huang et al. (15) ha analizzato i risultati di 19 articoli per studiare gli effetti dell’IHT sulle capacità aerobiche. L’IHT ha dimostrato effetti positivi significativi sul miglioramento del $\text{VO}_2 \text{ MAX}$ e sulla concentrazione di emoglobina (HB) degli atleti. Tuttavia, a causa delle limitazioni presenti in questa meta-analisi (protocolli di allenamento e caratteristiche dei soggetti diversi) è doveroso specificare che i risultati sono indicativi piuttosto che definitivi (15).

1.4 Elevation training mask

Negli anni sono stati sviluppati diversi metodi per migliorare le prestazioni di endurance negli atleti, e si è giunti alla conclusione che i due metodi più efficaci sono l'allenamento in quota e l'allenamento dei muscoli respiratori (RMT). Per quanto riguarda il secondo metodo è stato dimostrato che il sistema respiratorio è un fattore limitante nelle prestazioni fisiche sia in individui allenati che in quelli sedentari (16) (17).

Dallo studio di Markov et al. si è potuto notare come l'allenamento dei muscoli respiratori possa migliorare la performance di endurance dell'atleta senza incrementare il massimo consumo di ossigeno o le variabili ematiche (18).

L'*elevation training mask 2.0*, o maschera per l'allenamento in altitudine (ETM), è una maschera che copre naso e bocca composta da aperture e valvole che possono essere regolate per aumentare o ridurre l'ingresso di ossigeno, modificando così la resistenza alla respirazione. Questo tipo di maschera ha 3 valvole di flusso: due valvole di afflusso laterali regolabili e una valvola di efflusso centrale. Inoltre, sono disponibili tre diverse forme di cappuccio di resistenza e due diversi orientamenti delle valvole di afflusso, che consentono di simulare sei altitudini da 900 metri fino a 5400 metri (19).

Nello studio di Porcari et al. (20) sono stati analizzati gli effetti dell'*elevation training mask* sulle capacità aerobiche, sulle funzioni polmonari e sulle variabili ematiche ed è stato determinato se l'ETM può funzionare come un simulatore di altitudine. I 24 soggetti arruolati sono stati divisi in due gruppi, uno sperimentale, in cui i soggetti appartenenti a tale gruppo indossavano la mascherina durante il protocollo di allenamento e uno di controllo (20). I risultati, dopo 6 settimane di allenamento ad alta intensità (HIIT) su cicloergometro, sono che entrambi i gruppi hanno incrementato la VO_2 MAX e la potenza di picco. Tuttavia, solamente il gruppo sperimentale ha avuto un miglioramento nelle soglie ventilatorie (ventilatory threshold (VT) e respiratory compensation threshold (RCT)) e nella potenza (power (PO) to VT/RCT) sviluppata rispetto al gruppo di controllo. In nessuno dei due gruppi si sono verificati cambiamenti significativi nelle variabili ematiche e nelle funzioni polmonari. Nonostante entrambi i gruppi svolgessero lo stesso protocollo di allenamento, si è notato che il gruppo che indossava la *training mask* aveva una frequenza cardiaca e un tasso di sforzo percepito (RPE) più alti e una saturazione più bassa rispetto al gruppo di controllo. In conclusione, visto che non si sono osservati cambiamenti ematologici e nella saturazione durante l'allenamento, si presuppone che, sebbene l'ETM simuli l'allenamento in altitudine, funzioni più come un dispositivo RMT (20) (21).

1.5 Normativa

Il 2 gennaio del 2001 entrò in vigore la legge 376/2000 intitolata “Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping”, in cui veniva vietato l’utilizzo di metodiche ipobariche/ipossiche che vennero definite “Pratiche mediche non giustificate da condizioni patologiche, idonee a modificare le condizioni psicofisiche dell'organismo al fine di alterare le prestazioni agonistiche” (definizione ripresa dall’ Art. 1, comma 2 della legge) (22).

Il 3 ottobre 2023 il Ministero della salute emanò il Decreto Ministeriale in cui vennero escluse dal divieto le pratiche ipossiche/ipobariche, a patto che l’atleta venga tenuto sotto stretto controllo medico ed utilizzate esclusivamente per finalità terapeutiche o di condizionamento, allineando finalmente la normativa italiana a quella internazionale (23).

In questo contesto normativo, la training mask non è mai stata oggetto di divieto o restrizione. Da un lato il dispositivo non altera la pressione parziale dell'ossigeno (differenziandosi nettamente dalle camere ipobariche), dall'altro la sua azione si configura esclusivamente come un allenamento contro la resistenza dei muscoli respiratori, escludendo qualsiasi correlazione con le pratiche di doping ematico (23).

2. SCOPO DELLA TESI

Con l'evoluzione della scienza e della tecnologia, nell'ambito sportivo si sono sempre cercate nuove strategie che potessero migliorare la performance atletica in modo efficiente rispetto alle metodologie preesistenti.

Ad oggi, la *training mask* fa parte di questi nuovi metodi ed è uno strumento di cui la letteratura scientifica sta ancora studiando la funzione sulla performance e i possibili effetti sulla salute dell'atleta. Per tale ragione, questo studio pilota ha come scopo quello di scoprire gli effetti che ha l'allenamento ipossico intermittente, con l'utilizzo della maschera per l'allenamento in altitudine, sulla salute dell'atleta.

Prima e dopo la prima e la terza settimana di attività motoria sono stati misurati i 5 parametri vitali definiti dall'OMS per la definizione dello stato di salute di un soggetto e sono: frequenza cardiaca e respiratoria, pressione massima e minima, ossigenazione del sangue, e un elettrocardiogramma a una derivazione, tramite il dispositivo medico Ippocratech.

Inoltre, sono stati effettuati prelievi ematici all'inizio e alla fine della prima sessione di allenamento, al termine dell'ultima sessione e a un mese dalla conclusione del protocollo, al fine di effettuare analisi ematochimiche.

Lo scopo è ricercare e analizzare dei valori utili per definire se la salute dei soggetti che hanno usato la *training mask* ha subito delle variazioni o meno. In base alle evidenze riportate in letteratura i parametri più promettenti che andremo a investigare riguardano: i radicali liberi dell'ossigeno (ROS), la maggior parte dell'ossigeno, il cui aumento si traduce in un incremento del danno cellulare associato all'invecchiamento e a un aumento del rischio di sviluppare patologie croniche (1); la ferritina; la Creatina chinasi (CK), una molecola che funge da riserva energetica in diverse cellule dell'organismo e che se in eccesso nel sangue è indice di danni o stress muscolare (24); l'estradiolo, un ormone la cui funzione è quella di regolare il metabolismo delle ossa, la funzione riproduttiva e l'omeostasi endocrina (25).

3. MATERIALI & METODI

3.1 Selezione e arruolamento dei soggetti

Lo studio ha previsto l'arruolamento di 20 atleti non professionisti, di cui 10 atleti hanno costituito il gruppo di controllo e non sono stati sottoposti a pratiche ipobariche durante l'allenamento, mentre il secondo gruppo, composto anch'esso da 10 atleti, ha costituito il gruppo sperimentale e i soggetti hanno indossato l'*elevation training mask* (ETM) durante tutto il protocollo di allenamento.

Per prendere parte allo studio, i partecipanti sono stati precedentemente informati sulle procedure e sullo scopo dello studio ed hanno sottoscritto il modulo del consenso informato e del diritto alla privacy. Il protocollo di studio ha avuto l'approvazione del Comitato Etico di Area Vasta Emilia Nord (Protocollo n° 521/2024/SPER/AUSLMO).

3.2 Protocollo di allenamento

Il protocollo di allenamento utilizzato è un *high intensity interval training* (HIIT) di spinning, cioè un metodo di allenamento costituito da fasi alterne ad alta intensità e bassa intensità, dalla durata totale di circa 50 minuti, comprendente sia una fase iniziale di riscaldamento che una finale di defaticamento.

Tutto l'allenamento è stato svolto sulla *spin bike*, cioè una bicicletta stazionaria che simula la pedalata su strada. È stato scelto questo tipo di allenamento perché a intensità moderate-alte si possono osservare alterazioni cardiorespiratorie acute e rilascio di citochine.

Studi su ETM, come quello di Porcari et al. (20) e di Abouzeid N. et al. (21), mostrano effetti misurabili di ipossiemia modesta e cambi di saturazione dell'ossigeno e dispnea per sforzi sostenuti o all'aumentare dell'intensità (20,21).

Il protocollo di allenamento è così composto (tabella 2):

- Fase di riscaldamento: questa fase prevede 5 minuti di riscaldamento a bassa intensità, a una percentuale del battito cardiaco massimo (FC max.) del 50 – 60 % e a 60 – 70 rivoluzione per minuto (RPM) o cadenza, cioè il numero di giri completi che un pedale compie in un minuto. Il gruppo sperimentale indossa la ETM mantenendo le valvole completamente aperte, al fine di familiarizzare con le sensazioni associate al suo utilizzo prima dell'inizio della fase centrale dell'allenamento.
- Fase intervallata: questa fase è composta da 8 serie divisi in 3 minuti di attività ad alta intensità, a 80 – 90% del battito cardiaco massimo e 80 – 100 RPM, alternati a 2 minuti di recupero attivo al 60 – 65% della FC max. e a 60 – 70 RPM. In questa fase il gruppo

sperimentale andrà a chiudere a metà la valvola di ingresso dell'aria simulando un'altitudine simile a 2500 metri.

- Fase di defaticamento: è la parte finale del protocollo, che prevede una fase dalla durata di 5 minuti ad intensità lieve, al 45 – 50 % delle FC max e a 60 – 70 RPM. In questa fase il gruppo sperimentale andrà ad aprire la valvola di ingresso dell'aria della ETM.

FASE	DURATA	FCmax (%)	RPM	TIPO DI STIMOLO	ALTITUDINE SIMULATA
Riscaldamento	5'	50 – 60 %	60 - 70	Attivazione	-
Intervalli alti	3' x 8	80 – 90 %	80 - 100	Alta intensità	2500 mt
Recuperi attivi	2' x 8	60 – 65 %	60 - 70	Recupero aerobico	2500 mt
Defaticamento	5'	45 – 55 %	60 - 70	Recupero finale	-

Tabella 2. Protocollo di allenamento standardizzato.

3.3 Raccolta parametri cardiovascolari

I dati sono stati raccolti con il dispositivo Ippocratech (MO, Italia), un device medico non invasivo e certificato che raccoglie simultaneamente e in 90 secondi i 5 parametri vitali necessari per la valutazione affidabile dello stato di salute definiti dall' OMS: frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, pressione arteriosa sistolica e diastolica, ossigenazione del sangue e temperatura corporea.

La raccolta dei 5 parametri vitali è avvenuta prima dell'inizio del primo allenamento (T0) e dopo (T1), al termine delle 3 sedute di allenamento (T2) e un mese dopo dalla fine del protocollo (T3).

3.4 Processazione dei campioni ematici

Dopo la firma del consenso informato ogni atleta è stato sottoposto a un prelievo venoso, avvenuto prima dell'inizio del primo allenamento (T0) e dopo (T1), al termine delle 3 sedute di allenamento (T2) e un mese dopo dalla fine del protocollo (T3). Il prelievo di sangue venoso è stato effettuato dai prelevatori di “Salus servizi sanitari e ambientali SRL”, servizio di cui la Medicina dello Sport si avvale da tempo per questo tipo di prelievi che si svolgono al di fuori delle Strutture sanitarie e che forniscono adeguata copertura assicurativa per la pratica in oggetto.

Una parte del campione di sangue è stato inviato e processato presso il laboratorio BLU del Nuovo Ospedale S. Agostino Estense di Baggiovara (Modena), che collabora con la Medicina dello Sport di Modena, per la verifica dello stato di salute dello sportivo tramite analisi quali emocromo con formula, Reticolociti, Glucosio, Urea, Creatinina, Acido urico, Colesterolo LDL, Colesterolo HDL, Colesterolo totale, Trigliceridi, Bilirubina totale e frazionata, Proteine totali, Proteina C funzionale, Proteina S funzionale, GOT/AST, GPT/ALT, GammaGT, CK, Amilasi, Potassio, Sodio, Ferro, Transferrina, Ferritina, TSH Reflex, LH, FSH, Estradiolo E2, Progesterone, Cortisolo basale, Testosterone, GH, IGF1.

Mentre un'altra parte del campione di sangue è stata inviata al laboratorio di Patologia e Immunologia (UNIMORE, Modena) per lo studio dell'attivazione del sistema immunitario e dello stato infiammatorio degli atleti. Il plasma è stato isolato e conservato a -80°C per la quantificazione delle citochine pro-infiammatorie e del mtDNA. Il laboratorio ha provveduto ad isolare dal sangue i monociti di sangue periferico mediante metodiche standardizzate per lo studio della morfologia e del metabolismo mitocondriale.

3.5 Analisi dello stress ossidativo nei monociti

I livelli di ROS mitocondriali sono stati quantificati misurando la fluorescenza di MitoSOX Red (Thermo Fisher Scientific, Inc.) dopo 30 minuti di incubazione, utilizzando il Fluoroskan FL Microplate Fluorometer and Luminometer (Thermo Fisher Scientific, Inc.) con eccitazione λ 544 nm, emissione λ 590 nm ed esposizione temporale di un secondo.

3.6 Analisi dell'attività mitocondriale

I monociti sono stati anche utilizzati per l'analisi dei mitocondri che sono stati marcati con un anticorpo fluorescente per vedere al microscopio confocale, presente nel Centro Grandi Strumenti dell'università di Modena, differenze nella morfologia e nella loro distribuzione all'interno dei monociti stessi. Le cellule per la microscopia confocale sono state coltivate su vetrini copri oggetto, fissate e incubate con l'anticorpo che lega in maniera specifica i mitocondri (EMD Millipore Corp, USA, MAB1273). Le immagini sono state raccolte su un microscopio confocale SP8-AOBS (Leica) e l'analisi è stata eseguita con ScanR. Inoltre, è stato analizzato il metabolismo mitocondriale per investigare gli effetti del trattamento ipossico. La misurazione in tempo reale del tasso di consumo di ossigeno (OCR) è stata eseguita con un analizzatore di flusso extracellulare XFe96 Seahorse (Agilent, Santa Clara, CA, USA) utilizzando il kit MitoStress (Agilent).

3.8 Analisi statistica

Le analisi statistiche in questo studio hanno una finalità esplorativa, dal momento che il progetto non mira a valutare l'efficacia delle metodiche ipobariche ma l'effetto su parametri ematologici e immunologici. Per l'analisi statistica dei dati è stato utilizzato il software Prism 10 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). In particolare, i parametri biologici studiati sono stati esaminati mediante analisi della varianza per misure ripetute, mentre la correlazione di Spearman e la regressione lineare sono state utilizzate per valutare eventuali correlazioni tra i dati ottenuti con la sperimentazione.

Un p-value <0.05 è stato considerato significativo. Dove necessario, è stato applicato il coefficiente di correzione di Bonferroni ai risultati.

4. RISULTATI

4.1 Risultati dei 5 parametri vitali fondamentali

Dai grafici dei cinque parametri vitali fondamentali misurati per valutare lo stato di salute di ogni atleta, si può notare come nel grafico della massima e minima pressione arteriosa, della saturazione sanguigna non ci siano differenze marcate tra i componenti del gruppo sperimentale e quelli del gruppo di controllo (Figura 1).

Nel grafico della frequenza respiratoria si può notare un aumento dei suoi valori nei componenti del gruppo sperimentale, soprattutto tra la misurazione presa al termine della prima sessione (T1) e quella fatta alla fine della terza sessione (T2) (Figura 1).

Anche nel grafico della frequenza cardiaca si può osservare un aumento marcato dei suoi valori tra le misurazioni effettuate a fine della prima sessione (T1) e al termine della terza (T2) negli atleti facente parte del gruppo sperimentale (Figura 1).

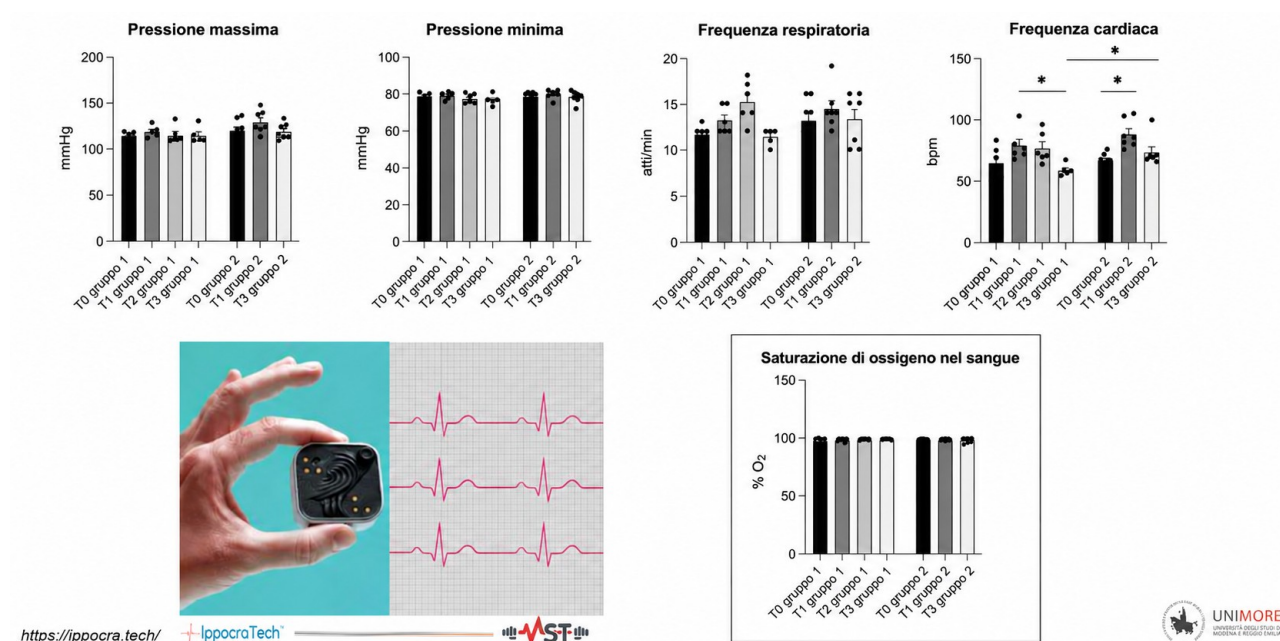


Figura 1. Grafici relativi ai dati dei 5 parametri vitali

4.2 Risultati delle analisi ematochimiche

Dalle analisi ematochimiche (Tabella 3) si sono potute notare differenze marcate tra i soggetti appartenenti al gruppo di controllo e quelli facente parte del gruppo sperimentale di tre variabili che sono i ROS, CK e estradiolo.

	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T3
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
Globuli bianchi (mil/mmc)	-	7.36±1.47	7.02±1.31	6.20±0.98	8.15±1.47	8.09±1.97	-
Globuli rossi (mil/mmc)	4.95±0.41	4.94±0.33	4.85±0.48	4.90±0.45	4.94±0.21	5.10±0.21	5.03 ±0.20
Emoglobina (g/dL)	14.92±1.07	14.84±0.72	14.85 ±0.91	14.87±1.00	15.09±0.71	15.54±0.75	15.34±0.64
Ematocrito (%)	44.89±2.44	44.89±1.58	43.41±3.13	43.87±2.84	44.46±2.08	45.86±2.23	45.28±1.88
MCV (fl.)	90.97±4.06	91.07±3.83	89.74±2.99	89.75±3.17	90.03±3.10	89.96±2.75	90.03±3.08
MCH (pg)	30.23±1.46	30.10±1.21	30.74±1.59	30.43±1.35	30.51±1.03	30.46±1.11	30.46±1.14
MCHC (g/dL)	33.26±1.55	33.08±1.32	34.22±0.80	33.89±0.59	33.90±0.38	33.84±0.53	33.83±0.54
RDW (cv%)	13.58±0.42	13.44±0.42	13.67±0.45	13.72±0.60	13.61±0.82	13.56±0.72	13.58±0.62
Piastrine (*10³/μL)	268.20±54.43	278.00±64.64	259.60±46.21	250.30±61.46	260.57±74.94	296.86±68.81	289.13±89.48
MPV (fl.)	9.39±1.23	9.43±1.31	8.18±0.71	8.36±0.70	8.39±0.90	8.53±0.88	8.35±0.94
Neutrofili (%)	53.86±10.39	54.38±8.42	53.32±5.88	52.68±10.12	52.40±6.35	50.61±6.91	51.48±7.29
Neutrofili (migl/mmc)	3.72±0.94	3.98±0.91	3.74±0.82	3.31±0.96	3.64±0.80	4.13±0.92	4.15±1.16
Linfociti (%)	34.65±8.69	34.40±7.50	34.60±7.57	35.25±9.94	35.44±5.29	37.47±6.98	35.91±7.54
Linfociti (migl/mmc)	2.44±0.97	2.54±0.88	2.44±0.71	2.13±0.44	2.48±0.71	3.05±0.80	2.89±0.93
Monociti (%)	8.43±1.95	8.23±1.74	8.50±2.22	8.73±2.55	8.91±1.79	8.91±1.15	9.31±2.19
Monociti (migl/mmc)	0.60±0.29	0.62±0.26	0.59±0.16	0.56±0.26	0.64±0.25	0.73±0.16	0.77±0.33
Eosinofili (%)	2.38±1.11	2.32±1.10	2.85±1.29	2.61±1.25	2.51±0.74	2.27±0.81	2.49±1.13
Eosinofili (migl/mmc)	0.17±0.10	0.17±0.08	0.20±0.08	0.16±0.08	0.18±0.08	0.18±0.08	0.21±0.13
Basofili (%)	0.71±0.30	0.70±0.18	0.74±0.22	0.74±0.28	0.73±0.21	0.76±0.32	0.84±0.31
Basofili (migl/mmc)	0.05±0.02	0.05±0.02	0.05±0.02	0.05±0.02	0.05±0.02	0.06±0.03	0.07±0.03
Reticolociti (*10³/μL)	0.05±0.02	0.06±0.02	0.05±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
Reticolociti (%)	1.10±0.30	1.12±0.32	0.93±0.26	0.88±0.23	0.92±0.13	0.98±0.16	0.95±0.19
Proteina C (%)	87.70±39.42	89.50±39.03	114.50±21.64	117.50±20.16	124.71±20.49	129.14±16.15	121.25±23.50
Proteina S (%)	98.90±15.87	100.00±14.45	93.30±17.44	97.20±15.81	92.29±18.22	95.57±14.97	82.25±12.88
GH (ng/mL)	2.27±1.89	2.80±2.46	4.45±3.90	0.16±0.16	1.41±0.89	6.06±8.51	2.46±2.80
IGF1 (ng/mL)	265.62±47.35	163.95±39.40	161.76±31.49	169.73±43.21	157.37±40.19	160.59±35.17	159.69±31.98

Glucosio (mg/dL)	88.40±9.40	85.40±15.65	86.00±9.56	84.10±14.52	86.71±12.76	107.14±17.95	103.13±19.07
Urea (mg/dL)	42.90±12.25	42.10±12.67	42.20±14.96	37.90±6.77	41.29±7.43	42.14±5.96	47.13±11.73
Creatinina (mg/dL)	0.96±0.16	0.98±0.12	1.03±0.14	0.95±0.20	0.90±0.08	1.05±0.12	1.18±0.16
eGFR (mL/min)	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	58.57±2.70
Acido Urico (mg/dL)	5.31±1.00	5.33±0.90	5.45±0.90	5.30±1.01	5.16±1.11	5.47±1.04	5.61±1.46
Colesterolo (mg/dL)	198.70±35.72	203.00±35.89	195.60±30.95	208.60±31.93	221.86±45.22	230.14±42.92	215.25±43.92
HDL (mg/dL)	60.80±7.35	61.50±7.37	63.30±7.30	67.70±8.47	65.71±9.32	69.14±9.01	71.63±17.04
Non HDL (mg/dL)	142,50±12.63	142,67±15.06	132,30±29.03	140,90±31.39	156.14±41.92	159.14±36.97	137.75±31.19
LDL (mg/dL)	120.60±28.92	123.90±28.38	118.40±23.69	127.00±25.46	141.00±34.64	149.29±38.77	136.25±38.28
Trigliceridi (mg/dL)	105.70±44.10	103.60±37.12	116.80±36.89	96.60±40.79	172.14±109.62	172.29±115.30	173.50±91.17
Bilirubina T (mg/dL)	0.64±0.27	0.68±0.31	0.69±0.38	0.74±0.15	0.81±0.48	0.86±0.51	0.72±0.32
Bilirubina D (mg/dL)	0.18±0.10	0.19±0.12	0.13±0.06	0.14±0.02	0.17±0.08	0.17±0.08	0.15±0.07
Proteine T (g/dL)	7.41±0.41	7.54±0.45	7.33±0.29	7.35±0.39	7.44±0.37	7.73±0.38	7.91±0.33
GOT-AST (U/L)	24.60±16.83	25.00±4.40	26.90±4.79	27.40±6.98	25.29±4.07	27.71±3.77	28.25±5.99
GPT-ALT (U/L)	23.60±8.88	23.80±8.93	22.40±7.57	23.10±6.98	24.71±8.81	26.29±9.53	24.75±5.65
Gamma-GT (U/L)	23.40±7.63	23.40±7.21	21.80±6.30	21.80±8.30	33.43±14.50	34.71±16.14	36.50±26.36
CK (U/L)	152.60±75,82.15	156.00±73.29	172.30±77.48	204.90±167.34	187.86 ±108.08	207.71±115.98	238.13±132.51
Amilasi (U/L)	79.10±24.67	82.00±29.26	75.70±17.02	84.40±37.74	77.29 ±36.06	78.14±34.97	73.38±32.84
Sodio (mEq/L)	139.00±1.05	139.70±1.06	139.50±1.51	138.40±1.96	139.71±0.76	140.71±0.95	140.88±1.64
Potassio (mEq/L)	4.41±0.48	4.46±0.46	4.54±0.35	4.24±0.43	4.00±0.31	4.39±0.37	4.31±0.39
Ferro (µg/dL)	91.30±27.22	89.80±28.22	87.50±29.24	100.60±23.36	79.14±33.69	82.00±39.73	93.75±27.18
Transferrina (mg/dL)	285.40±43.77	290.20±41.82	281.50±44.81	281.10±35.52	276.29±39.26	288.00±43.39	291.00±51.16
Saturazione transferrina (%)	22.85±6.55	21.76±6.22	21.90±6.26	25.70±6.27	20.14±6.47	19.86±7.10	23.13±6.31
Ferritina (ng/mL)	97.19±79.77	99.59±83.22	75.40±69.27	77.70±70.85	130.00±63.07	138.14±73.90	133.00±81.41
TSH (µIU/mL)	1.90±0.79	1.79±0.79	2.23±0.72	1.74±0.67	2.41±1.40	3.10±1.57	3.15±1.92
Testosterone (ng/mL)	4.00±1.98	4.21±2.33	3.99±1.51	3.90±1.08	3.24±0.96	3.76±1.20	3.65±1.33
Cortisolo (µg/dL)	9.28±4.14	9.20±4.99	8.91±3.79	6.18±3.46	5.37±2.45	10.40±3.71	7.86±5.94
LH (µIU/mL)	3.11±1.82	3.16±1.71	2.93±1.61	3.50±1.26	5.06±3.60	5.26±4.12	6.91±5.50
FSH (µIU/mL)	5.22±4.64	5.24±4.93	5.18±4.80	5.24±3.75	8.14±7.20	7.83±6.31	7.40±5.68
Estradiolo (pg/mL)	22.50±0.71	23.00±3.61	23.67±4.18	24.25±4.40	31.29±7.65	34.86±11.07	28.88±8.79
Progesterone (pg/mL)	0.52±0.53	0.41±0.30	0.58±0.33	0.32±0.14	0.44±0.16	0.96±0.41	0.58±0.64

Tabella 3. Risultati delle analisi ematochimiche

4.3 Radicali liberi dell'ossigeno (ROS)

Nel grafico relativo ai valori dei ROS misurati nei monociti, si può osservare negli atleti del gruppo sperimentale un marcato aumento tra la prima misurazione a T0 e quella eseguita a T1, per poi diminuire significativamente dopo l'ultima sessione di allenamento del protocollo (T2) mantenendosi invariati dopo 1 mese (T3).

Nel gruppo di controllo si riscontra invece, una tendenza in aumento tra la misurazione effettuata a fine della prima sessione di allenamento (T1) e quella effettuata dopo un mese dal termine del protocollo (T3) (figura 2).

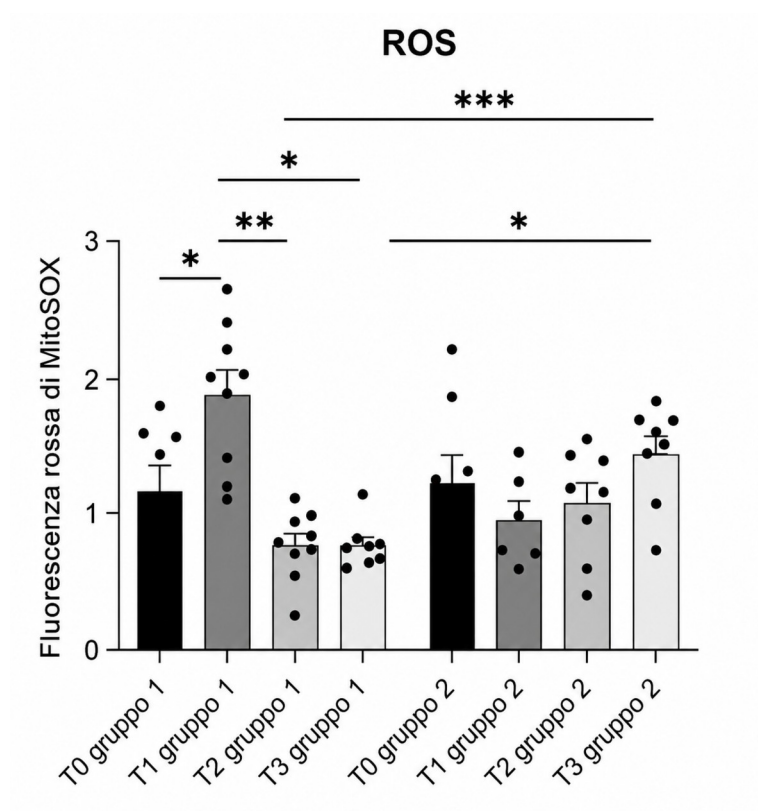


Figura 2. Valori ROS

4.5 Creatina chinasi

Nel grafico relativo ai valori ottenuti della creatina chinasi (CK) dalle analisi ematochimiche, si può notare che non ci sono differenze significative nel gruppo sperimentale di soggetti che indossavano la ETM. Al contrario, i risultati mostrano un significativo aumento delle sue concentrazioni negli atleti facente parti del gruppo di controllo, soprattutto dopo le misurazioni eseguite nella prima sessione di allenamento (T1) e quelle effettuate alla fine della terza (T2) (figura 3).

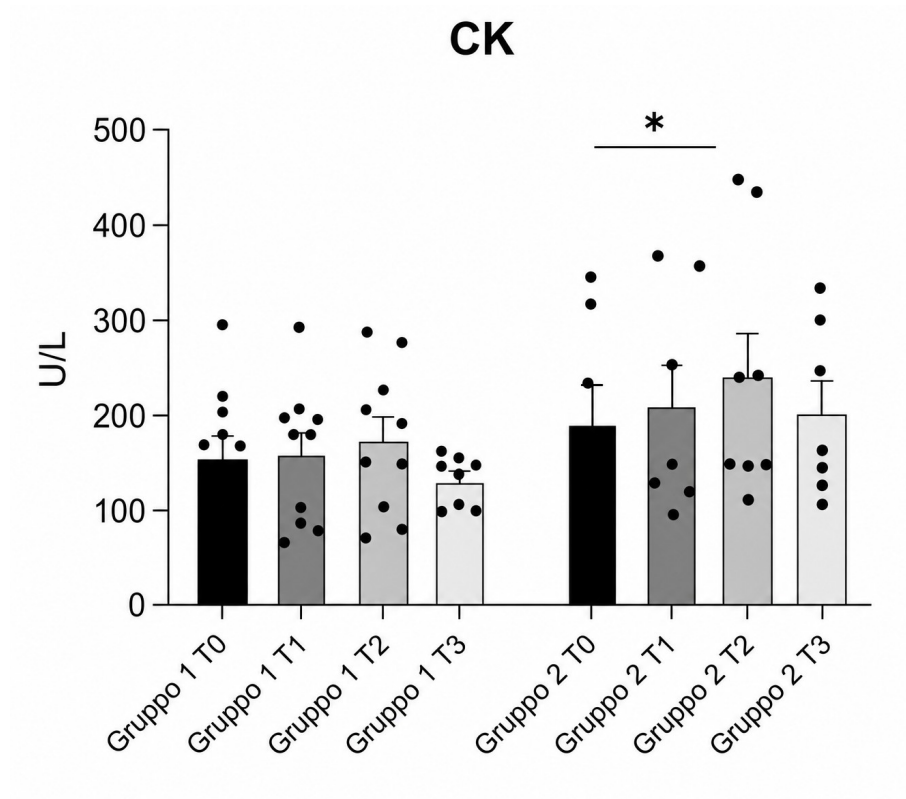


Figura 3. Valori CK

4.6 Estradiolo

Nel grafico relativo ai dati dell'estradiolo, si può notare un aumento significativo negli atleti del gruppo sperimentale, delle concentrazioni ematiche di estradiolo soprattutto tra i valori ottenuti attraverso la misurazione effettuata all'inizio della prima sessione (T0) e quella eseguita dopo un mese dal termine del protocollo (T3).

Nel gruppo di controllo, invece, si osserva un lieve incremento delle concentrazioni di estradiolo tra i valori rilevati all'inizio della prima sessione di allenamento (T0) e quelli misurati al termine della stessa (T1), seguito da una riduzione alla fine della terza sessione (T2) (figura 4).

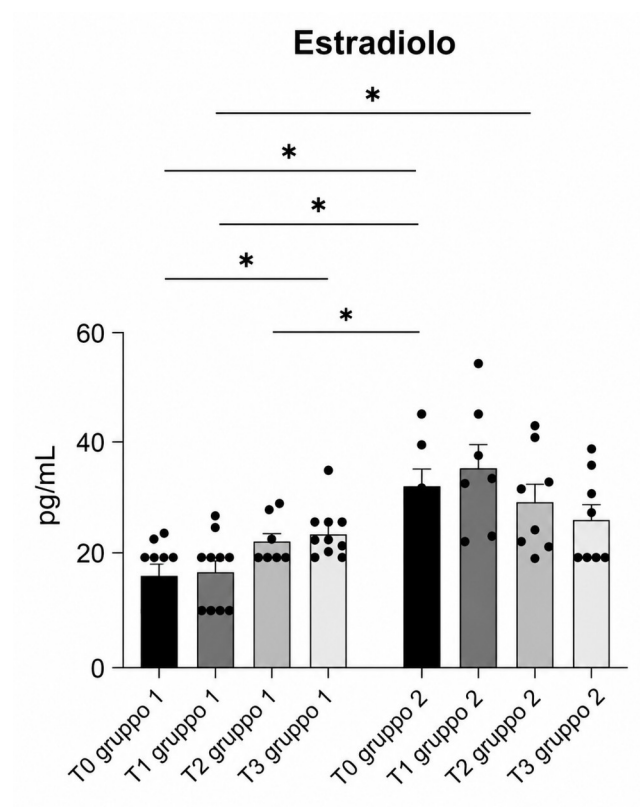


Figura 4. Valori estradiolo

5. DISCUSSIONE

Lo scopo dello studio era quello di valutare quali potessero essere gli effetti della *Training Mask* sulla salute degli atleti, che utilizzano tale strumento per simulare l'allenamento ipossico intermittente.

Dai valori dei cinque parametri vitali, misurati attraverso il dispositivo medico Ippocratech, non si osservano differenze significative tra i valori dei soggetti appartenenti al gruppo sperimentali e quelli facente parte del gruppo di controllo, facendo quindi dedurre che l'utilizzo della maschera non alteri tali misurazioni.

Da quello che è emerso dalla letteratura, ci saremmo dovuti aspettare dei livelli di saturazione sanguigna più bassi nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo, soprattutto nelle misurazione effettuate al termine della prima (T1) e della terza sessione di allenamento (T2) (figura 1) (20) (26).

Tuttavia, dai risultati ottenuti, non è emerso nessun cambiamento marcato nella saturazione sanguigna, al contrario i suoi valori sono rimasti costanti (figura 1), e ciò è un fattore positivo perché la non alterazione di tali valori ci suggerisce che l'utilizzo della *training mask* durante l'allenamento non arreca dati negativi sulla salute dell'atleta che ne trae beneficio.

Per quanto riguarda i dati ottenuti dalle analisi ematochimiche, anche in questo caso, non sono state osservate differenza significative tranne che per tre variabili:

- ROS, dai valori ottenuti si è notata una diminuzione significativa tra i valori misurati al termine della prima sessione (T1) e quelle effettuate alla fine della terza sessione di allenamento (T2) e dopo un mese dalla fine del protocollo (T3) nel gruppo sperimentale (figura 2).

L'aumento iniziale dei ROS a T1 può essere dovuto a una diminuzione transitoria della biodisponibilità dell'ossigeno indotta dall'allenamento intermittente ipossico, che può determinare un'alterazione del sistema redox e un conseguente incremento dello stress ossidativo (27). Questa variazione dei risultati ottenuti è dovuta all'ormesi, cioè una risposta biologica per cui una dose moderata e controllata di stressore, in tal caso è il protocollo di allenamento associato all'utilizzo della maschera, induce inizialmente un aumento dei fattori di stress, tra cui i radicali liberi dell'ossigeno (28). Successivamente tale stimolo può attivare meccanismi adattivi allo stimolo stressante, in modo tale da rispondere in modo più efficiente allo stesso stimolo e produrre meno radicali liberi (28).

- CK, aumenta in modo significativo negli atleti che fanno parte del gruppo di controllo, soprattutto dopo la misurazione effettuata a T1. Mentre, nel gruppo sperimentale, i risultati osservati rimangono costanti in tutte e quattro le misurazioni svolte (figura 3). Nello studio di Akol et al. (2025) (29), sono state analizzate le risposte acute metaboliche, ematiche e infiammatorie di giovani calciatori all'*High Intensive Interval Training* (HIIT) simulando i seimila metri con l'utilizzo della mascherina. I risultati ottenuti sono che la creatina chinasi non aumenta in modo significativo nel tempo, suggerendo che danni muscolari non significativo (29). I risultati del presente studio sono pertanto coerenti con la letteratura, suggerendo che l'allenamento ipossico intermittente con *Training Mask* non induce un danno muscolare rilevante associato ad un aumento dell'attività della CK.

-Estradiolo, dai risultati ricavati dalle analisi ematiche possiamo osservare un incremento significativo tra i valori misurati prima dell'inizio della prima sessione di allenamento (T0) e dopo un mese dal termine del protocollo di allenamento (T3) nel gruppo sperimentale (figura 4).

L'incremento di tali valori, è dovuto alla risposta biologica del corpo ad elementi stressanti, cioè l'ormesi, oltre al fatto che l'esercizio intenso con l'utilizzo dello spinning combinato con ipossia intermittente stimola già di per sé la risposta endocrina – metabolica, che porta a un aumento della produzione di estradiolo.

Questo è un adattamento metabolico favorevole, perché un incremento delle sue concentrazioni porta a una migliore regolazione del metabolismo delle ossa e l'omeostasi endocrina (25).

Tuttavia, nonostante tali incrementi, i valori misurati rientrano nei range di normalità.

6. LIMITAZIONI

Lo studio presenta diverse limitazioni da tenere in conto per l'interpretazione dei dati.

Come primo punto, il ridotto numero dei soggetti partecipanti allo studio pilota non consente di ottenere dati statisticamente rilevanti e generalizzabili.

Inoltre, la breve durata del protocollo e il numero limitato delle sessioni di allenamento, che sono solamente tre, potrebbero non essere sufficienti a indurre adattamenti fisiologici stabili.

7. CONCLUSIONE

Lo studio pilota ha dimostrato che l'utilizzo della *training mask* per svolgere un allenamento ipossico intermittente, non induce effetti negativi sulla salute degli atleti.

Come primo punto non si sono notati significativi cambiamenti nei cinque parametri vitali tra il gruppo sperimentale e di controllo soprattutto nei livelli di saturazione sanguigna, suggerendo che la maschera non induce effetti negativi sulla salute.

I livelli dei ROS, nonostante un iniziale aumento attribuibile al meccanismo dell'ormesi, diminuiscono al termine del protocollo di allenamento suggerendo una riduzione dei livelli di stress ossidativo e di danno a diverse strutture cellulari.

La stabilità dei valori di CK nel gruppo sperimentale conferma l'assenza di un danno muscolare rilevante, che al contrario si verifica in modo più marcato negli atleti del gruppo di controllo, i quali, non avendo utilizzato la *training mask*, con molta probabilità sono riusciti a svolgere un allenamento leggermente più intenso.

Per concludere anche i leggeri incrementi delle concentrazioni di estradiolo, che rientrano però nei range di normalità, suggerisco che la mascherina non induca effetti negativi, al contrario, migliora la regolazione del metabolismo delle ossa e l'omeostasi endocrina.

In futuro, sarebbe appropriato svolgere lo stesso protocollo di allenamento con una durata maggiore e con più atleti, per verificare se ci sono ulteriori alterazioni fisiologiche.

Inoltre, sarebbe interessante anche prendere in considerazione variabili relative alla performance, come il massimo consumo di ossigeno (VO₂MAX), le soglie ventilatorie (VT₁ e VT₂) e i livelli di lattato ematico, per costatare gli effetti che potrebbe dare l'utilizzo della *training mask* anche sulle capacità atletiche.

BIBLIOGRAFIA

1. McArdle WD, Katch FI, Katch VL, Miserocchi G. Fisiologia applicata allo sport: aspetti energetico, nutrizionale e performance. 3. ed. italiana condotta sull'8. ed. inglese. Milano: CEA; 2018.
2. Kraemer WJ, Fleck SJ, Deschenes MR. Exercise physiology: integrating theory and application. Second edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016. 525 p.
3. Kenney WL, Wilmore JH, Costill DL. Physiology of sport and exercise. Seventh edition. Champaign, IL: Human Kinetics; 2020. 627 p.
4. West JB, Schoene RB, Milledge JS. High altitude medicine and physiology. 4th ed. London: Hodder Arnold; 2007.
5. West JB. Lactate during exercise at extreme altitude. Fed Proc. dicembre 1986;45(13):2953–7. PubMed PMID: 3536595.
6. West JB. Point: The lactate paradox does/does not occur during exercise at high altitude. Journal of Applied Physiology. giugno 2007;102(6):2398–9. doi:10.1152/jappphysiol.00039.2007
7. Weineck J. L'allenamento ottimale: una teoria dell'allenamento basata sui principi della fisiologia del movimento, con particolare riferimento all'allenamento infantile e giovanile. 3. ed. italiana / a cura di Pasquale Bellotti ... [et al.]. Bellotti P, curatore. Ferriera di Torgiano (PG): Calzetti Mariucci; 2023.
8. Schytz CT, Nielsen J, Ørtenblad N, Lundby AKM, Jacobs RA, Lundby C. Effect of high-altitude exposure on skeletal muscle mitochondrial subcellular distribution, ultrastructure, and respiration in sea-level residents. Journal of Applied Physiology. 1 agosto 2025;139(2):482–95. doi:10.1152/jappphysiol.00042.2025
9. Girard O, Chalabi H. Could altitude training benefit team-sport athletes? Br J Sports Med. dicembre 2013;47(Suppl 1):i4–5. doi:10.1136/bjsports-2013-092807
10. Millet GP, Roels B, Schmitt L, Woorons X, Richalet JP. Combining Hypoxic Methods for Peak Performance: Sports Medicine. gennaio 2010;40(1):1–25. doi:10.2165/11317920-000000000-00000
11. Muraoka I, Gando Y. Effects of the “live high-train high” and “live high-train low” protocols on physiological adaptations and athletic performance. JPFSM. 2012;1(3):447–55. doi:10.7600/jpfsm.1.447
12. Levine BD, Stray-Gundersen J. “Living high-training low”: effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. Journal of Applied Physiology. 1 luglio 1997;83(1):102–12. doi:10.1152/jappl.1997.83.1.102

13. Czuba M, Waskiewicz Z, Zajac A, Poprzecki S, Rocznio R. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic capacity and endurance performance in cyclists.
14. Meeuwsen T, Hendriksen IJM, Holewijn M. Training-induced increases in sea-level performance are enhanced by acute intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol.* aprile 2001;84(4):283–90. doi:10.1007/s004210000363
15. Huang Z, Yang S, Li C, Xie X, Wang Y. The effects of intermittent hypoxic training on the aerobic capacity of exercisers: a systemic review and meta-analysis. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 19 dicembre 2023;15(1):174. doi:10.1186/s13102-023-00784-3
16. Boutellier U, Bouchel R, Kundert A, Spengler C. The respiratory system as an exercise limiting factor in normal trained subjects. *Europ J Appl Physiol.* 1992;65(4):347–53. doi:10.1007/BF00868139
17. Boutellier U, Piwko P. The respiratory system as an exercise limiting factor in normal sedentary subjects. *Europ J Appl Physiol.* 1992;64(2):145–52. doi:10.1007/BF00717952
18. Markov G, Spengler CM, Knöpfli-Lenzin C, Stuessi C, Boutellier U. Respiratory muscle training increases cycling endurance without affecting cardiovascular responses to exercise. *European Journal of Applied Physiology.* 1 agosto 2001;85(3–4):233–9. doi:10.1007/s004210100450
19. Shen SC, Nachalon Y, Randall DR, Nativ-Zeltzer N, Belafsky PC. High elevation training mask as a respiratory muscle strength training tool for dysphagia. *Acta Oto-Laryngologica.* 3 giugno 2019;139(6):536–40. doi:10.1080/00016489.2019.1605196
20. Porcari ML, Forrester K, Probst L, Foster C, Doberstein S, Porcari JP. Effect of Wearing the Elevation Training Mask on Aerobic Capacity, Lung Function, and Hematological Variables: 3728 Board #167 June 4, 9. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* maggio 2016;48:1040–1. doi:10.1249/01.mss.0000488131.38685.16
21. Abouzeid N, ELnagggar M, FathAllah H, Amira M. Eight Weeks of High-Intensity Interval Training Using Elevation Mask May Improve Cardiorespiratory Fitness, Pulmonary Functions, and Hematological Variables in University Athletes. *IJERPH.* 17 febbraio 2023;20(4):3533. doi:10.3390/ijerph20043533
22. Legge 14 dicembre 2000, n. 376. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.* 1 gennaio 2001.
23. Decreto Ministeriale 3 ottobre 2023. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.* 3 ottobre 2023.
24. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *I principi di biochimica di Lehninger.* 7. ed. italiana / a cura di Edon Melloni. Melloni E, curatore. Bologna: Zanichelli; 2018.
25. Hall JE. *Medical physiology.* 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 1145 p.
26. Jung HC, Lee NH, John SD, Lee S. The elevation training mask induces modest hypoxaemia but does not affect heart rate variability during cycling in healthy adults. *bs.* 2019;36(2):105–12. doi:10.5114/biol sport.2019.79976

27. Rytz CL, Pun M, Mawhinney JA, Mounsey CA, Mura M, Martin A, et al. Differential effects of high-altitude exposure on markers of oxidative stress, antioxidant capacity, and iron profiles. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1 ottobre 2022;323(4):R445–56. doi:10.1152/ajpregu.00321.2021
28. Powers SK, Deminice R, Ozdemir M, Yoshihara T, Bomkamp MP, Hyatt H. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *Journal of Sport and Health Science*. settembre 2020;9(5):415–25. doi:10.1016/j.jshs.2020.04.001
29. Akol T, Yapici A, Ergin GF, Atabaş EG. Acute hematological, metabolic, and inflammatory responses to simulated-6000 ft masked versus unmasked high-intensity interval training in youth soccer players: a randomized crossover pilot study. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 22 dicembre 2025;17(1):374. doi:10.1186/s13102-025-01426-6