

MATTEO BISOFFI

Laurea in Scienze delle Attività Motorie e Sportive (Università degli studi di Verona)

Fisiologia dell'esercizio

APPLICAZIONE DELLA SPETTROSCOPIA NEL QUASI INFRAROSSO (NIRS) PER LA MISURAZIONE DELLA SOGLIA ANAEROBICA

ABSTRACT

Il concetto di soglia anaerobica (AT), data l'importanza che riveste nella programmazione e nella posologia dell'allenamento, è da sempre oggetto di numerosi studi.

L'obiettivo prefissato era quello verificare la reale possibilità di individuare AT attraverso la NIRS¹ (near-infrared spectroscopy). Così è stata testata l'ipotesi che AT potesse essere individuata basandosi sul monitoraggio dell'ossigenazione muscolare, in particolare analizzando l'andamento dell'emoglobina deossigenata (*deoxyHb*).

È stato rilevato che l'estrazione muscolare di ossigeno, monitorata non invasivamente sul muscolo vasto laterale del quadricipite femorale, durante esercizio incrementale al cicloergometro, dopo un iniziale andamento lineare in funzione dell'intensità di esercizio, cambiava pendenza e mostrava tale punto di flesso (DP) tra il 60%-75% del VO_{2max} .

La precisione e l'accuratezza di questa metodica sono state verificate tramite il confronto con la tecnica gold standard del Maximal Lactate Steady State (MLSS) e con la più comune VT1 (prima soglia ventilatoria). Il VO_2 rilevato a NIRS_{AT}, a MLSS e a VT1 non è risultato significativamente differente (rispettivamente 2602 ± 504 , 2678 ± 311 , e 2520 ± 449 ml*min⁻¹).

I risultati dello studio mostrano la reale possibilità di determinare AT attraverso l'individuazione del DP *deoxyHb*. Confrontata con la tecnica del MLSS e con VT1, la tecnica NIRS ha individuato valori di VO_2 e di FC alla soglia accurati e precisi.

INTRODUZIONE

Il concetto di soglia anaerobica esprime l'intensità di lavoro oltre la quale il metabolismo aerobico non è più in grado, da solo, di far fronte alle richieste energetiche globali e la produzione di ATP è da questo momento assicurata anche dall'intervento del metabolismo anaerobico lattacido [1;7].

Essa viene comunemente impiegata per la valutazione funzionale, per il monitoraggio dello stato di allenamento e per determinare i carichi di lavoro in base agli obiettivi prefissati. Data la sua notevole rilevanza pratica, numerosi studi hanno verificato la possibilità di determinare questo parametro con tecniche alternative a quella gold standard (i.e. il Maximal Lactate Steady State o MLSS) [5], per evitare i costi e la complessità di questo metodo. In questo contesto si è recentemente inserita una tecnica innovativa basata sul monitoraggio non-invasivo dell'ossigenazione muscolare tramite Near Infrared Spectroscopy (NIRS). Questa tecnica spettrofotometrica misura in vivo, direttamente nel muscolo, le variazioni di concentrazione di emoglobina ossigenata e ridotta (*oxyHb e deoxyHb*), grazie al diverso spettro di assorbimento della luce (regione NIR del quasi infrarosso, 700 e 1000 nanometri), permettendoci così di analizzare il metabolismo ossidativo locale (esempio di un grafico ottenuto tramite NIRS in **figura 1**).

La *deoxyHb* aumenta linearmente in funzione dell'intensità durante un esercizio incrementale al cicloergometro, evidenziando una variazione di pendenza (punto di deflessione o DP) ad un'intensità pari al 60-75% VO_{2max} . Studi precedenti hanno suggerito che il DP possa coincidere con la soglia anaerobica. Questi studi hanno utilizzato diversi parametri NIRS (*oxyHb*, Bambhani et al. 1997; *deoxyHb*, Wang et al. 2006, *Total Oxygenation Index*, Grassi et al. 1999), diverse strumentazioni (alcune obsolete) ed inoltre, hanno misurato la soglia anaerobica con tecniche non omogenee, portando complessivamente a risultati discordanti [3;4;11;14].

Il presente studio ha così testato l'ipotesi che sia possibile determinare la soglia anaerobica tramite il monitoraggio non-invasivo della *deoxyHb*, un indice di estrazione muscolare di ossigeno [10], attraverso uno strumento NIRS quantitativo di ultima generazione. L'accuratezza e la precisione della tecnica NIRS sono state paragonate alla tecnica "gold standard" del MLSS e ad una tecnica di più comune impiego come la prima soglia ventilatoria (VT1) [2].

Note:

¹ Tecnica diagnostica non invasiva in grado di misurare in tempo reale lo stato di ossigenazione tissutale; si serve della "radiazione ottica", precisamente operando nella banda spettrale del vicino infrarosso (NIR, 700-950 nm).

METODI

Dieci soggetti maschi sani non praticanti agonismo (età 28 ± 5 anni, VO_{2max} 51 ± 6 ml*Kg⁻¹*min⁻¹) sono stati sottoposti, in sedute diverse, ad un test incrementale ad esaurimento al cicloergometro (Excalibur Sport Device, Lode, Germania) e quindi a 3 o 4 prove di 30 minuti ad intensità costante e tra loro diversa. Durante il test incrementale (3' a 50w, poi 20w aggiunti ogni minuto) sono stati rilevati gli scambi gassosi respiro per respiro tramite metabolimetro (Quark B², Cosmed, Italia) e l'ossigenazione muscolare tramite Nirs di ultima generazione (distanza multipla, modulazione di intensità, Oxiplex TSTM, ISS, USA). Sono stati calcolati i valori di picco di tutte le variabili ed i valori di VO_2 e frequenza cardiaca (FC) corrispondenti a VT1 (tramite tecnica di Wasserman [2], da due operatori indipendenti). Inoltre sono stati calcolati VO_2 ed FC corrispondenti al DP del segnale di *deoxyHb* durante l'esercizio incrementale, detto soglia anaerobica Nirs (AT_{NIRS}) (individuato tramite fitting di una doppia funzione lineare con software Sigmaplot 11, Systat, USA).

Per le prove a carico costante, l'intensità del primo test è stata fissata a VT1. Quindi, per le prove successive, il carico veniva aumentato o diminuito in riferimento al riscontro o meno del lattato stabile, dove per stabile si intende una variazione di concentrazione di lattato tra il 10° ed il 30° min < 1 mmol*l⁻¹). Per fare questo, sono state effettuate misure della concentrazione ematica del lattato (lattacidometro Biosen C-line, EKF), tramite prelievi di sangue capillare dal lobo dell'orecchio, ad intervalli regolari di 5 minuti. Inoltre sono stati monitorati FC e scambi gassosi nei primi 10 min di ciascun test ad intensità costante e sono stati calcolati i valori di equilibrio di VO_2 ed FC nella prova corrispondente al MLSS.

La possibile corrispondenza tra i valori di VO_2 ed FC rispettivamente a VT1, MLSS e AT_{NIRS} è stata inizialmente confrontata con test "T" di Student e successivamente verificata tramite test di Bland-Altman [9].

RISULTATI

Relativamente alle prove incrementali, i soggetti hanno raggiunto, ad esaurimento, un VO_{2max} di $3,750 \pm 0,554$ l*min⁻¹, una FC massima di 180 ± 6 b*min⁻¹ (corrispondente al $93,6 \pm 4,5$ % della FC massima teorica) ed un quoziente respiratorio di $1,22 \pm 0,05$, indicativi, questi ultimi, di test effettivamente massimali. I valori medi relativi a VT1 sono sintetizzati in **tabella A**. Il valore di deossigenazione muscolare durante esercizio, pari a riposo a 30 ± 6 μ mol*l⁻¹, può essere esemplificato da due rette distinte, la prima con una pendenza maggiore (p1) rispetto alla seconda (p2) (soggetto rappresentativo in **figura 2**). Nel punto di variazione di pendenza (punto

di deflessione o DP individuato attraverso il software “Sigmaplot”), da noi considerato come corrispondente alla soglia anaerobica NIRS (AT_{NIRS}), i valori di *deoxyHb* erano pari a $41 \pm 9 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ($87 \pm 10 \%deoxyHb_{\text{max}}$), mentre i corrispettivi valori di VO_2 ed FC sono riportati in **tabella A**.

Relativamente ai test a carico costante, i soggetti hanno evidenziato un valore di massimo lattato stazionario pari a $4.6 \pm 0.7 \text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. I dati metabolici relativi a questo carico (i.e. MLSS) sono riassunti in **tabella A**.

I valori di VO_2 (**figura 3**) ed FC corrispondenti ad AT_{NIRS} e MLSS non sono risultati significativamente diversi tra loro. Anche dal confronto tra i dati di VO_2 ed FC corrispondenti ad AT_{NIRS} e VT1 non sono emerse differenze significative. I parametri di inaccuratezza e precisione, relativi a tutti i confronti tra le tecniche, sono riportati in **tabella B**.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente studio ha riportato i seguenti risultati: in riferimento alla fattibilità della misurazione della soglia anaerobica, l'utilizzo della *deoxyHb* (indicatore di estrazione muscolare di O_2) ha consentito di individuare, in modo oggettivo, in tutti i soggetti, un punto di deflessione (DP), considerato indicativo della soglia anaerobica (AT_{NIRS}). La scelta di *deoxyHb* come parametro di riferimento, è stata fatta dopo un'analisi preliminare dei dati e in accordo con quanto riportato da *Wang et al. (2006)*; al contrario il parametro *oxyHb* era tutt'altro che costante, spesso il punto flesso era di difficile individuazione e comunque nella maggioranza dei casi era rilevato prematuramente rispetto consueti valori di soglia presenti in letteratura.

In accordo con i precedenti studi, è stata evidenziata una variazione di pendenza della retta iniziale, in corrispondenza dell'intensità di esercizio che coincide con la soglia anaerobica. Tuttavia, contrariamente a quanto riportato da *Wang et al. (2006)*, in questo studio, la pendenza del segnale di desaturazione in funzione dell'intensità di esercizio risulta diminuita e non aumentata ($p_1 > p_2$). *Wang et al. (2006)*, ma anche i precedenti autori che si sono occupati di questo argomento, hanno spiegato la presenza di un flesso nel segnale di deossigenazione muscolare, come una conseguenza dell'effetto Bohr, ossia dell'acidosi metabolica. In questo caso, invece, si ritiene che la riduzione di desaturazione sia espressione dell'avvicinarsi alla massima capacità di estrazione di ossigeno da parte del muscolo, al di sopra della quale, la produzione di energia dovrà fare sempre più affidamento al metabolismo anaerobico lattacido. Il muscolo ha probabilmente raggiunto la sua massima capacità di estrarre l'ossigeno e quindi la

deoxyHb continua a aumentare ma in maniera meno evidente e con una pendenza molto più bassa rispetto a prima.

Confrontando i nostri risultati con quelli presenti negli studi di *Bhambhani et al. (1997)* e *Grassi et al. (1999)*, possiamo riscontrare delle somiglianze per quanto riguarda la collocazione del DP Nirs nei confronti del VO_{2max} : il posizionamento avveniva in entrambi i casi al 65% circa del massimo consumo di ossigeno.

Confrontata con la tecnica “gold standard” del MLSS e con una tecnica più comunemente utilizzata, ovvero la prima soglia ventilatoria (VT1), la tecnica NIRS ha individuato valori di VO_2 e di FC alla soglia accurati e precisi.

Rispetto alla tecnica “gold standard”, la metodica Nirs risulta essere non invasiva per il soggetto e più rapida nella tempistica, basandosi su un unico test incrementale. In rapporto alla prima soglia ventilatoria, la Nirs è un metodo oggettivo, quindi indipendente dall'operatore e soprattutto sempre fattibile. Inoltre, sempre rispetto a VT1, la AT_{NIRS} non viene influenzata negativamente da eventuali irregolarità del pattern respiratorio. I principali limiti che caratterizzano la NIRS sono il costo relativamente elevato dell'apparecchiatura (sono però disponibili strumenti quantitativi dal costo inferiore a quello utilizzato nel presente studio), l'incompatibilità con la presenza di cicatrici, lesioni muscolari e/o con un pannicolo adiposo sottocutaneo di spessore superiore a 2 cm. Inoltre, rispetto alla tecnica ventilatoria, essa evidenzia la mancanza dei parametri metabolici.

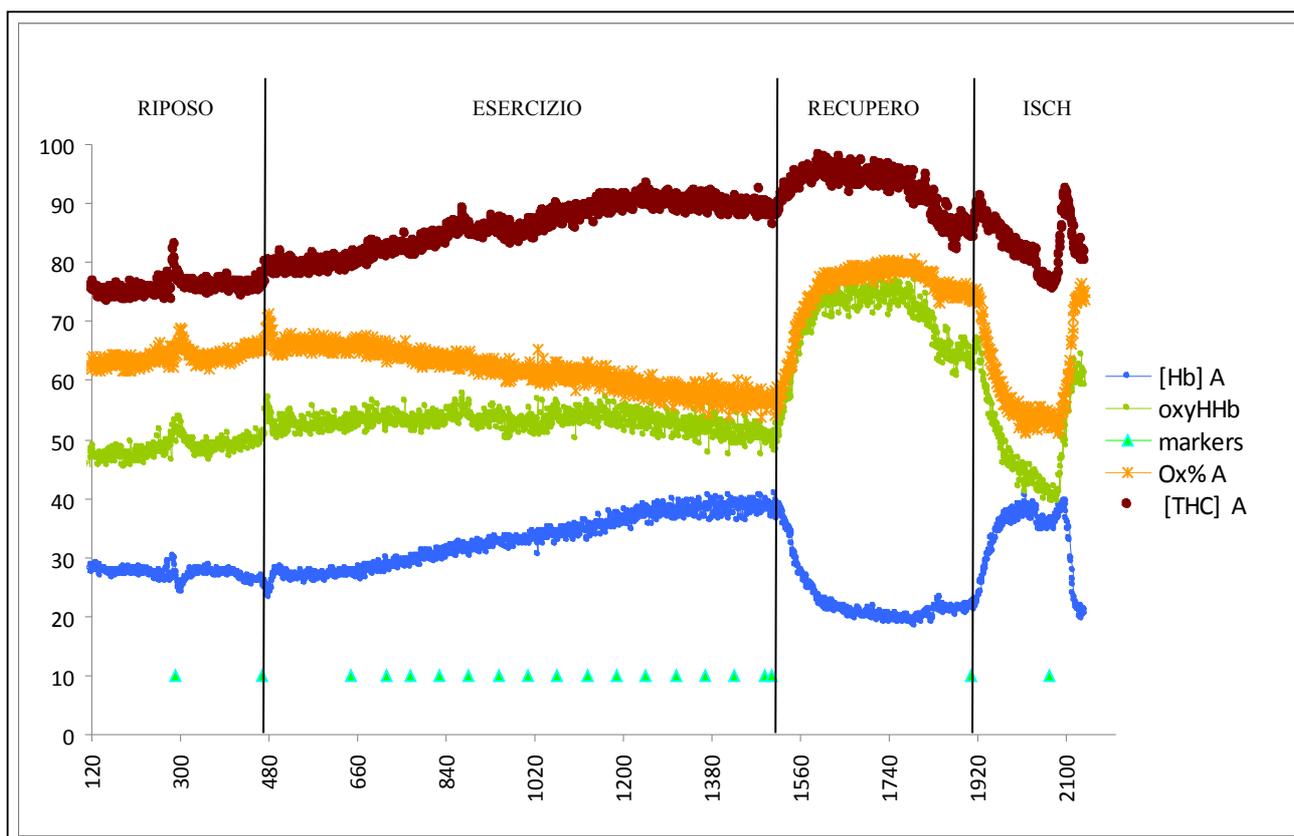


Figura 1. Andamento degli indici di ossigenazione muscolare in funzione del tempo (secondi) durante esercizio incrementale, in un soggetto rappresentativo. Le barre verticali indicano da sinistra verso destra: monitoraggio dei valori basali (a riposo), durante esercizio, nel periodo di recupero e durante ischemia del muscolo (isch). I triangolini in basso (markers) indicano il termine di uno step e l'inizio del successivo.

Tabella A. Dati medi (Media) con deviazione standard (D.St.) relativi alla soglia anaerobica rilevata con le tre diverse tecniche. Sono indicati: intensità di carico (W), consumo di ossigeno (VO_2) e percentuale rispetto al massimo consumo di ossigeno ($\%VO_{2max}$); la frequenza cardiaca (FC) in $b \cdot min^{-1}$ e la percentuale rispetto alla frequenza cardiaca massima ($\%FCmax$).

	W (watt)		VO_2 ($l \cdot min^{-1}$)		$\%VO_{2max}$		FC ($b \cdot min^{-1}$)		$\%FCmax$	
	MEDIA	D. ST.	MEDIA	D. ST.	MEDIA	D. ST.	MEDIA	D. ST.	MEDIA	D. ST.
AT Nirs	192	40	2.602	0.504	69.4	8.3	143	14	79.6	7.6
MLSS	185	18	2.678	0.311	72.0	6.9	140	10	77.8	5.9
VT1	180	32	2.520	0.449	67.3	7.0	140	10	77.9	5.6

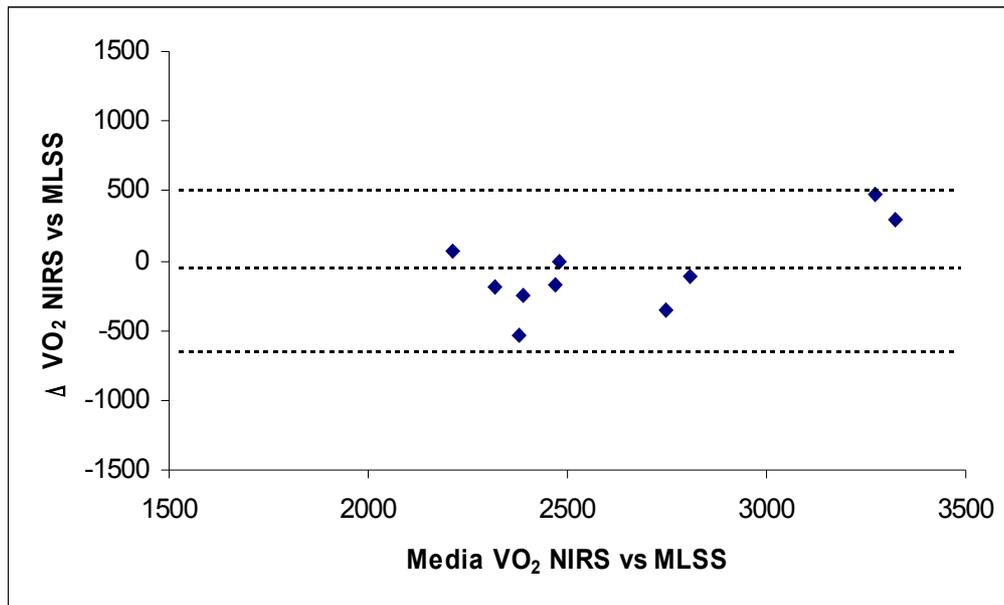


Figura 3. Plot di Bland-Altman per il confronto tra VO_2 (NIRS) vs VO_2 (MLSS). La differenza tra i valori individuali delle due misure è posta in funzione della media tra i valori. Le linee tratteggiate indicano il bias (linea centrale) e i Limits of Agreement (linee superiore e inferiore). In questo confronto, il bias non è significativamente diverso da zero.

Tabella B. Valori del test di Bland-Altman ottenuti dal confronto $VO_{2(NIRS)}$ vs $VO_{2(MLSS)}$ e $VO_{2(NIRS)}$ vs $VO_{2(VT1)}$ e dal confronto $FC_{(NIRS)}$ vs $FC_{(MLSS)}$ e $FC_{(NIRS)}$ vs $FC_{(VT1)}$. X misure indica la media delle differenze tra le due misure; il bias è la differenza sistematica fra queste; la precisione è la deviazione standard delle differenze; “p” è la probabilità di commettere un errore di tipo 1; la potenza rappresenta la possibilità di escludere un errore di tipo 2.

Test Bland-Altman VO_2 NIRS vs MLSS e NIRS vs VT1					
	X misure	Bias	Precisione	P	Potenza
MLSS	2640	-77	300	0,39	0.61
VT1	2561	-81	322	0,40	0.60
Test Bland-Altman FC NIRS vs MLSS e NIRS vs VT1					
MLSS	142	3	8	0.26	0.74
VT1	140	0	11	0.42	0.58

PAROLE CHIAVE:

- SOGLIA ANAEROBICA
- NIRS
- EMOGLOBINA DEOSSIGENATA (*deoxyHb*)
- MASSIMO LATTATO STABILE
- SOGLIA VENTILATORIA

BIBLIOGRAFIA

1. **A.A.V.V.:** Fisiologia dell'uomo, 2002, edi-ermes
2. **Beaver, W. L., K. Wasserman, and B. J. Whipp.** A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J. Appl. Physiol.* 60:2020-2027, 1986
3. **Belardinelli, R., T. J. Barstow, J. Porszasz, and K. Wasserman.** Changes in skeletal muscle oxygenation during incremental exercise measured by near infrared spectroscopy. *Eur. J. Appl. Physiol.* 20:487-492, 1995
4. **Bhambhani, Y.M., S. M. Buckley, and T. Susaki.** Detection of ventilatory threshold using near infrared spectroscopy in men and women. *Med. Sci Sports Exerc.* 29:402-409, 1997
5. **Billat V., Sirvent P., Py G., Koralsztein and Mercier J.:** The concept of Maximal Lactate Steady State (review article). *Med. Sci. Sports Exerc.* 33 (6):407-426, 2003
6. **Cerretelli P.:** Manuale di fisiologia dello sport e del lavoro muscolare, SEU, Roma, 1973.
7. **Dal Monte, A.:** La valutazione funzionale dell'atleta, Manuali Sanzoni, Firenze, 1983.
8. **Di Pranpero, P. E., and Ferretti G.:** The energetics of anaerobic muscle metabolism: a reappraisal of older and recent concepts. *Respir. Physiol.* 118:103-115, 1999.
9. **Glantz S.A.,** (1997). Statistica per discipline biomediche. Mc Graw – Hill.
10. **Grassi B., Pogliaghi S., Rampichini S., Quaresima V., Ferrari M., Marconi C., and Cerretelli P.:** Muscle oxygenation and pulmonary gas exchange kinetics during cycling exercise on-transitions in humans. *J. Appl. Physiol.* 95:149-158, 2003
11. **Grassi B., Quaresima V., Marconi C., Ferrari M., and Cerretelli P.:** Blood lactate accumulation and muscle deoxygenation during incremental exercise. *J. Appl. Physiol.* 87:348-355, 1999
12. **Urhausen:** Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady-state, 1993.

13. **Jackson A, Pollock M, Ward A.:** Generalized equations for predicting body density. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1980;12: 175-181.
14. **Wang L., Yoshikawa T., Hara T., Nakao H., Suzuki T., and Fujimoto S.:** Which common NIRS variable reflects muscle estimated lactate threshold most closely?. *J. Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 31:612-620, 2006
15. **Whipp BJ., Ward SA., Lamarra N., Davis JA., Wasserman K.:** Parameters of ventilatory and gas exchange dynamics during exercise. *J. Appl. Physiol.* 52:1506–1513, 1982