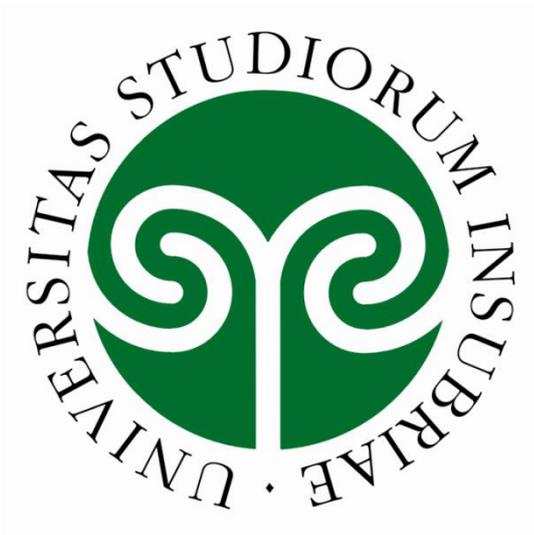


UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELL'INSUBRIA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea in Scienze Motorie



RELAZIONE FRA LA CONCENTRAZIONE DI ACIDO LATTICO E
LA PERFUSIONE PERIFERICA. UNO STUDIO SPERIMENTALE
CONDOTTO SU VENTI CICLISTI PROFESSIONISTI.

Relatore: Professor Massimiliano Mantovani

Tesi di laurea di Martina Bonghi

Matricola 715152

Anno Accademico 2012 - 2013

INDICE

Introduzione	3
Capitolo 1:	4
1.1 Il metabolismo aerobico	4
1.2 Il consumo di ossigeno	4
1.3 Fattori limitanti il vo_{2max}	6
1.3.1 Fattori limitanti il vo_{2max} secondo Hill e Lupton	6
1.3.2 Fattori limitanti il vo_{2max} secondo Wagner	9
1.3.3 Di Prampero: le resistenze al trasporto di ossigeno	10
1.3.4 Di Prampero: il calcolo delle resistenze	13
1.3.5 L'influenza dei fattori limitanti il vo_{2max} durante l'esercizio	15
1.4 Il metabolismo anaerobico	16
Capitolo 2:	17
2.1 Metodi	17
2.1.1 Campione	17
2.1.1.1 Composizione corporea dei soggetti	17
2.1.2 Protocollo sperimentale	19
2.2 Strumenti	21
2.2.1 Cicloergometro	21
2.2.2 Accusport	22
2.2.3 Nirs	24

2.3 Risultati e discussione	28
2.3.1 Carichi bassi	34
2.3.2 Carico medio W_{medium}	35
2.3.3 Carico elevato W_{high}	36
2.3.4 Relazione fra l'incremento di acido lattico e la perfusione periferica	37
2.4 Conclusione	42
Bibliografia	44
Ringraziamenti	46

INTRODUZIONE

Nel ciclismo esistono vari test per valutare lo stato di forma degli atleti e per programmare le sedute di allenamento. La maggior parte di questi test misura il VO_2 come indice di efficienza del sistema cardiocircolatorio e respiratorio. Attraverso i dati ottenuti vengono ricavate la soglia anaerobica e la frequenza cardiaca corrispondente e, infine, i ritmi di allenamento.

In questo studio sperimentale si propone un test funzionale che non ricava la soglia anaerobica, ma studia la relazione tra la concentrazione di acido lattico e la perfusione periferica in base alla potenza sviluppata. Si è scelto di utilizzare la relazione tra acido lattico e perfusione in quanto considerato un valore più oggettivo rispetto alla frequenza cardiaca, che varia a seconda delle condizioni fisiche e ambientali.

È stato effettuato uno studio sperimentale su 20 soggetti che ha permesso sia di individuare un utile protocollo di valutazione funzionale da applicare al ciclismo agonistico, che l'evidenza fisiologica della corrispondenza fra lo stato stazionario della concentrazione di acido lattico e quello della concentrazione di emoglobina ossigenata nel muscolo periferico.

CAPITOLO 1

1.1 IL METABOLISMO AEROBICO

Per svolgere tutte le funzioni compresa la contrazione muscolare, le cellule hanno bisogno di energia. L'energia necessaria viene ricavata attraverso i metabolismi energetici: anaerobici senza l'intervento di ossigeno o aerobici con l'intervento di ossigeno.

Nel ciclismo il metabolismo predominante è il meccanismo aerobico ossidativo, che è il processo più importante ai fini energetici per la grande quantità di energia che può essere sviluppata.

La massima potenza che può essere sviluppata dai muscoli con questo metabolismo dipende dall'assunzione, dal trasporto, dall'uso dell'ossigeno e dalla massima capacità metabolica dei tessuti.

Per questo uno dei parametri più importanti per valutare il livello e lo stato di forma di un ciclista è il consumo di ossigeno (VO_2), ovvero la quantità di ossigeno utilizzabile in un determinato tempo.

L'ossigeno deve passare dall'ambiente esterno all'interno delle cellule per essere utilizzato. Questo passaggio avviene attraverso una serie di processi, che richiedono l'intervento:

- dell'apparato respiratorio: scambi gassosi con l'esterno, diffusione alveolo-capillare
- del sangue: per il suo contenuto di emoglobina
- dell'apparato cardiocircolatorio: per il trasporto dei gas.

1.2 IL CONSUMO DI OSSIGENO

Per determinare il consumo di ossigeno(VO_2) si utilizza l'equazione di Fick:

$$VO_2=Q \times C_{(a-v)}O_2$$

dove:

- VO_2 sono i litri di ossigeno consumati in un minuto nel nostro corpo;
- Q è la gittata cardiaca, ovvero il sangue pompato dal cuore in un minuto, ed è data dal prodotto della gittata sistolica (gs) (il sangue pompato dal cuore ad ogni battito) per la frequenza cardiaca(fc) ($Q = gs \times fc$)
- $C_{(a-v)}O_2$ è la differenza di concentrazione artero-venosa di ossigeno nel muscolo, ovvero la quantità di ossigeno estratta ed utilizzata dal muscolo.

Il VO_2 è possibile esprimerlo in valore assoluto in ml/min o in valore relativo: ml/kg/min cioè in rapporto al peso corporeo. Quest'ultimo è più usato nel ciclismo in quanto più indicativo nel valutare lo stato di forma dell'atleta.

Dall'equazione di Fick si deduce che i due meccanismi che consentono l'aumento del consumo di ossigeno sono:

- l'aumento della gittata cardiaca (Q) che comporta un aumento della quantità totale di sangue pompato dal cuore (Fig 1)
- una maggior estrazione di ossigeno dal sangue arterioso, ossia una maggior differenza artero-venosa (Fig 2).

Gittata Sistolica

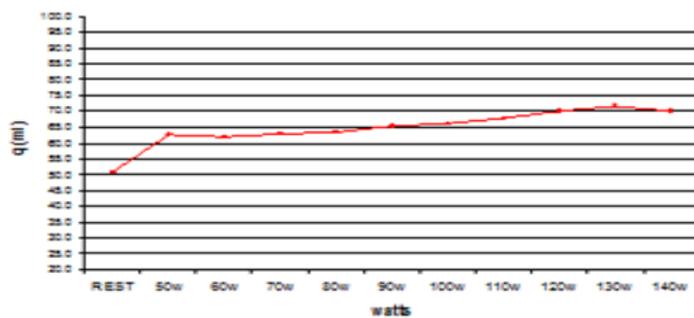


Fig.1

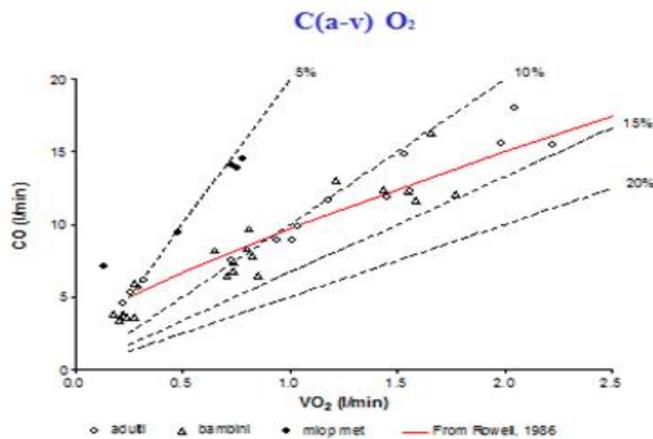


Fig.2

Il massimo consumo di ossigeno (VO_{2max}) è un flusso che indica la velocità massima al quale l'ossigeno può essere preso ed utilizzato dal corpo durante esercizi intensi, ovvero la massima potenza aerobica (capacità di consumare ossigeno). Tramite questo parametro è possibile valutare l'efficienza del sistema cardiocircolatorio e respiratorio.

1.3 FATTORI LIMITANTI IL VO_{2max}

Il VO_{2max} è limitato da:

- fattori polmonari: la ventilazione alveolare e la capacità di diffusione dell'ossigeno attraverso la membrana alveolo-capillare
- fattori ematici: cioè la capacità di trasporto dell'ossigeno da parte del sangue
- fattori cardiocircolatori: la gittata cardiaca Q e la circolazione periferica, in particolare quella muscolare
- fattori tissutali: la capacità di diffusione dell'ossigeno dai capillari alla cellula e la capacità di utilizzazione dell'ossigeno da parte dei tessuti.

A lungo si è discusso su quali tra questi fattori limitino maggiormente il VO_{2max} .

La funzione polmonare non pare costituire un fattore prioritario limitante la massima prestazione, perché la ventilazione polmonare aumenta con l'aumentare delle richieste metaboliche. Grazie a questo aumento le pressioni parziali dell'ossigeno e dell'anidride carbonica nel sangue arterioso rimangono relativamente costanti anche nel corso di lavoro muscolare molto intenso. Questo dimostrerebbe che si raggiunge comunque l'equilibrio di pressione dei gas tra il sangue capillare nei polmoni e l'aria alveolare.

1.3.1 FATTORI LIMITANTI IL VO_{2max} SECONDO HILL E LUPTON

Hill e Lupton sostengono che il VO_{2max} , in normoxia, è limitato principalmente da fattori cardiocircolatori cioè dalla gittata cardiaca e dal flusso sanguigno nei muscoli. La gittata cardiaca consente al sistema cardiocircolatorio di adeguarsi alla richiesta di ossigeno necessaria per compiere attività fisica. I valori più elevati della gittata cardiaca riflettono la massima capacità di trasporto dell'ossigeno ai tessuti.

La gittata cardiaca è data dal prodotto della gittata sistolica (gs) (cioè il volume di sangue espulso dal ventricolo ad ogni sistole) per la frequenza cardiaca (fc). ($Q = gs \times fc$)

Hill e Lupton sostengono che questo sia il maggior fattore limitante poiché la principale differenza tra soggetti allenati e sedentari è la massima gittata cardiaca.

La frequenza cardiaca massima nell'atleta e nel sedentario non cambia in quanto è determinata dall'età del soggetto e non dall'allenamento. A pari intensità d'esercizio la frequenza cardiaca nell'atleta sarà inferiore a quella del sedentario, ma la frequenza cardiaca massima sarà la stessa(Fig.3):

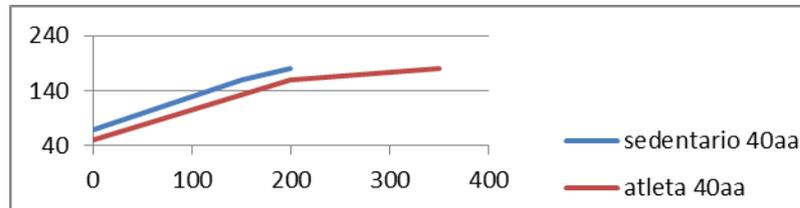


Fig.3

La differenza sostanziale tra atleti e sedentari sta nella gittata sistolica:

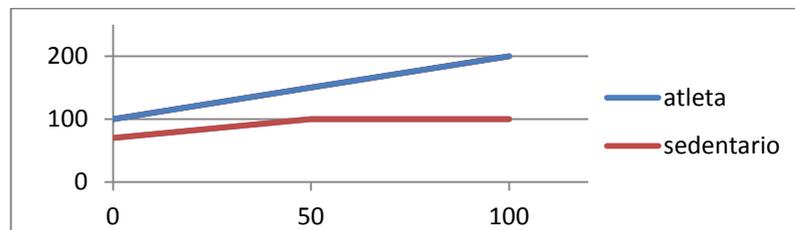


Fig.4

Infatti nel sedentario la gittata sistolica aumenta fino al 50% della potenza massima per poi rimanere costante o diminuire leggermente. Questa diminuzione dipende dal fatto che nel sedentario il circolo sanguigno è troppo veloce per riempire completamente il ventricolo durante la diastole e di conseguenza la quantità di sangue espulsa in un battito sarà minore. Nell'atleta invece, una volta raggiunto il 50% della potenza massima, la gittata sistolica aumenta ulteriormente fino a raggiungere un valore quasi doppio rispetto quello dei sedentari.(Fig.4) Questo avviene in quanto il cuore, attraverso l'allenamento sviluppa degli adattamenti e dei cambiamenti fisiologici che permettono una sua maggior efficienza sotto sforzo.

Quindi per Hill e Lupton la principale variabile che determina la differenza di VO_{2max} tra sedentari e atleti è la massima gittata cardiaca tanto che vi è una relazione lineare tra VO_{2max} e Q_{max} (Fig5):

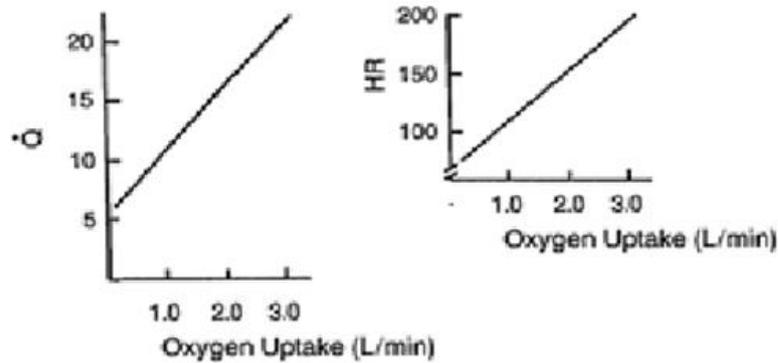


Fig.5

Questa relazione è influenzata soprattutto dalle variazioni di emoglobina e in piccola parte dalla differenza artero-venosa.

L'ossigeno viene trasportato nel sangue in due forme: liberamente disciolto per un totale di 3 ml di ossigeno per litro di sangue, o legato all'emoglobina che aumenta del 65-70% il trasporto di ossigeno.

L'emoglobina lega l'ossigeno nel polmone per cederlo a livello dei tessuti periferici. Negli alveoli polmonari l'ossigeno si discioglie e passa al plasma che attraversa i capillari, passa poi all'interno dei globuli rossi dove si lega all'emoglobina. Il legame con l'emoglobina permette che altro ossigeno si diffonda dall'alveolo al plasma. Finché rimane sull'emoglobina l'ossigeno non viene utilizzato.

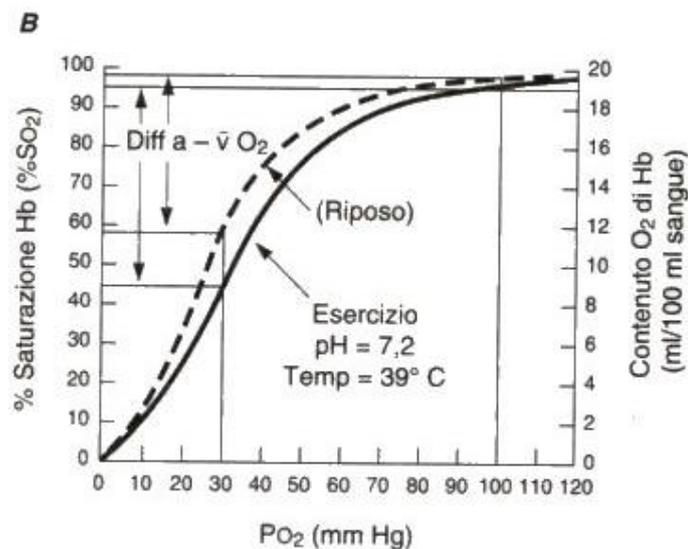


Fig.6

L'andamento sigmoide della curva di saturazione dell'emoglobina indica che l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno non è sempre uguale ma varia al variare della pressione del gas. A livello polmonare la PO_2 ha il valore di circa 100 mmHg, e la curva si trova al livello di saturazione del 100%: tutta l'emoglobina è carica di ossigeno. A livello dei capillari periferici

la PO_2 varia a seconda del consumo. Ad esempio, nel muscolo che si contrae attivamente il consumo fa scendere la PO_2 al di sotto di 15-20mmHg e l'emoglobina si trova nella parte di curva che corrisponde ad una saturazione inferiore del 50%. Tra questi due estremi vi sono le situazioni in cui il consumo di ossigeno è modesto, ad esempio quando la cellula sta semplicemente svolgendo le proprie funzioni vitali.(Fig.6)

Misurare l'emoglobina significa sapere quanto ossigeno un soggetto è in grado di distribuire ai propri tessuti; infatti maggiore è la quantità di emoglobina maggiore è la quantità di ossigeno che può essere portata ai tessuti, permettendo al metabolismo di produrre più energia.

1.3.2 FATTORI LIMITANTI IL VO_{2max} SECONDO WAGNER

Per Wagner il principale fattore limitante del VO_{2max} è la diffusione dell'ossigeno. Wagner infatti considera il VO_{2max} come la conseguenza di una risposta integrata di tutti i fattori che intervengono nella catena di trasporto dell'ossigeno dall'atmosfera ai mitocondri. Tra questi fattori ad influire maggiorante è la capacità di diffusione dell'ossigeno a livello dei tessuti. Secondo Wagner il flusso convettivo dell'ossigeno a livello della circolazione gioca un ruolo secondario rispetto alla capacità di diffusione dell'ossigeno a livello dei tessuti, in quanto determina esclusivamente il livello di PO_2 nel capillare muscolare, quindi il gradiente di pressione che regola il flusso diffusivo di ossigeno nel tessuto.

Il ruolo primario è invece sostenuto dalla diffusione dell'ossigeno dalla molecola di emoglobina al mitocondrio. Per dimostrare quanto affermato Wagner ha aumentato del 20% ogni step del trasporto di ossigeno ed ha misurato l'aumento del VO_{2max} :

- aumentando la frazione di ossigeno inspirato, il VO_{2max} aumenta del 5%
- aumentando la ventilazione, il VO_{2max} aumenta del 1,3%
- aumentando la capacità di diffusione polmonare, il VO_{2max} aumenta del 2,9%
- aumentando la diffusione di ossigeno del muscolo scheletrico, il VO_{2max} aumenta del 5% e oltre
- aumentando l'emoglobina, il VO_{2max} aumenta del 3,9%
- aumentando la gittata cardiaca, il VO_{2max} aumenta del 2,6%.

Si nota che aumentando la conduzione muscolare dell'ossigeno il VO_{2max} aumenta del 5% poiché aumenta il flusso di ossigeno dal sangue alle cellule, mentre aumentando Q si riduce il tempo di transito del sangue nei polmoni e nei capillari muscolari e questo peggiora la diffusione di ossigeno con conseguente aumento del VO_{2max} minore. Quindi per avere un

VO_{2max} elevato è necessario sia avere una grande gittata cardiaca che un buon trasporto di ossigeno dai capillari muscolari ai mitocondri, il quale permette una quasi totale estrazione di ossigeno dal veloce torrente circolatorio.

Secondo Wagner il VO_{2max} risulta quindi dall'interazione tra flusso convettivo da parte del circolo capillare (su cui influiscono fattori quali pressione d'ossigeno inspirata, funzione polmonare, emoglobina e gittata cardiaca) ed il flusso diffusivo.

1.3.3 DI PRAMPERO: LE RESISTENZE AL TRASPORTO DI OSSIGENO

Di Prampero ha calcolato il peso relativo dei principali fattori o gruppi di fattori che determinano il VO_{2max} . Secondo di Prampero il percorso dell'ossigeno dall'ambiente al mitocondrio è disposta in serie. Ogni singolo step della cascata dell'ossigeno può essere visto come una resistenza superata da uno specifico gradiente di pressione.

Le resistenze, disposte in serie, sono le resistenze al flusso di O_2 e i corrispondenti gradienti di pressione si riferiscono alla caduta di pressione parziale di ossigeno attraverso le resistenze. Ponendo che il gradiente di pressione complessivo rimane invariato, i cambiamenti della VO_{2max} devono essere interamente dovuti a cambiamenti delle resistenze complessive.

Volendo misurare quantitativamente il ruolo delle singole resistenze nel limitare il VO_{2max} è necessario assegnare un valore preciso al rapporto tra una data resistenza e la resistenza totale, cosa che tutt'ora non siamo in grado di fare con precisione poiché non ci sono sufficienti dati per calcolare i vari rapporti.

Per di Prampero la resistenza totale può essere suddivisa in 4 principali resistenze:

- R_v dipendente dalla ventilazione alveolare
- R_Q dipendente dal trasporto di ossigeno tramite il sangue
- R_t dipendente dalla diffusione di ossigeno
- R_m dipendente dalla capacità mitocondriale.

R_v : La resistenza al trasporto alveolare è la capacità di diffusione polmonare, cioè il volume di gas che passa dall'alveolo al globulo rosso nell'unità di tempo.(Fig.7) R_v non è considerato un fattore limitante poiché, anche durante esercizi massimali, la diffusione polmonare rimane intorno al 95%. Infatti, anche in condizioni massimali, la velocità del sangue nei capillari polmonari non supera di più del 50 % la sua velocità in condizioni di riposo. La diffusione

polmonare si mantiene costante in quanto con un elevata gittata cardiaca si realizza il fenomeno del reclutamento capillare che aumenta il volume del sangue contenuto nel distretto capillare di circa 3 volte rispetto alla condizione di riposo.

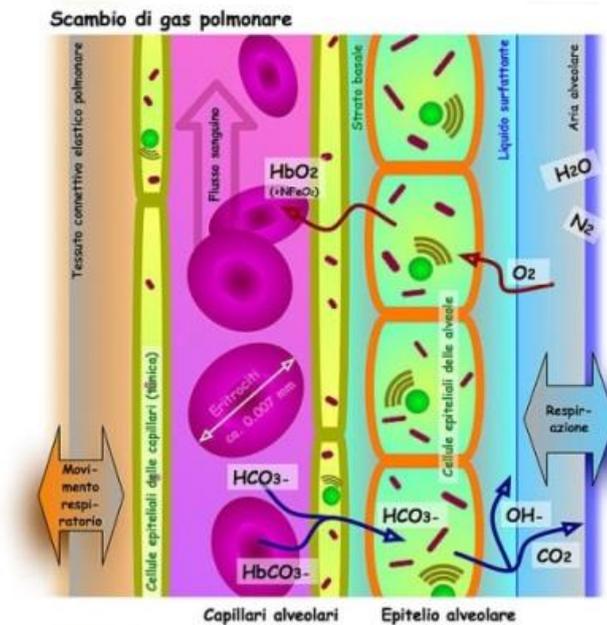


Fig.7

R_v , allora, non è considerato un fattore limitante poiché, durante esercizi massimali, la gittata cardiaca aumenta e, grazie al fenomeno del reclutamento capillare, aumenta il volume del gas contenuto nel distretto capillare di circa 3 volte rispetto alla condizione di riposo. Grazie a all'aumento di Q ed al reclutamento capillare, la diffusione polmonare rimane intorno al 95%.

R_Q : la resistenza data dalla circolazione al trasporto d'ossigeno è data in maggior parte dalla massima gittata cardiaca. Come precedentemente illustrato, Q è il principale fattore che spiega le differenze individuali nella VO_{2max} soprattutto tra sedentari ed allenati, infatti il cuore degli atleti, soprattutto quelli endurance, ha una maggior capacità di pompare il sangue. Questo permette di avere un miglior VO_{2max} in quanto esiste una relazione lineare tra gittata cardiaca e VO_2 .

R_t : è la resistenza di diffusione dell'ossigeno dai capillari sanguigni al mitocondrio. Il principale sito di resistenza della diffusione dell'ossigeno è tra emoglobina (globulo rosso) e il sarcolemma del muscolo. Durante l'esercizio fisico la rete capillare dei muscoli si apre, vasodilatandosi, così da diminuire drasticamente la distanza di diffusione dell'ossigeno e permettendo un'estrazione dell'ossigeno quasi massimale. Nel corso del lavoro muscolare, il

rilascio di ossigeno dall'emoglobina avviene anche senza un aumento di flusso sanguigno tissutale. La quantità di ossigeno rilasciata ai muscoli aumenta di circa tre volte rispetto a quella rilasciata a riposo. Questa capacità del muscolo di utilizzare tutto l'ossigeno disponibile, supporta la teoria secondo la quale il fattore limitante la potenza aerobica durante l'esercizio non sia l'estrazione di ossigeno da parte del muscolo bensì l'apporto di sangue del muscolo stesso.

Per Honig il trasporto dell'ossigeno non è un fattore limitante poiché la differenza tra la pressione dell'ossigeno nel sangue e nelle cellule è necessaria affinché avvenga lo scambio tra i diversi compartimenti. Di conseguenza senza un gradiente di diffusione periferico, l'estrazione dell'ossigeno non potrebbe avvenire, ne tanto meno aumentare.

Ma, premettendo che senza flusso sanguigno il VO_{2max} sarebbe zero, il limite rimane nell'estrazione di ossigeno da parte del muscolo; infatti aumentando la differenza di concentrazione artero-venosa di ossigeno nel muscolo, è possibile aumentare il VO_{2max} . Questo avviene in quanto, grazie all'allenamento, aumenta la densità capillare con un conseguente miglioramento nel trasporto di ossigeno. È possibile, quindi, mantenere una buona estrazione di ossigeno anche quando il flusso sanguigno nel muscolo è elevato e veloce.

Quindi, per avere un elevato VO_{2max} , non è sufficiente avere una elevata gittata cardiaca ma è necessario mantenere alta la differenza di concentrazione artero-venosa di ossigeno nel muscolo. Il muscolo deve cioè possedere una buona capacità di estrazione di ossigeno.

R_m : dipende dalla capacità mitocondriale. Il mitocondrio è il sito dove l'ossigeno viene utilizzato per ricavare atp tramite il ciclo di Krebs. Raddoppiando il numero dei mitocondri si ottiene un aumento del VO_{2max} del 20-40%, ma l'effetto principale dovuto all'incremento degli enzimi mitocondriali è di migliorare le performance di resistenza più che quello di aumentare il VO_{2max} . Questo perché aumentando gli enzimi mitocondriali si ottengono due effetti metabolici:

- il muscolo si adatta all' esercizio di resistenza ossidando i grassi e risparmiando le riserve di glicogeno nel muscolo e di glucosio nel sangue
- vi è una diminuzione nella produzione di acido lattico durante l'esercizio.

1.3.4 DI PRAMPERO: IL CALCOLO DELLE RESISTENZE

Di Prampero ha suddiviso la cascata d'ossigeno in 4 step:

Il primo step della cascata di ossigeno è il trasporto conduttivo di ossigeno dall'ambiente agli alveoli:

$$VO_2 = V_A(F_I - F_A) = V_A \cdot Bg(P_I - P_A)$$

Dove:

- V_A = ventilazione alveolare
- F_I = frazione di ossigeno nell' aria inspirata
- P_I = pressione aria inspirata
- F_A = frazione di ossigeno nei gas alveolari
- P_A = pressione di ossigeno nei gas alveolari
- $Bg = \frac{F_I - F_A}{P_I - P_A}$ ed è il coefficiente di trasporto per l'ossigeno nei gas: 0,0517mmol/l*mmHg o 1,16ml/l*mmHg a 37°C.

Il trasporto conduttivo di ossigeno dall'ambiente agli alveoli è seguito dalla diffusione dell'ossigeno dagli alveoli al sangue arterioso:

$$VO_2 = DL'(P_A - P_a)$$

Dove:

- P_A = pressione di ossigeno nei gas alveolari
- P_a = pressione parziale di ossigeno nel sangue arterioso
- DL' è dimensionalmente, ma non numericamente, uguale alla capacità di diffusione dell'ossigeno, che è data dal rapporto del VO_2 per la differenza di pressione parziale tra alveoli e la media della pressione parziale nei polmoni e nel sangue alveolare.

Per semplicità è possibile unire questi due step in un unico step definendo un equivalente della ventilazione alveolare (V_A) che soddisfi le seguenti condizioni:

$$VO_2 = V_A \cdot Bg(P_I - P_a)$$

Il secondo step è un processo di trasporto conduttivo:

$$VO_2 = Q(C_a - C_v) = QBb(P_a - P_v)$$

Dove:

- Q= gittata cardiaca
- Bb= pendenza media della curva di dissociazione di ossigeno nel sangue: $B=(C_a-C_v)/(P_a-P_v)$.

Al VO_{2max} , in soggetti non allenati, B è pari a 1,75ml/l*mmHg: $B=(200-60)/(100-20)=1,75ml/l*mmHg$.

A differenza di Bg, che rimane costante a qualsiasi temperatura, Bb varia notevolmente in base alla curva di dissociazione dell'O₂, quindi in base alla temperatura, all'anidride carbonica e alla produzione di acidi.

Il terzo step della cascata di ossigeno è il trasporto diffusivo di ossigeno dai capillari muscolari ai mitocondri:

$$VO_2=Dt(P_v-P_t)$$

Dove: Dt è dimensionalmente ma non numericamente uguale alla diffusione periferica di ossigeno

L'ultimo step è l'uso di ossigeno da parte dei mitocondri:

$$VO_2=M(P_t-P_m)$$

Dove M si riferisce ad una funzione della capacità complessiva dei mitocondri di consumare ossigeno.

È ora possibile, tramite le equazioni dei singoli step, ricavare le variabili fisiologiche delle 4 resistenze al flusso di ossigeno, considerando che allo steady state il flusso di ossigeno attraverso ogni resistenza è uguale al flusso complessivo: $VO_2=\Delta P_1/R_1= \dots = \Delta P_n/R_n$

Tramite questi 4 step è possibile ricavare le 4 resistenze:

$$R_v=(P_t-P_a)/VO_2=1/(V_A*B_g)=1/G_v$$

$$R_Q=(P_a-P_v)/VO_2=1/(Q*B_b)=1/G_Q$$

$$R_t=(P_v-P_t)/VO_2=1/D_t=k_t/CSA=1/G_t$$

$$R_m=(P_t-P_m)/VO_2=1/M=k_m/[SDA]=1/G_m$$

Dove:

- V_A è l'equivalente della ventilazione alveolare
- Q la gittata cardiaca al massimo sforzo
- CSA è l'area della sezione trasversale dei capillari del muscolo scheletrico, che è proporzionale alla diffusione e perfusione periferica
- $[SDA]$ è l'attività del succinato deidrogenasi (o volume frazionario mitocondriale) che è proporzionale alla capacità ossidativa mitocondriale
- K_t e $K_m = 1$ e sono introdotte per omogeneità dimensionale

1.3.5 L'INFLUENZA DEI FATTORI LIMITANTI IL VO_{2max} DURANTE L'ESERCIZIO

Dalle formule precedentemente illustrate è possibile affermare che:

- Durante esercizi con grandi gruppi muscolari in normoxia, il maggior fattore limitante il VO_{2max} , circa il 70-75%, è la capacità di trasportare O_2 (R_Q) cioè il prodotto tra Q_{max} e il coefficiente del trasporto di ossigeno per il sangue (Bb). Quindi ad un incremento del 10% del prodotto di $Q_{max} * Bb$ corrisponde un aumento del 7% del VO_{2max} . In questi esercizi il restante 25-30% dei limiti di VO_{2max} sono quasi equamente suddivisi tra le 2 resistenze periferiche: la perfusione e diffusione muscolare e la capacità mitocondriale. Con un incremento del 10% di questi due fattori si ha un aumento del VO_{2max} del 3%. Questo avviene se non si considera R_v come fattore limitante
- Durante esercizi con piccoli gruppi muscolari in normoxia il peso della resistenza cardiovascolare sul VO_{2max} diminuisce circa del 50%, mentre il ruolo delle resistenze periferiche aumenta del 50% distribuito equamente tra perfusione e diffusione (R_t) e capacità mitocondriale (R_m)
- Durante esercizi con grandi gruppi muscolari in ipossia, il polmone (R_v) diventa progressivamente un fattore limitante poiché, aumentando l'altitudine, il punto arterioso della curva di dissociazione dell'ossigeno si sposta progressivamente verso la parte più ripida. In questo caso il ruolo della resistenza cardiovascolare (R_Q) è ridotta e aumenta quello delle resistenze periferiche (R_t e R_m)
- In atleti caratterizzati da un VO_{2max} e Q_{max} elevati in normoxia, si riduce il tempo di transito dal capillare polmonare e questo porta a una piccola desaturazione del sangue arterioso. In questo modo il punto arterioso si sposta verso la parte più ripida della curva di dissociazione dell'ossigeno.

1.4 METABOLISMO ANAEROBICO

Nel ciclismo non interviene solamente il metabolismo aerobico. Durante le fasi più intense, interviene il metabolismo anaerobico in assenza di ossigeno e con accumulo di acido lattico.

L'acido lattico viene trasformato in piruvato che, entrando nel ciclo di Krebs, produce atp.

L'accumulo di acido lattico a bassa intensità di esercizi è trascurabile: con l'intensificarsi dell'esercizio, l'acido lattico si accumula nel muscolo e non viene totalmente smaltito tramite il ciclo di Krebs. Questo provoca una diminuzione del rendimento tale da costringere l'atleta a fermarsi. Questo accumulo di acido lattico sposta la curva di deossigenazione dell'emoglobina a destra (effetto Bohr) ovvero si ha una diminuzione della quantità di emoglobina saturata, in particolar modo a basse quantità di ossigeno. L'effetto Bohr si può verificare per i seguenti motivi:

- aumento CO₂
- produzione acido lattico
- la temperatura corporea si abbassa

Lo spostamento della curva verso destra, comporta un minor apporto ed utilizzo di ossigeno che influenza notevolmente la prestazione atletica.

Nel nostro studio andiamo a valutare R_t tramite NIRS, un metodo non invasivo che permette il monitoraggio dell'ossigenazione nel muscolo, mettendola in relazione con l'accumulo di acido lattico.

Se l'accumulo dell'acido lattico sia da attribuire ad uno squilibrio tra l'apporto e la richiesta di ossigeno, è controversa. La questione è ulteriormente complicata dal fatto che la concentrazione di acido lattico nel sangue non può essere considerata un indice diretto della produzione di lattato nel muscolo in quanto i muscoli, come altri tessuti e organi, usano il lattato anche per soddisfare le richieste energetiche.

Lo scopo di quest'elaborato non è quello di determinare quale sia il principale fattore limitante il VO_{2max} ma valutare se vi è una correlazione tra l'accumulo di acido lattico e l'ossigenazione muscolare, e determinare il punto della potenza a cui l'acido lattico rimane costante.

CAPITOLO 2

In questa tesi sperimentale abbiamo testato 20 ciclisti professionisti durante un test incrementale al cicloergometro, con l'obiettivo di misurare la variazione della concentrazione di acido lattico e della perfusione periferica. Il protocollo sperimentale, che prevede cinque carichi della durata di sei minuti ciascuno, ha permesso di individuare il carico meccanico esterno al quale corrisponde una sostanziale costanza sia della concentrazione di acido lattico *AL* che della perfusione muscolare (steady state). Tale valore di potenza meccanica può essere utilizzata come parametro per programmare le future sedute di allenamento.

2.1 METODI

2.1.1 CAMPIONE

Tutti gli esperimenti sono stati condotti a Senago, Italia (176 mt slm) presso lo studio Nuova Dimensione Sport nel periodo tra marzo e giugno 2007. Sono stati condotti alla presenza di un medico, con il consenso informato da parte dei soggetti.

Il test è stato condotto su 20 ciclisti della categoria Under 23 appartenenti alle squadre Fgm Michelin (italiana) e FiDIBICI (svizzera). I soggetti erano molto ben allenati, percorrevano tra i 12000 e i 17000 km annui (tra gare e allenamento) e partecipavano a gare nazionali e internazionali con buoni risultati. Nessuno dei soggetti presentava patologie, fumava o assumeva alcuna terapia farmacologica al momento dell'esecuzione degli esperimenti.

2.1.1.1 COMPOSIZIONE CORPOREA DEI SOGGETTI

Sono stati coinvolti 20 ciclisti di sesso maschile.

Caratteristiche antropometriche:

- età 21 ± 2 anni (media \pm d.s; range 19÷26, n=20);
- altezza $1,76 \pm 0,07$ m (media \pm d.s; range 1.62÷1.87, n=20);
- peso 66.8 ± 6.4 kg (media \pm d.s; range 55.3÷76, n=20),
- BMI 21.6 ± 1.4 kg m^{-0.5} (media \pm d.s; range 18.91÷24.17, n=20).
- percentuale di grasso 5.4 ± 2.4 % (media \pm d.s; range 3.3÷12.7, n=20)

La percentuale di massa grassa è stata valutata tramite la metodica della plicometria. Per calcolare il peso specifico e la percentuale di massa grassa abbiamo utilizzato la formula

proposta da Pollock che utilizza tre pliche cutanee: plica medioascellare, plica addominale e la plica anteriore della coscia (Jackson and Pollock. 1978). In base alla sommatoria delle tre pliche cutanee Σ (misurata in $m \cdot 10^{-3}$) è possibile calcolare il peso specifico del soggetto e la percentuale di grasso secondo le formule:

$$\text{peso specifico} = 1.1094 - 0.00083 \cdot \Sigma + 0.0000016 \cdot \Sigma^2 - 0.00026 \cdot \text{età(anni)}$$

$$\text{percentuale massa grassa (\%)} = (495 / \text{peso specifico}) - 450$$

Soggetto	Squadra	Età anni	Data Test	Altezza m	Peso kg	Plicaascellare m ³	Plica addominale m ³	Plica quadricipite m ³	Peso specifico kg m ⁻³	%Fat %	BMI kg m ^{-0,5}
C.D	Fidibici	21	19/03/2007	1,76	74,0	5,5	6,5	7,0	1,09	4,65	23,89
F.A	Fidibici	23	19/03/2007	1,64	65,0	6,5	11,5	6,0	1,08	6,46	24,17
C.Da	Fidibici	24	20/03/2007	1,83	76,0	4,0	6,0	5,0	1,09	3,68	22,69
J.M	Fidibici	20	20/03/2007	1,80	74,0	4,5	7,0	7,5	1,09	4,54	22,84
A.F	Fidibici	22	20/03/2007	1,86	74,6	5,0	7,0	6,5	1,09	4,60	21,56
C.S	Fidibici	23	20/03/2007	1,72	62,4	4,2	5,0	5,0	1,09	3,31	21,09
B.S	Fidibici	19	22/03/2007	1,87	74,8	5,0	6,5	5,5	1,09	3,79	21,39
A.Fa	Fidibici	19	22/03/2007	1,80	69,0	5,0	7,0	10,0	1,09	5,39	21,30
A.A	Fidibici	26	22/03/2007	1,80	72,3	8,0	17,0	18,0	1,07	12,66	22,31
V.F	Fgm	21	18/04/2007	1,76	67,6	6,0	7,0	10,5	1,09	6,09	21,82
B.St	Fgm	20	18/04/2007	1,73	67,8	9,0	15,0	15,0	1,07	10,78	22,65
B.Se	Fgm	20	18/04/2007	1,72	62,5	4,0	7,0	12,0	1,09	5,82	21,13
D.L.M	Fgm	20	18/04/2007	1,77	66,1	5,5	11,0	8,0	1,08	6,29	21,10
K.T	Fgm	19	giu-07	1,81	64,5	5,5	6,0	7,0	1,09	4,27	19,69
P.C	Fidibici	23	giu-07	1,83	71,5	8,0	9,0	10,5	1,08	7,57	21,35
M.M	Fidibici	21	giu-07	1,62	58,4	4,5	5,0	7,0	1,09	3,85	22,25
B.G	Fgm	22	giu-07	1,75	60,3	4,0	6,0	6,0	1,09	3,79	19,69
A.G	Fgm	21	giu-07	1,69	62,3	4,5	6,5	4,5	1,09	3,52	21,81
M.R	fgm	22	giu-07	1,69	57,4	4,0	6,5	6,5	1,09	4,11	20,10
C.F	fgm	20	giu-07	1,71	55,3	5,0	6,0	6,0	1,09	3,90	18,91
Media		21		1,76	66,8	5,4	7,9	8,2	1,09	5,45	21,59
Max		26		1,87	76,0	9,0	17,0	18,0	1,09	12,66	24,17
Min		19		1,62	55,3	4,0	5,0	4,5	1,07	3,31	18,91
Dev. St		2		0,07	6,4	1,5	3,2	3,5	0,01	2,45	1,35

Tabella 1. Caratteristiche dei soggetti. La tabella comprende le caratteristiche dei soggetti.

2.1.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE

E' stato utilizzato un protocollo con cinque carichi incrementali, della durata di 6 minuti ciascuno. Durante tutto l'esercizio è stata monitorata la perfusione periferica del muscolo vasto laterale del quadricipite sinistro tramite la tecnica NIRS, ed è stata misurata la concentrazione capillare di acido lattico AL in corrispondenza degli ultimi tre carichi.

Il protocollo prevede cinque carichi della durata di 6 minuti ciascuno, partendo da un carico di $0.85 \text{ watt kg}^{-1}$ con un incremento di 1 watt kg^{-1} fino ad arrivare a $4.85 \text{ watt kg}^{-1}$ durante l'ultimo carico. (Fig. 1) L'intero esperimento è stato condotto a una frequenza di pedalata costante, compresa fra 90-95 pedalate al minuto (1.50-1.58 Hz) che corrisponde alla frequenza di pedalata solitamente scelta dall'atleta durante la maggior parte del tempo in gara.

Il protocollo è stato disegnato allo scopo di confrontare tutti gli atleti, indipendentemente dal loro peso e dalla loro valenza atletica, con un carico massimo ($4.85 \text{ watt kg}^{-1}$) corrispondente alla potenza specifica sviluppata durante le fasi più impegnative della gare Under23 internazionali (Allen and Coggan, 2010). Inoltre la durata dei carichi è stata scelta sufficientemente lunga per poter misurare le variazioni di concentrazione di acido lattico e di perfusione periferica nel tempo in una condizione di steady state.

Durante gli ultimi tre carichi dell'esperimento, è stata misurata, due volte per ogni carico, la concentrazione di acido lattico (AL). Gli ultimi tre carichi corrispondono a 2.85, 3.85 e $4.85 \text{ watt kg}^{-1}$ e, da qui in poi, verranno definiti come carico basso W_{low} , medio W_{medium} e alto W_{high} rispettivamente.

La concentrazione di acido lattico AL è stata misurata due volte per ogni carico per poter calcolare la variazione della concentrazione di AL nel tempo ($\Delta AL/\Delta t$). In particolare la misurazione di AL avviene al terzo minuto, per evitare che il valore sia falsato da un repentino incremento del carico, e al sesto minuto per assicurare un intervallo temporale sufficientemente lontano dalla prima misurazione, in modo da misurare correttamente le variazioni di AL nel tempo $\Delta AL/\Delta t$ corrispondente alla potenza di esercizio imposta.

La perfusione periferica del muscolo e la frequenza cardiaca f_c sono state monitorate continuamente durante l'intero esercizio.

In alcuni casi (9 su 20) è stata registrata la traccia elettrocardiografia a 12 derivazioni, mentre nei restanti casi abbiamo monitorato solo il valore di fc tramite un cardiofrequenzimetro.

Dodici soggetti hanno completato il protocollo sperimentale imposto di 30 minuti.

Per questi soggetti è stato possibile raccogliere tutti i dati di AL e di perfusione periferica previsti dal protocollo.

Otto soggetti hanno interrotto la prova prima del termine previsto per aver raggiunto l'intensità massima durante l'esercizio.

Tra questi otto soggetti, tre hanno eseguito l'ultimo carico W_{high} per almeno cinque minuti, quindi anche per questi tre soggetti è stato possibile raccogliere tutti i dati di AL e di perfusione periferica previsti dal protocollo poiché si è ritenuto che cinque minuti siano sufficienti per raggiungere lo steady state sia di AL che della perfusione periferica. I restanti cinque soggetti hanno interrotto l'esercizio troppo precocemente perché possano essere misurati sia a AL che $\Delta AL/\Delta t$ che la perfusione periferica durante W_{high} .

In seguito, le misure di AL e di perfusione periferica ottenute verranno trattate separatamente, dividendo il gruppo degli atleti che hanno completato il protocollo (12 soggetti, gruppo definito F), dagli atleti che hanno interrotto precocemente l'esercizio (8 soggetti), gruppo definito NF.

Durante la prova i soggetti venivano verbalmente incitati perché esprimessero realmente il loro massimo impegno.

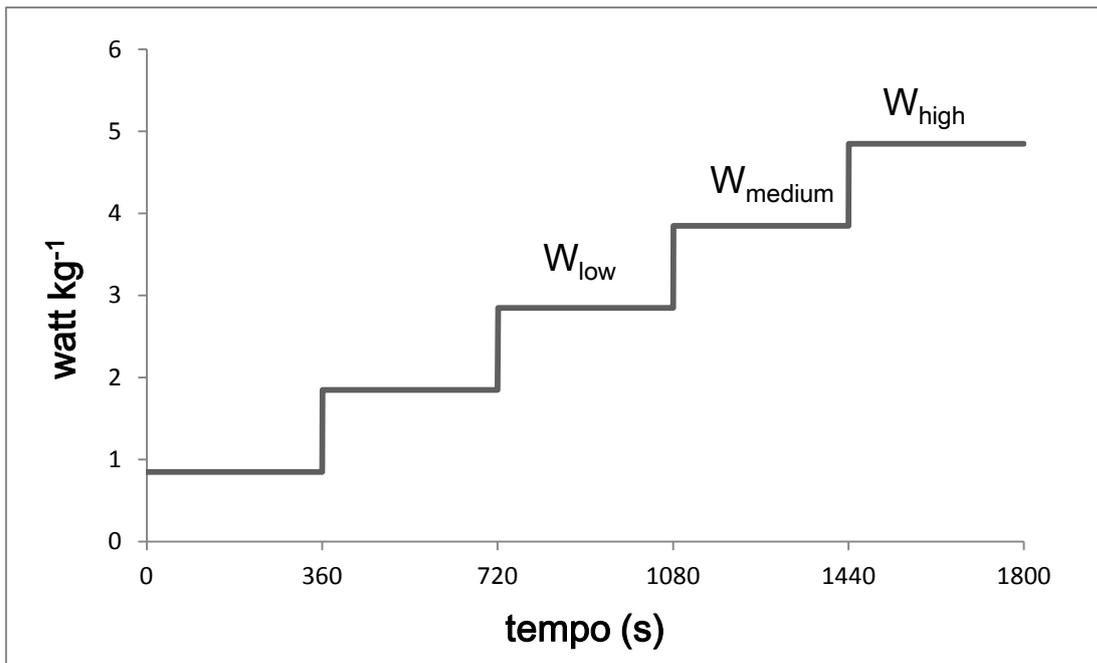


Fig 1. Protocollo standard. La figura mostra il protocollo standard, imposto al soggetto, che prevede cinque carichi a potenza crescente, della durata di 360 s ciascuno, corrispondenti a 0.85 watt kg⁻¹, 1.85 watt kg⁻¹, 2.85 watt kg⁻¹, 3.85 watt kg⁻¹ e 4.85 watt kg⁻¹.

2.2 STRUMENTI

2.2.1 CICLOERGOMETRO

E' stato usato un cicloergometro Monark 818 modificato sul quale è stato installato il sistema SRM professional per la misura della potenza meccanica esterna W_{ext} . (fig. 2).

Il cicloergometro è dotato di manubrio, sella e pedali a sgancio rapido come la bicicletta da gara; inoltre il soggetto può modificare la posizione in sella adattandola alle sue misure agendo sulla altezza e sull'arretramento della sella rispetto ai pedali.



Fig 2. Cicloergometro Monark 818 modificato. Cicloergometro Monark 818 modificato dotato di SRM, manubrio, sella e pedali a sgancio rapido come la bicicletta da gara.

La potenza meccanica corrispondente ad ogni carico è stata calcolata sulla base del peso del soggetto ed è stata imposta manualmente tramite il freno a pendolo del Monark. Successivamente, al termine dell'esperimento, si è calcolata la potenza meccanica esterna W_{ext} effettivamente sviluppata durante ogni carico, elaborando le tracce derivanti dalla registrazione SRM. La calibrazione dello zero elettrico del SRM è stata effettuata prima di ogni esperimento.

2.2.2 ACCUSPORT

La concentrazione di acido lattico AL viene misurata tramite l'analizzatore portatile Accusport (Fig.3) La validazione dell'Accusport è stata effettuata da Bishop 2001.

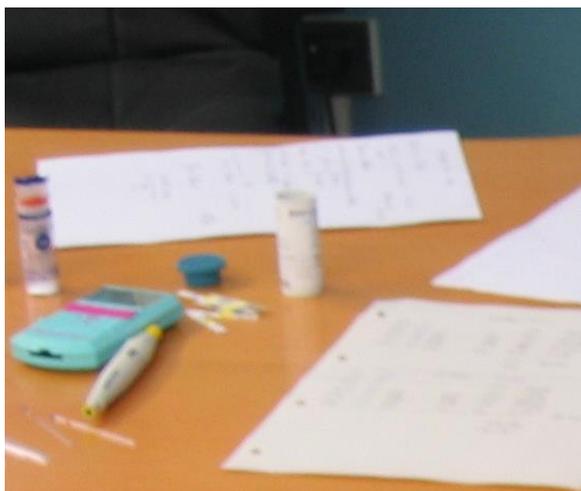


Fig.3 Analizzatore portatile Accusport. Analizzatore Accusport, strisce reattive, capillari graduati e pipetta.

Dopo aver deterso il dito medio con batuffolo di cotone idrofilo impregnato di soluzione di benzoxonio cloruro (BIALCOL, Novartis), viene effettuata una puntura del polpastrello e viene raccolto il sangue capillare tramite un capillare di vetro eparinizzato e graduato (Refloton). Nella maggior parte dei casi è stata effettuata una sola puntura iniziale con normale pungidito, mentre i successivi prelievi sono stati ottenuti spremendo il polpastrello, sempre dopo averlo deterso con il disinfettante cutaneo. Ogni singolo campione prelevato è stato analizzato una sola volta dallo stesso apparecchio. Le specifiche dello strumento prevedono che venga analizzata una goccia di sangue capillare. Questo procedimento potrebbe causare un errore casuale legato al differente volume del campione. Per eliminare quest'eventuale errore, si è raccolto il campione da analizzare tramite un capillare da 16 μ l (Fig 4).

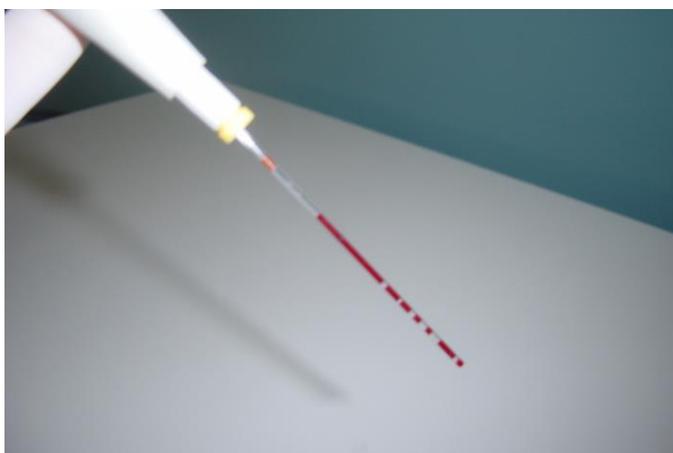


Fig. 4 Misura della concentrazione di acido lattico AL. Il campione di sangue capillare, raccolto nel capillare graduato ed eparinizzato da 16 μ l viene posto sulla striscia reattiva.

Successivamente il campione viene fatto cadere sulla striscia reattiva dello strumento, eliminando in tal modo ogni possibile errore casuale legato al differente volume del campione.

Il protocollo utilizzato prevede la misurazione di AL al terzo e al sesto minuto degli ultimi tre carichi imposti, cioè durante l'esercizio a 2.85, 3.85 e 4.85 watt kg^{-1} : in tal modo è stato possibile misurare la variazione di AL nel tempo $\Delta AL/\Delta t$.

Il calcolo di $\Delta AL/\Delta t$ è stato fatto tenendo in considerazione i tempi esatti di prelievo dei campioni di AL .

I test statistici di significatività per le misure di AL sono stati fatti con test si Student a dati accoppiati.

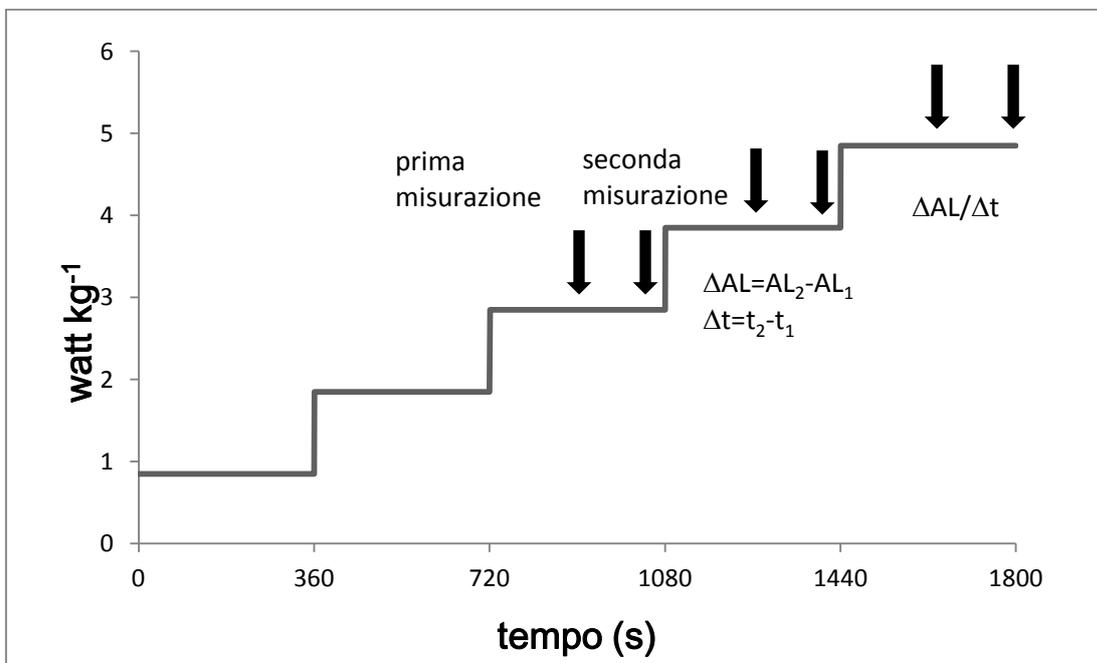


Fig 5. Protocollo con prelievo di lattato. La figura mostra il protocollo di carichi imposto, e le frecce indicano il momento in cui viene misurato il lattato.

2.2.3 NIRS

La NIRS è una tecnica di misura non invasiva in grado di misurare l'ossigenazione muscolare tramite luce nello spettro dell'infrarosso. Viene appoggiata una sonda emettitrice e ricevente di luce infrarossa (lunghezza d'onda $\lambda = 450-700$ nm) sulla superficie cutanea. Per

misurare l'ossigenazione la sonda NIRS emette all'interno del tessuto un fotone NIR che va incontro a due fenomeni:

- L'assorbimento: si manifesta nell'attenuazione di intensità della radiazione durante il suo percorso all'interno del tessuto. Esso è dovuto alla presenza nel tessuto di sostanze assorbenti (cromofori) tra le quali le principali sono l'acqua, i lipidi, l'emoglobina ossigenata (HbO_2) e l'emoglobina deossigenata (HHb)
- La diffusione (o scattering): la dispersione direzionale della luce dovuta alla variazione casuale dell'indice di rifrazione (disomogeneità del tessuto). La dispersione della luce causa un aumento del percorso ottico e quindi dell'attenuazione subita dalla luce.

Il fotone, una volta emesso nel tessuto biologico può essere assorbito totalmente dal tessuto o può fuoriuscire dal tessuto. La sonda NIRS capta la radiazione luminosa fuoriuscita dal tessuto biologico misurando il coefficiente di assorbimento e mediante degli algoritmi ricava le concentrazioni di emoglobina (ossigenata, deossigenata e totale), permettendo di quantificare lo stato di ossigenazione nei tessuti esaminati (Fig. 6).

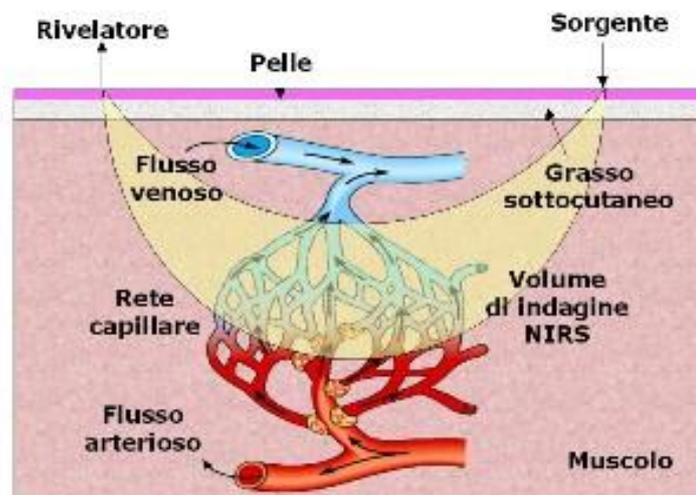


Fig.6 Schema di funzionamento della NIRS. La sorgente emette un fotone che, all'interno del tessuto, viene assorbito dall'emoglobina ossigenata (HbO_2) e dall'emoglobina deossigenata (HHb). Il rivelatore capta la radiazione luminosa in uscita dal tessuto biologico misurando il coefficiente di assorbimento e calcolando la quantità di HbO_2 e HHb.

Nel nostro set-up sperimentale la sonda NIRS (NIMO NIROX, Brescia Italia) registra tre tracciati: l'emoglobina totale tHb (rappresentata nella Fig. 7 dalla traccia superiore di color

verde), l'emoglobina ossigenata HbO₂ (traccia intermedia di color viola) e l'emoglobina deossigenata HHb (rappresentata dalla traccia inferiore color azzurro).

Le concentrazioni di emoglobina (totale, ossigenata e deossigenata) vengono espresse, successivamente ad un algoritmo di proprietà in $\mu\text{M l}^{-1}$

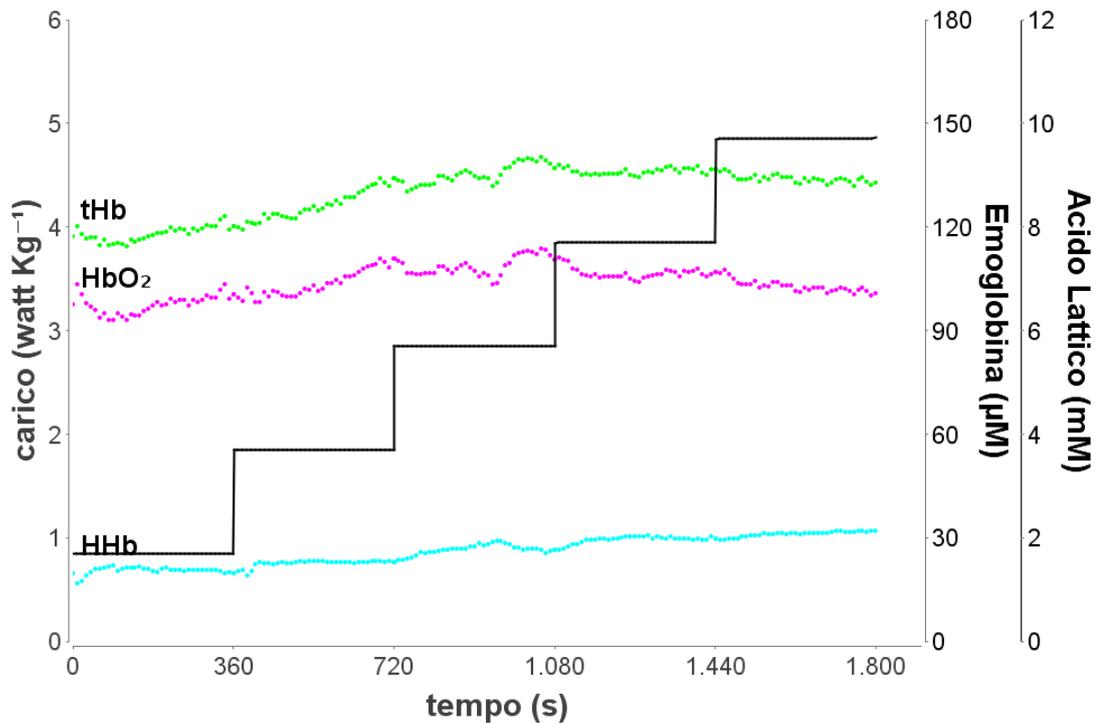


Fig 7. Protocollo standard con tracce NIRS La figura mostra il protocollo standard dell'esercizio e le tracce NIRS corrispondenti a la concentrazione di emoglobina totale (traccia superiore) la concentrazione di emoglobina ossigenata (traccia intermedia) e la concentrazione di emoglobina deossigenata (traccia inferiore).

Nel nostro set-up sperimentale, la sonda NIRS è stata posta in corrispondenza della superficie laterale della coscia sinistra, a metà femore. E' stata fissata con nastro telato Tensoplast alla cute precedentemente depilata. Successivamente la sonda è stata coperta dal pantaloncino da gara del ciclista. (Fig. 8)

Il valore medio della plica cutanea misurata in corrispondenza del punto di misurazione NIRS è $8.2 \pm 3.5 \text{ m } 10^{-3}\text{m}$ (media \pm d.s; range 4.5÷18.0, n=20).



Fig.8 Set-up sperimentale: applicazione della sonda NIRS. La sonda NIRS è fissata con nastro Tensoplast alla cute precedentemente depilata ed è coperta dal pantaloncino durante pedalata.

Per ottenere la variazione della concentrazione dell'emoglobina nel tempo ($\Delta\text{Hb}/\Delta t$), sono state interpolati i punti sperimentali registrati dalla NIRS durante gli ultimi 180 secondi degli ultimi tre carichi, sia per le tracce corrispondenti all'emoglobina totale ($\Delta t\text{Hb}/\Delta t$), sia per l'emoglobina ossigenata ($\Delta\text{HbO}_2/\Delta t$), sia per l'emoglobina deossigenata ($\Delta\text{HHb}/\Delta t$) (interpolazione tramite funzione lineare, Microsoft Excel 2010) (fig. 9).

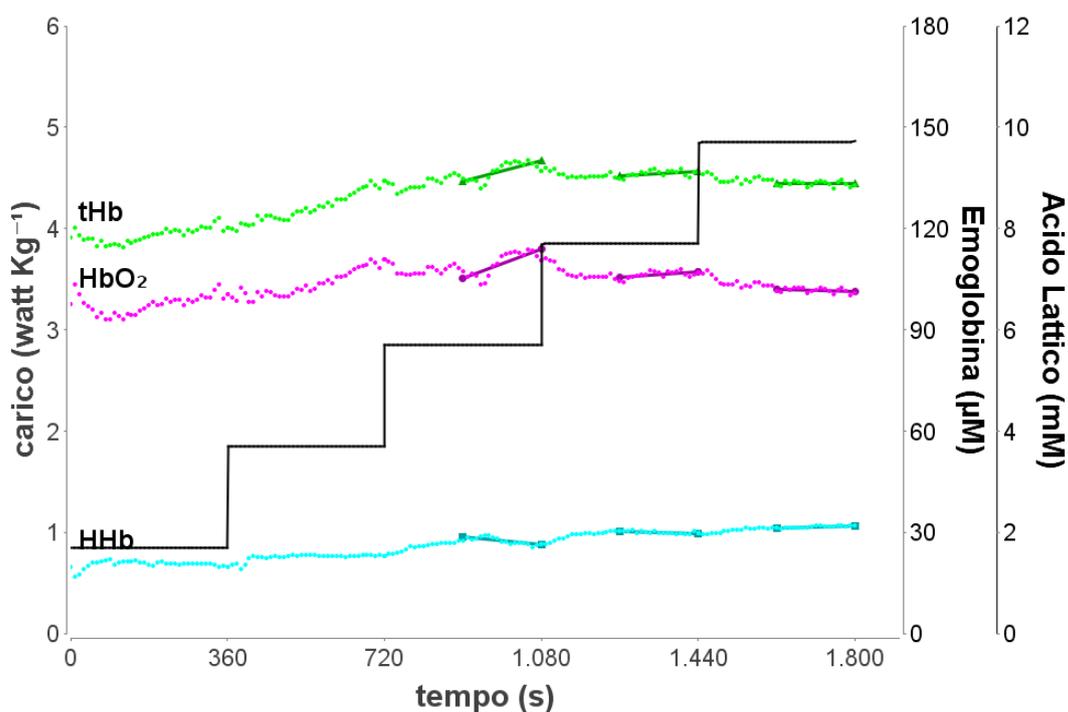


Fig. 9. Protocollo standard con tracce NIRS . La figura mostra il protocollo standard dell'esercizio e le tracce Nirs corrispondenti alla concentrazione di emoglobina totale (traccia

superiore) la concentrazione di emoglobina ossigenata (traccia intermedia) e la concentrazione di emoglobina deossigenata (traccia inferiore). Le tracce NIRS sono state interpolate da una linea retta durante gli ultimi 180 secondi degli ultimi 3 carichi.

2.3 RISULTATI E DISCUSSIONE

Dodici soggetti hanno completato il protocollo sperimentale imposto.

Otto soggetti, di minor performance atletica, hanno interrotto la prova prima del termine previsto.

Tra questi otto soggetti, tre hanno eseguito l'ultimo carico W_{high} per almeno cinque minuti, quindi per questi tre soggetti è stato possibile raccogliere i dati di AL e di perfusione periferica durante W_{high} . Cinque soggetti hanno interrotto l'esercizio troppo precocemente per poter misurare sia AL che $\Delta AL/\Delta t$ che la perfusione periferica durante W_{high} .

In seguito, le misure di AL e di perfusione periferica ottenute verranno trattate separatamente, dividendo il gruppo degli atleti che hanno completato il protocollo (12 soggetti, denominato gruppo F), dagli atleti che hanno interrotto precocemente l'esercizio (8 soggetti), denominato gruppo NF).

La figura 10 mostra i risultati ottenuti durante l'esperimento di un soggetto che ha completato il protocollo proposto (soggetto del gruppo F). Il soggetto ha pedalato per 30 minuti, contro il carico crescente (linea continua) durante i quali è stata continuamente misurata la ossigenazione muscolare tramite la sonda NIRS (tracce a punti) ed è stata misurata la variazione della concentrazione di acido lattico AL durante gli ultimi tre carichi imposti (punti uniti da tracce tratteggiate).

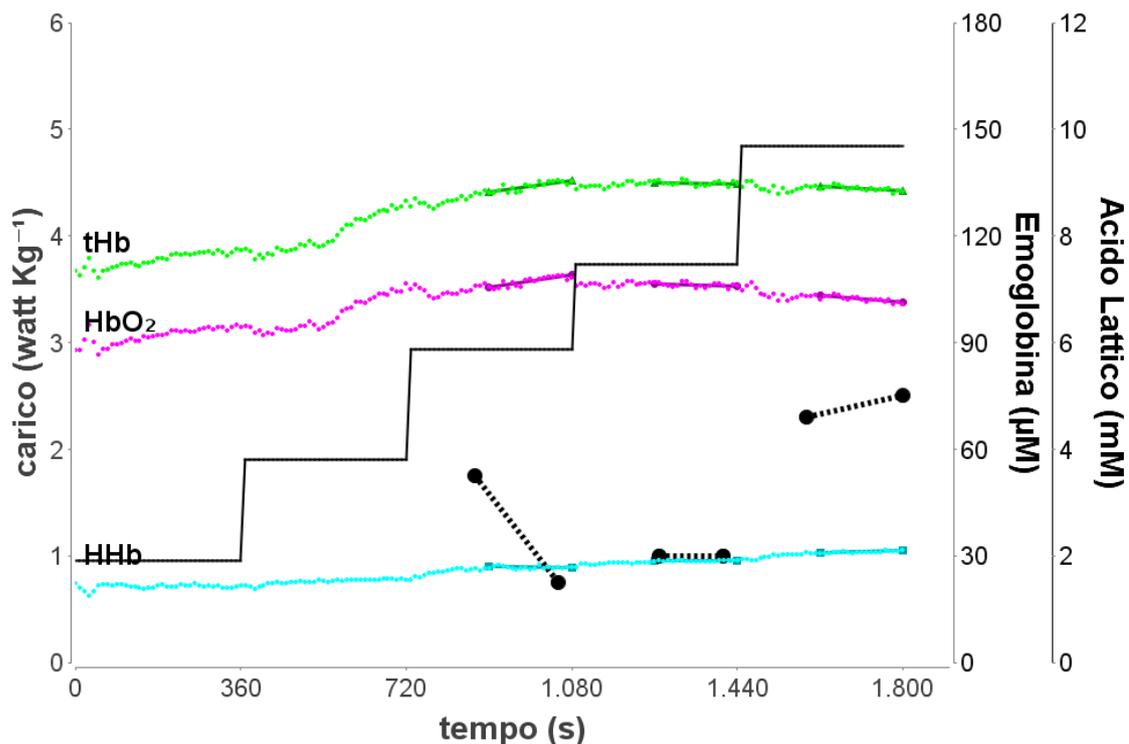
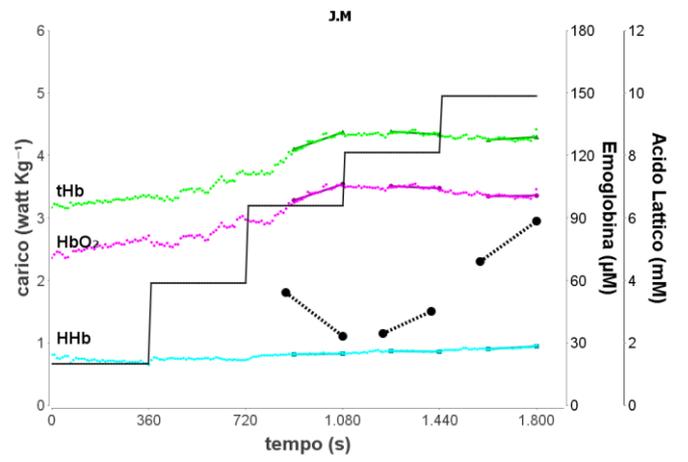
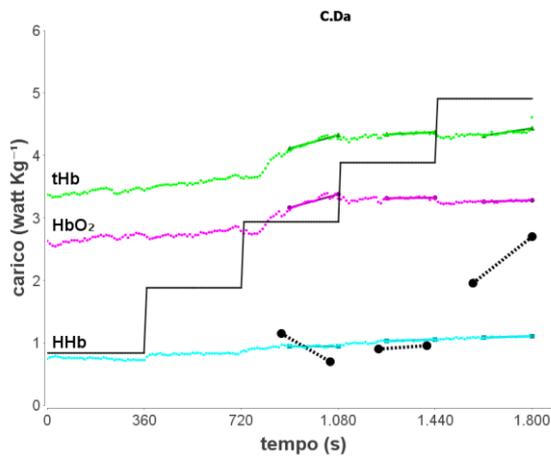
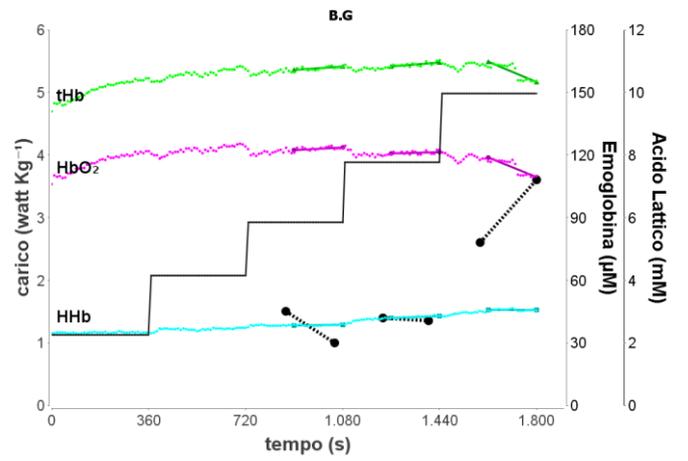
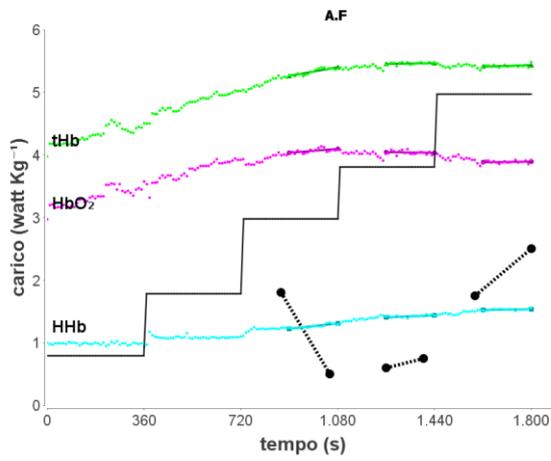
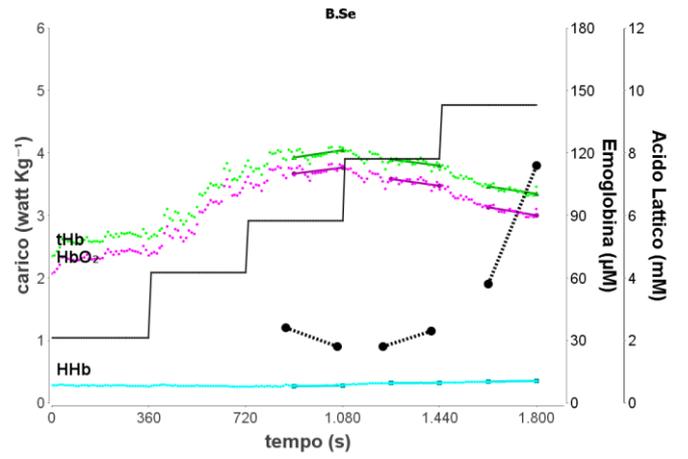
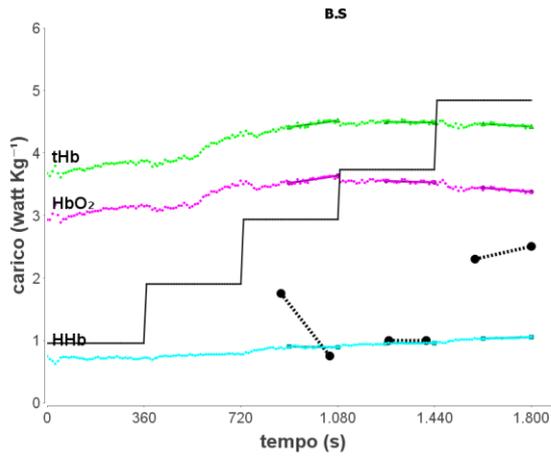


Fig. 10 Traccia sperimentali di un soggetto. Il soggetto ha pedalato contro il carico crescente (linea continua) per 30 minuti, durante i quali è stata continuamente misurata la quantità totale di emoglobina (traccia a punti superiore tHb), l'emoglobina ossigenata (traccia a punti intermedia HbO₂) e la quantità di emoglobina deossigenata (traccia a punti inferiore HHb). I punti neri uniti dalla linea tratteggiata rappresentano le misure della concentrazione di acido lattico AL. Soggetto BS, gruppo F, 19 anni, altezza 1.87 m peso 74.8 kg, percentuale di massa grassa = 3.8 %, plica cutanea coscia anteriore 5.5 m 10⁻³.

Le misurazioni di AL (punti e linee tratteggiate) mostrano una netta diminuzione durante il carico basso W_{low} , una costanza della concentrazione di AL durante il carico medio W_{medium} e un aumento della concentrazione di AL durante l'ultimo carico W_{high} .

La perfusione periferica, è mostrata dalla traccia NIRS superiore (tHb). In tutti i soggetti, la perfusione periferica aumenta progressivamente durante i carichi più bassi, tende a stabilizzarsi in corrispondenza del carico W_{medium} per poi diminuire durante l'esercizio ai carichi più elevati. (Fig 2,3,4 e seguenti Grassi. 1999)



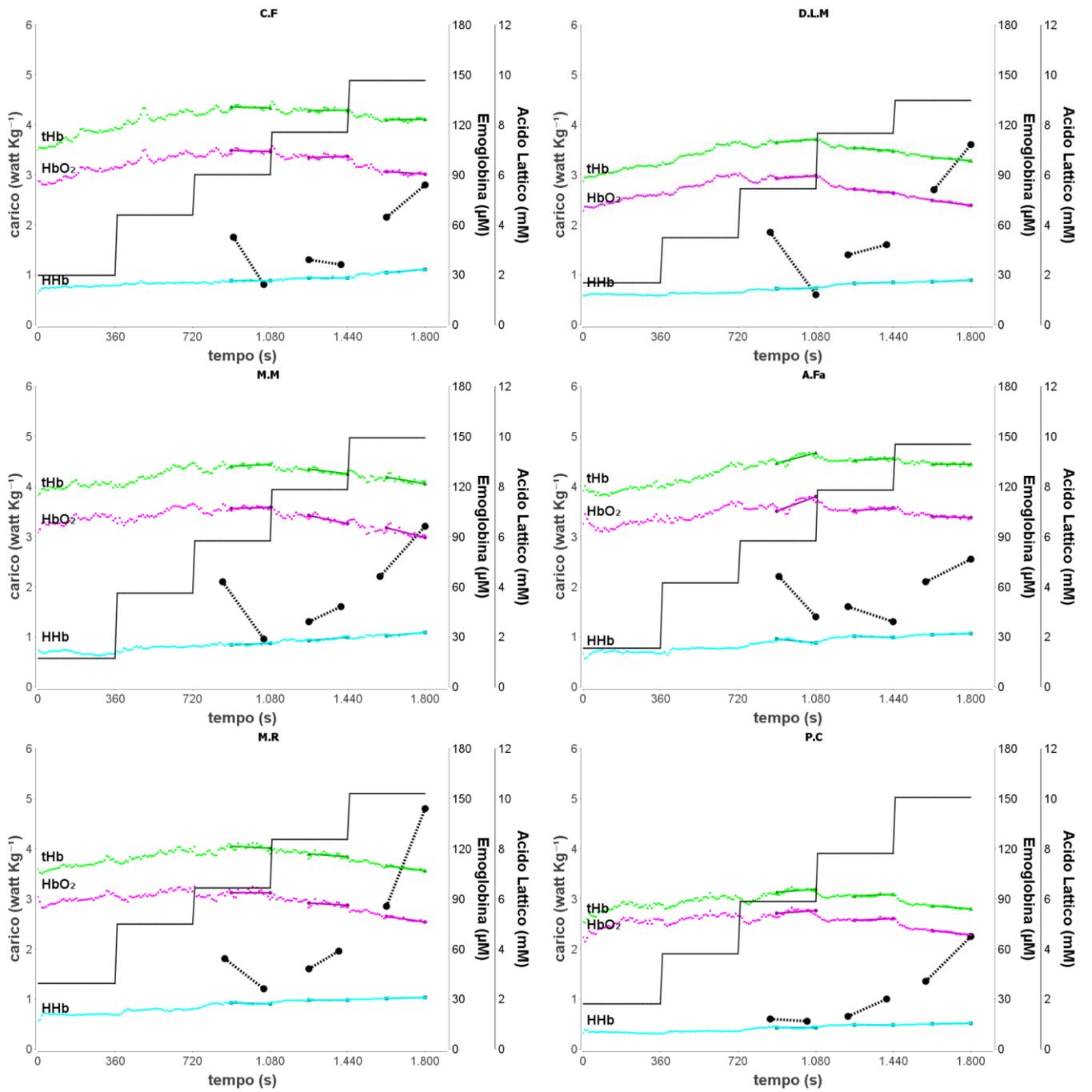
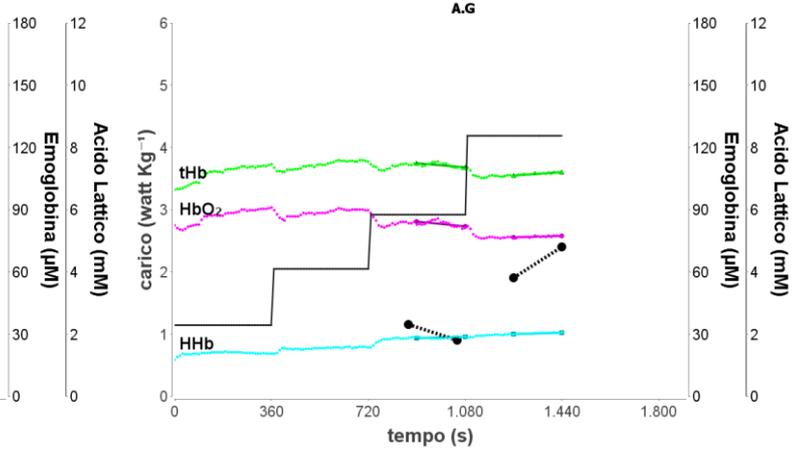
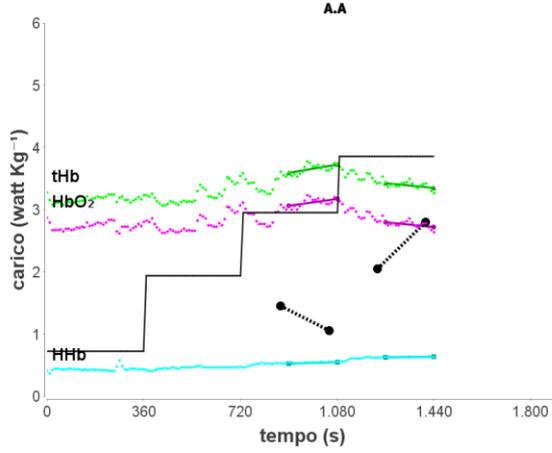
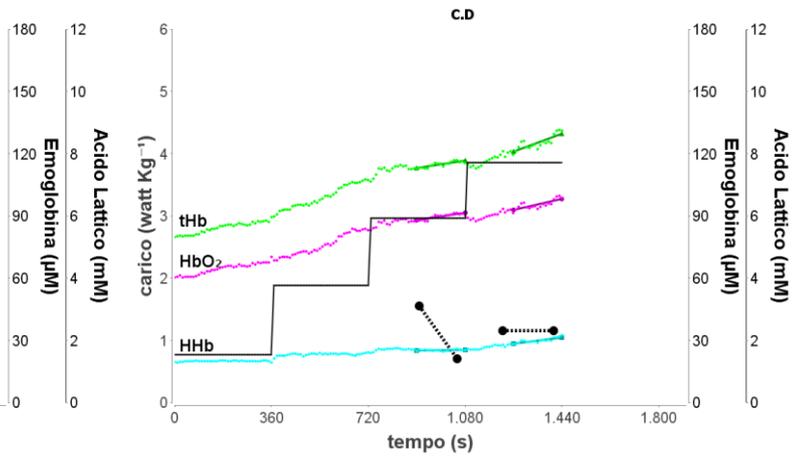
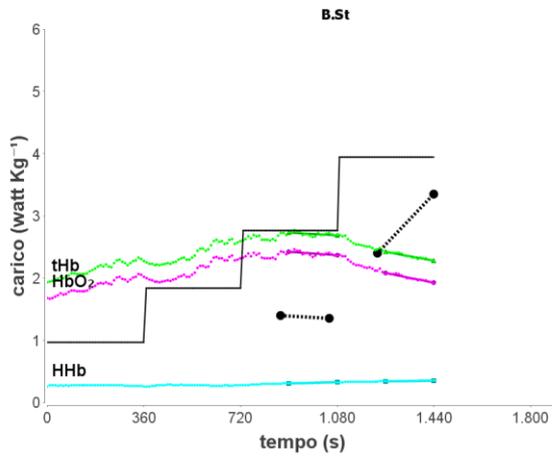


Fig.11. Tracce sperimentale di tutti i soggetti del gruppo F. Stesse indicazioni di fig. 10. Caratteristiche dei soggetti riassunte in Tab. 1.



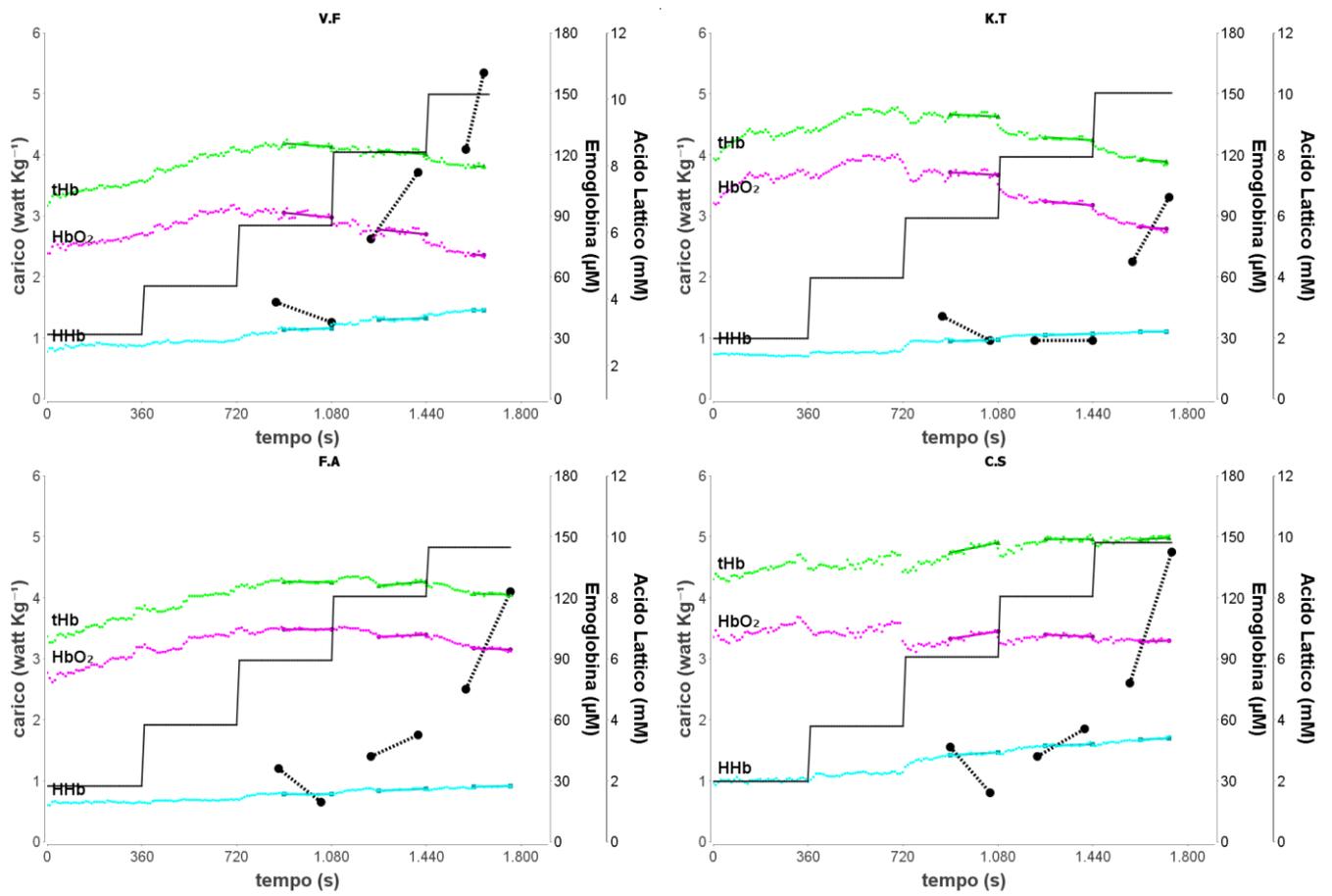


Fig.12 Tracce sperimentale di tutti i soggetti del gruppo NF. Stesse indicazioni di fig. 11. Caratteristiche dei soggetti riassunte in Tab. 1.

2.3.1 CARICHI BASSI

Durante l'esercizio eseguito ai carichi più bassi, fino a W_{low} compreso del nostro protocollo, in tutti i 20 soggetti è presente un aumento della perfusione periferica e una diminuzione della concentrazione di AL .

Nel nostro protocollo W_{low} corrisponde in media a 197 ± 20 watt (media \pm d.s; range $166 \div 237$, $n=20$) e 2.95 ± 0.12 watt kg^{-1} (media \pm d.s; range $2.72 \div 3.29$, $n=20$).

In tutti i pannelli delle fig. 11 e 12 che riportano le tracce sperimentali di tutti i 20 soggetti, mostrano un aumento sia della componente ossigenata HbO_2 (traccia intermedia di tutti i pannelli) che della componente deossigenata HHb (traccia inferiore di tutti i pannelli) dell'emoglobina fino al carico W_{low} compreso del nostro protocollo. Questo è dovuto alla vasodilatazione periferica indotta dall'esercizio.

Durante W_{low} i valori medi di $\Delta tHb/\Delta t$ e $\Delta HbO_2/\Delta t$ sono:

- Gruppo F: $0.0168 \pm 0.0174 \mu Ms^{-1}$; e $0.0157 \pm 0.0194 \mu Ms^{-1}$; (media \pm sd, $n=12$)
- Gruppo NF: $0.0044 \pm 0.0168 \mu Ms^{-1}$; $0.0006 \pm 0.00166 \mu Ms^{-1}$; (media \pm sd, $n=8$)

Durante W_{low} la velocità di diminuzione di AL , $\Delta AL/\Delta t$ è stata:

- Gruppo F: $-0.50 \pm 0.27 \text{ mM min}^{-1}$ (media \pm d.s; range $-0.90 \div -0.03$, $n=12$)
- Gruppo NF $-0.33 \pm 0.23 \text{ mM min}^{-1}$ (media \pm d.s; range $-0.71 \div -0.03$, $n=8$).
(punti e linee tratteggiate fig 11 e 12)

In tutti i casi il primo valore di AL , misurato al terzo minuto di W_{low} , è risultato maggiore del valore di AL misurato in corrispondenza del sesto minuto di W_{low} .

Questi valori di AL ($3.3 \pm 0.9 \text{ mM}$; media \pm d.s; range $4.4 \div 1.2$, $n=12$ gruppo F; $2.9 \pm 0.5 \text{ mM}$; media \pm d.s; range $3.9 \div 2.3$, $n=8$ gruppo NF) sembrano essere esageratamente alti in relazione all'intensità esercizio compiuto al momento del prelievo per atleti di elevato valore agonistico come lo sono i nostri soggetti. In corrispondenza del secondo prelievo effettuato al termine di W_{low} i valori si abbassano ad un valore compatibile all'intensità di esercizio ($1.7 \pm 0.5 \text{ mM}$; media \pm d.s; range $1.0 \div 2.8$, $n=12$ gruppo F; $2.0 \pm 0.7 \text{ mM}$; media \pm d.s; range $1.3 \div 3.3$, $n=8$ gruppo NF).

Questo fenomeno risulta particolarmente evidente in alcuni casi (vedi Fig. 11 A.F, D.L.M, M.M) e potrebbe essere dovuta al fenomeno del cosiddetto lattato precoce oppure ad un errore sperimentale.

Nel primo caso, l'elevato valore iniziale di lattato potrebbe derivare dalla precoce produzione di acido lattico, dovuta ad un non immediato intervento del metabolismo aerobico durante le prime fasi dell'esercizio. Infatti il nostro protocollo non prevede un periodo di riscaldamento precedente all'esperimento, e l'incremento di potenza meccanica ad ogni step risulta abbastanza elevato (66 ± 12 watt di incremento fra il secondo e il terzo carico; $\text{media} \pm \text{d.s}$; range $46 \div 91$, $n=20$) il che giustificherebbe la comparsa del lattato precoce. Ma alcuni valori misurati, nettamente superiori al valore di AL misurato al termine di W_{low} (vedi fig. 12 soggetti A.F, D.L.M, M.M) , sembrano non poter essere giustificati da questo meccanismo fisiologico.

La seconda ipotesi prevede che l'elevato valore di AL all'inizio di W_{low} sia dovuto ad un errore sperimentale sistematico che compromette solo la prima misurazione effettuata durante l'esperimento. Infatti in tutti i casi il secondo valore di AL misurato nel W_{low} è compatibile con l'intensità di esercizio compiuta al momento del prelievo (vedi sopra). L'unica differenza metodologica fra il primo e i successivi prelievi durante l'esperimento è l'utilizzo del pungidito iniziale che, a nostro avviso, non sembrerebbe poter indurre errore sperimentale.

2.3.2 CARICO INTERMEDIO W_{medium}

Nel nostro protocollo la potenza meccanica esterna corrispondente a W_{medium} è 263 ± 23 watt; $\text{media} \pm \text{d.s}$; range $213 \div 299$, $n=20$; 3.94 ± 0.12 watt kg^{-1} ; $\text{media} \pm \text{d.s}$; range $3.66 \div 4.19$, $n=20$).

La figura 10 mostra una tipica traccia sperimentale di un soggetto che ha completato il protocollo; i risultati di tutti i soggetti che hanno completato il protocollo (gruppo F) sono raggruppati nei pannelli della fig. 12. Durante W_{medium} vi è una costanza sia della concentrazione di AL contemporanea ad una sostanziale costanza della perfusione periferica.

Per i soggetti del gruppo F non abbiamo trovato differenza significativa fra la media dei valori di AL misurati dopo 3 minuti e la media dei valori di AL misurati dopo 6 minuti ($AL_{3\text{min,medium}}$

2.3 ± 0.7 mM; media \pm d.s; range 1.2÷3.2, n=12; $AL_{6min,medium}$ 2.6 ± 0.7 mM; media \pm d.s; range 1.5÷3.9, n=12).

In particolar modo, in corrispondenza di W_{medium} la velocità di accumulo di AL , $\Delta AL/\Delta t$ è stata 0.10 ± 0.15 mM min⁻¹ (media \pm d.s; range -0.17÷0.29, n=12). (punti e linee tratteggiate Fig. 11 Gruppo F).

Quindi possiamo affermare, che, per i soggetti appartenenti al gruppo F (soggetti di miglior performance atletica), il carico W_{medium} del nostro protocollo, corrispondente circa 4 watt kg⁻¹ corrisponde alla potenza meccanica alla quale un ciclista agonista Under 23 raggiunge lo steady state della concentrazione di acido lattico.

Per i soggetti del gruppo NF, in corrispondenza di W_{medium} notiamo un netto aumento della concentrazione di AL contemporaneo ad un netto decremento della perfusione periferica (Fig. 12, Gruppo NF).

In particolar modo, per i soggetti di gruppo NF, in corrispondenza di W_{medium} la velocità di accumulo di AL $\Delta AL/\Delta t$ è stata 0.32 ± 0.24 mM min⁻¹ (media \pm d.s; range 0.00÷0.65, n=8). (punti e linee tratteggiate Fig. 12, gruppo NF). Per i soggetti appartenenti al gruppo NF (soggetti di minor performance atletica), il carico W_{medium} del nostro protocollo, risulta già più elevato del carico meccanico al quale i soggetti raggiungono lo steady state di AL .

Contemporaneamente le tracce NIRS mostrano una sostanziale costanza della perfusione periferica, sia nel gruppo F che nel gruppo NF.

Durante W_{medium} i valori medi di $\Delta tHb/\Delta t$ e $\Delta HbO_2/\Delta t$ sono:

- Gruppo F -0.0029 ± 0.0089 μMs^{-1} ; e -0.0067 ± 0.0138 μMs^{-1} (media \div sd, n=12)
- Gruppo NF -0.0103 ± 0.0181 μMs^{-1} ; e -0.0037 ± 0.0164 μMs^{-1} ; (media \div sd, n=8).

2.3.3 CARICO ELEVATO W_{high}

Nel nostro protocollo la potenza meccanica esterna corrispondente a W_{high} è 324 ± 33 watt; media \pm d.s; range 270÷373, n=15; 4.90 ± 0.20 watt kg⁻¹; media \pm d.s; range 4.30÷5.10, n=15.

In corrispondenza di W_{high} notiamo un netto aumento della concentrazione di AL contemporaneo ad una diminuzione della perfusione periferica.

Per i soggetti del gruppo F, abbiamo trovato differenza significativa fra il valore di AL misurato dopo 3 minuti e quello misurato dopo 6 minuti ($AL_{3min,high}$ 4.4 ± 0.8 mM; media \pm d.s; range 2.7÷5.7, n=12; $AL_{6min,high}$ 6.2 ± 1.5 mM; media \pm d.s; range 4.5÷9.6, n=12). Identica conclusione è stata tratta per i tre soggetti del gruppo NF per i quali è stato possibile misurarla ($AL_{3min,high}$ 4.9 ± 0.4 mM; media \pm d.s; range 4.5÷5.2, n=3; $AL_{6min,high}$ 8.1 ± 1.5 mM; media \pm d.s; range 6.6÷9.5, n=3).

In corrispondenza di W_{high} la velocità di accumulo di AL $\Delta AL/\Delta t$ è stata 0.57 ± 0.37 mM min⁻¹ (media \pm d.s; range 0.11÷ 1.31, n=12) per i soggetti del gruppo F (punti neri e linee continue fig.13) e 1.22 ± 0.40 mM min⁻¹ (media \pm d.s; range 0.86÷ 1.65, n=3) per i soggetti del gruppo NF (punti bianchi e linee tratteggiate gruppo NF. Fig. 13)

Contemporaneamente le tracce NIRS mostrano un decremento della perfusione periferica, più marcato nella componente ossigenata.

Durante W_{high} i valori medi di $\Delta tHb/\Delta t$ e $\Delta HbO_2/\Delta t$ sono:

- Gruppo F: -0.0099 ± 0.0178 μMs^{-1} ; e -0.0148 ± 0.0164 μMs^{-1} rispettivamente; (media \pm sd, n=12)
- Gruppo NF: -0.0089 ± 0.0125 μMs^{-1} ; e -0.0158 ± 0.00105 μMs^{-1} ; (media \pm d.s; n=3).

2.3.4 RELAZIONE FRA L'INCREMENTO DI ACIDO LATTICO E LA PERFUSIONE PERIFERICA

Nella figura 13 è mostrata la velocità di accumulo di acido lattico $\Delta AL/\Delta t$ in funzione del carico, sia per i soggetti che hanno completato il protocollo (punti neri) sia per i soggetti che hanno interrotto il protocollo (punti bianchi).

Come possiamo notare, $\Delta AL/\Delta t$ cresce linearmente all'aumentare del carico, sia per i soggetti del gruppo F che per i soggetti del gruppo NF.

La linea retta che interpola tutti i punti sperimentali dei soggetti del gruppo F (linea continua fig. 14) interseca l'asse delle ascisse in corrispondenza del valore corrispondente al carico W_{medium} del nostro protocollo (intercetta = 3.83 watt kg⁻¹ vs W_{medium} = 3.94 watt kg⁻¹). Quindi il carico medio del nostro protocollo corrisponde a quella intensità di esercizio alla quale i

soggetti di miglior performance atletica, appartenenti al gruppo F, raggiungono e mantengono la steady state della concentrazione dell'acido lattico.

Per i soggetti di minor performance atletica, appartenenti al gruppo NF, la linea retta che interpola tutti i punti sperimentali interseca (linea tratteggiata fig. 14) l'asse delle ascisse ad un carico minore del carico W_{medium} del nostro protocollo (intercetta $\approx 3.41 \text{ watt kg}^{-1}$ vs $W_{\text{medium}} = 3.94 \text{ watt kg}^{-1}$). Quindi, in corrispondenza del carico medio del nostro protocollo, i soggetti appartenenti al gruppo NF accumulano AL.

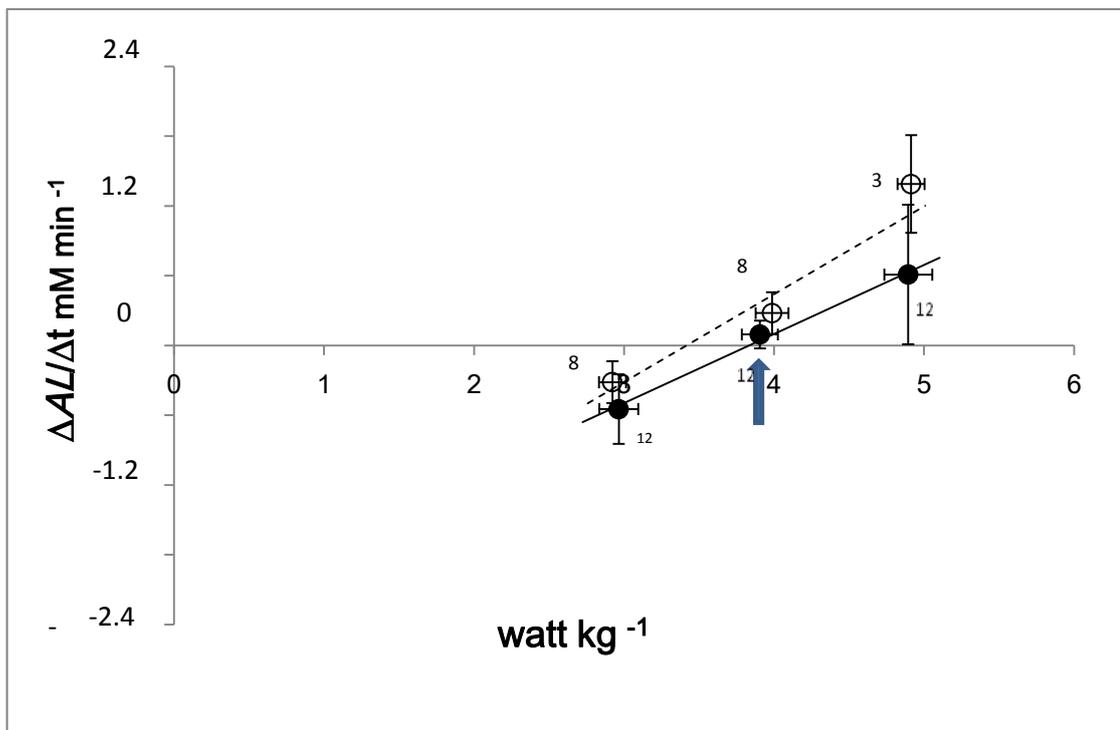


Fig.13 Velocità di accumulo dell'acido lattico in funzione del carico meccanico. I valori medi della velocità di accumulo di AL, $\Delta AL/\Delta t$ sono posti in funzione del carico meccanico imposto durante l'esercizio. Punti neri e linea continua: soggetti appartenenti al gruppo F; punti bianchi e linea tratteggiata: soggetti appartenenti al gruppo NF. Le linee interpolano tutti i punti sperimentali (non mostrati). Barre di errore corrispondenti alla deviazione standard.

Nella figura 14 (A e B) sono visualizzati i valori di velocità di variazione della perfusione periferica in funzione del carico. In particolar modo, i quadrati rappresentano la velocità di variazione dell' emoglobina totale ($\Delta tHb/\Delta t$), i triangoli rappresentano la velocità di variazione dell' emoglobina ossigenata ($\Delta HbO_2/\Delta t$) e i rombi la velocità di variazione dell'emoglobina

deossigenata ($\Delta\text{HHb}/\Delta t$). La fig 14 A (simboli neri) mostra gli atleti che hanno completato il protocollo (gruppo F), mentre la fig. 14 B gli atleti che non sono stati in grado di completare il protocollo (gruppo NF).

Tutti i dati sperimentali (non mostrati) sono stati interpolati da una funzione lineare.

Nel gruppo F, le rette corrispondenti a $\Delta t\text{Hb}/\Delta t$ (linea continua) e $\Delta\text{HbO}_2/\Delta t$ (linea tratteggiata) hanno andamento sovrapponibile e mostrano un decremento in funzione del carico; in particolar modo, entrambe intersecano l'asse delle ascisse in corrispondenza del carico W_{medium} (intercetta linea continua =3.79 watt kg^{-1} vs $W_{\text{medium}} = 3.94$ watt kg^{-1} e linea tratteggiata =4.02 watt kg^{-1} vs $W_{\text{medium}} = 3.94$ watt kg^{-1}).

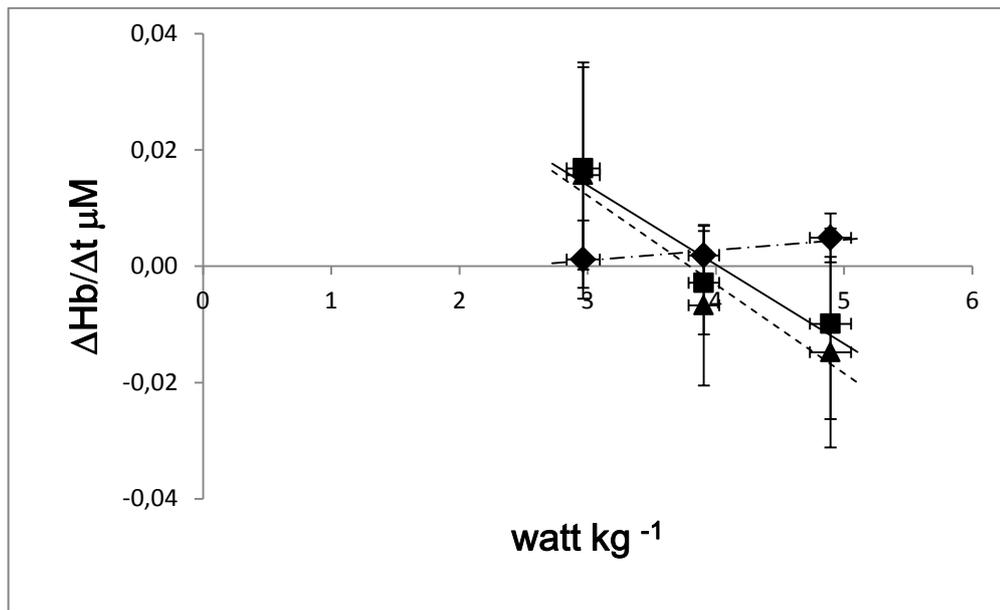
Questo significa che in corrispondenza del carico medio del nostro protocollo, gli atleti del gruppo F mantengono un livello costante di perfusione periferica e di ossigenazione emoglobinica.

La retta che rappresenta l'emoglobina deossigenata mostra una sostanziale costanza dell'emoglobina deossigenata durante il nostro protocollo.

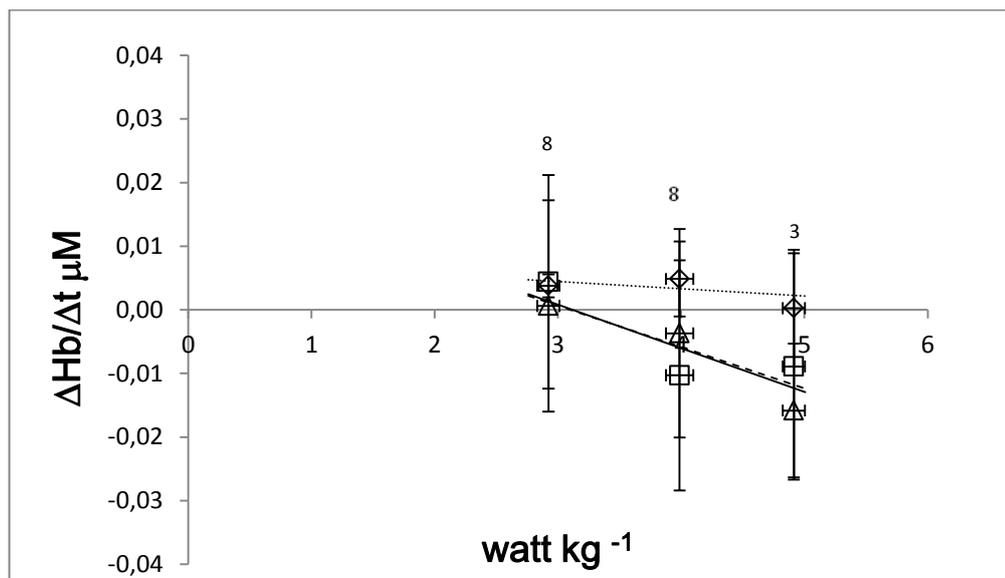
Anche per ciò che riguarda gli atleti del gruppo NF, possiamo notare che Le rette corrispondenti a $\Delta t\text{Hb}/\Delta t$ (linea continua) e $\Delta\text{HbO}_2/\Delta t$ (linea tratteggiata) hanno andamento sovrapponibile e mostrano un decremento in funzione del carico; esse intersecano l'asse delle ascisse ad un valore di carico nettamente inferiore a W_{medium} (intercetta linea continua =3.13 watt kg^{-1} vs $W_{\text{medium}} = 3.94$ watt kg^{-1} e linea tratteggiata =3.09 watt kg^{-1} vs $W_{\text{medium}} = 3.94$ watt kg^{-1}). Questo significa che in corrispondenza del carico medio del nostro protocollo gli atleti del gruppo NF, di minor performance atletica, presentano sia un decremento dell'emoglobina totale che un decremento della sua componente ossigenata.

Anche per il gruppo NF, la retta che rappresenta l'emoglobina deossigenata mostra una sostanziale costanza dell'emoglobina deossigenata durante il nostro protocollo.

Secondo Grassi (1999), in un test incrementale, l'inizio dell'accumulo di AL è correlato all'inizio della deossigenazione emoglobinica. Questo fenomeno appare evidente nei nostri risultati, sia per i soggetti appartenenti al gruppo F, per i quali il carico W_{medium} corrispondente esattamente all'inizio dell'accumulo di acido lattico e di deossigenazione emoglobinica (rette in fig 13 e 14), sia per i soggetti appartenenti al gruppo NF, per i quali, tale condizione viene raggiunta ad un carico inferiore a W_{medium}



14 A



14 B

Fig 14. Perfusione periferica in funzione del carico meccanico. I valori medi della concentrazione di emoglobina totale (quadrati, linea continua), di emoglobina ossigenata (triangoli, linea tratteggiata) e di emoglobina deossigenata (rombi, linea punto linea) sono posti in funzione del carico meccanico imposto durante l'esercizio. Pannello A: punti neri, soggetti appartenenti al gruppo F, barre di errore corrispondenti alle deviazioni standard n=12. Pannello B: punti bianchi, soggetti appartenenti al gruppo NF barre di errore corrispondenti alla deviazione standard, n vicino al simbolo. Le linee rette interpolano tutti i punti sperimentali (non mostrati).

La figura 15 mostra la variazione di emoglobina ossigenata in funzione della velocità di accumulo di acido lattico AL per gli atleti del gruppo F (neri, linea continua) e per gli atleti del gruppo NF (bianchi, linea tratteggiata).

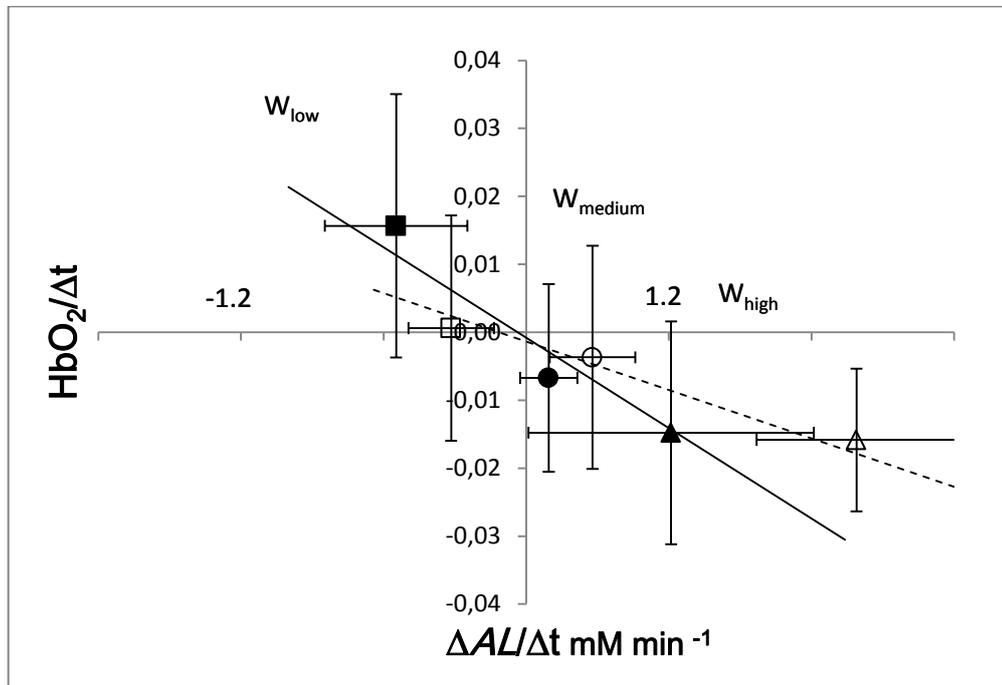


Fig 15. Velocità di accumulo di AL in funzione della variazione di emoglobina ossigenata.

I punti rappresentati in figura corrispondono alle medie dei valori, raggruppati in base ai tre carichi analizzati. Nel quadrante in alto a sinistra della figura ($HbO_2/\Delta t$ positiva e $\Delta AL/\Delta t$ negativa) i punti corrispondono ai dati ottenuti al carico W_{low} (quadrati). In questo quadrante, esiste una diminuzione di acido lattico e un accumulo dell'emoglobina ossigenata.

Nel quadrante in basso a destra della figura ($HbO_2/\Delta t$ negativo e $\Delta AL/\Delta t$ positivo) sono rappresentati i dati ottenuti al carico W_{medium} (pallini) e W_{high} (triangolo). In questo quadrante, esiste un aumento della concentrazione di acido lattico e una diminuzione dell'emoglobina ossigenata.

Le rette che interpolano tutti i dati sperimentali (non mostrati) passano dall'origine degli assi mostrando che esiste una coincidenza fra lo steady state dell'accumulo dell'acido lattico e lo steady state della concentrazione di emoglobina ossigenata, sia nei soggetti del gruppo F che in quelli del gruppo NF.

Questo punto teorico risulta in particolare essere molto vicino al punto sperimentale ottenuto al carico W_{medium} per i soggetti del gruppo F.

2.4 CONCLUSIONE:

I dati sperimentali ottenuti, mostrano che esiste una coincidenza fra lo steady state dell'accumulo dell'acido lattico e lo steady state della concentrazione di emoglobina ossigenata.

Belotti (2013) ha mostrato come la determinazione dello steady state dell'acido lattico possa essere fatta attraverso la misura dell'andamento dell'emoglobina deossigenata.

Tradizionalmente, per individuare precisamente la potenza meccanica alla quale avviene lo steady state dell'acido lattico, è necessario effettuare prima un test incrementale massimale durante il quale vengono misurati i parametri cardiocircolatori e respiratori (consumo di ossigeno, ventilazione e soglia anaerobica) e/o la concentrazione di acido lattico. In base a tali parametri (soglia anaerobica secondo Wasserman, soglia anaerobica a 4mM di acido lattico) si programmano altri test a potenza costante (onda quadra) per individuare direttamente l'esatto carico meccanico corrispondente allo steady state di AL. Questa procedura risulta laboriosa, impiega molto tempo e spesso non è realmente efficace.

Questa tesi propone un test standard che permette l'esatta individuazione del carico corrispondente allo steady state dell'acido lattico senza dover ripetere la valutazione in tempi e giornate diverse.

Il nostro protocollo standard è pensato per ciclisti under 23 di buona performance agonistica che riescono a completare l'intero protocollo imposto. Se il soggetto avesse una performance atletica più scarsa rispetto al nostro gruppo F, non sarebbe in grado di concludere il protocollo (gruppo NF), viceversa un ciclista di eccezionale livello agonistico potrebbe non raggiungere lo steady state anche per carichi superiori a $4.85 \text{ watt kg}^{-1}$. In entrambi i casi non sarebbe possibile determinare il corretto valore del carico corrispondente allo steady state dell'acido lattico poiché non sarebbe possibile individuare i tre punti rappresentati in fig. 15.

Quindi il nostro protocollo è valido per la categoria under 23 maschile ma non per altre categorie. Tuttavia è possibile adattarlo ad altre categorie inferiori o maggiori modificando i carichi e gli incrementi ma mantenendo costante la durata dei singoli carichi (6 minuti) e dell'intero test (30 minuti).

Tramite questo protocollo è inoltre possibile individuare lo steady state del lattato senza effettuare nessun prelievo di sangue. Questo è possibile in quanto non analizza la variazione di lattato, ma si utilizza la variazione della perfusione periferica tramite la tecnica NIRS.

Questo test, a differenza di quelli precedenti, è un test non invasivo che permette in soli 30 minuti di trovare lo steady state del lattato senza alcun tipo di prelievo con protocollo non massimale.

BIBLIOGRAFIA

1. Allen H, Coggan A, PhD. Training and racing with a power meter. 2010
2. Bassett DR Jr, Howley ET. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(1):70-84
3. Belardinelli R; Barstow TJ; Porszasz J; Wasserman K. Changes in skeletal muscle oxygenation during incremental exercise measured with near infrared spectroscopy. *Eur J Appl Physiol* 1995; 70:487-492.
4. Bellotti C, Calabria E, Capelli C, Pogliaghi S. Determination of maximal lactate steady state in healthy adults: can Nirs help?. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(6):1208-16
5. Bishop D. Evaluation of the accusport lactate analyser. *Sport Med* 2011; 22:525-530
6. Bhambhani YN. Muscle oxygenation trends during dynamic exercise measured by near infrared spectroscopy. *Can J Appl Physiol* 2004. 29(4):504-523.
7. Cerretelli P. Fisiologia dell'esercizio: sport, ambiente, età, sesso
8. Di Prampero PE. Factors limiting maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90:420-429
9. Ferrari M; Mottola L; Quaresima V. Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Can. J. Appl. Physiol* 2004; 29(4): 463-487.
10. Grassi Q, Quaresima V, Marconi C, Ferrari M, Cerretelli P. Blood lactate accumulation and muscle deoxygenation during incremental exercise. *J Appl Physiol* 1999; 87:348-355.
11. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr* 1978. 40(3):497-504
12. Laplaud D; Guinot M; Favre-Juvin A; Flore P. Maximal lactate steady state determination with a single incremental test exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2006; 96: 446-452
13. Mc Ardle W; Katch F. Fisiologia applicata allo sport: aspetti energetici, nutrimenti e performance
14. Neary JP. Application of near infrared spectroscopy to exercise sports science. *Can J Appl Physiol* 2004; 29(4): 488-503.

15. Saltin B, Calbet JA. Point: in health and in a normoxic environment, Vo_2max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* (1985). 2006; 100(2):744-5.
16. Vari autori; *Fisiologia dell'uomo*, Edi Ermes.
17. Wagner PD. Counterpoint: in health and in normoxic environment VO_2max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* (1985). 2006; 100(2):745-7; discussion 747-8

RINGRAZIAMENTI

Innanzitutto vorrei ringraziare il professor Massimiliano Mantovani, relatore di questa tesi, per tutto l'aiuto e il sostegno che mi ha fornito durante l'intera stesura.

Ringrazio l'Ingegnere Andrea Bandera della Nimo by Nirox (Brescia) per aver messo a disposizione lo strumento e per averci aiutato durante gli esperimenti e durante l'elaborazione e l'interpretazione dei dati.

Ringrazio il signor Albino Marton, presidente della FGM, e il signor Davide Bortoluzzo, direttore sportivo della FiDiBiCi per la disponibilità mostrata nell'organizzazione dei test.