

# ATTENUAZIONE DEL VO<sub>2</sub> DURANTE ESERCIZIO INCREMENTALE IN SOGGETTI CARDIOPATICI

## INDICE

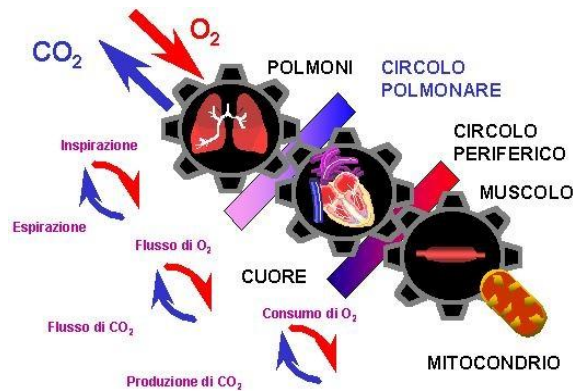
<b>INTRODUZIONE</b>	<b>pag. 2</b>
<b>SOGGETTI E METO</b>	<b>pag. 9</b>
<b>RISULTATI</b>	<b>pag. 27</b>
<b>DISCUSSIONE</b>	<b>pag. 31</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>pag. 34</b>

# 1. INTRODUZIONE

La capacità aerobica di eseguire esercizio fisico dipende dall'abilità del sistema cardiovascolare di aumentare la portata circolatoria e dall'abilità dei muscoli di utilizzare l'ossigeno contenuto nel sangue. L'adenosina trifosfato (*ATP*) necessaria per la contrazione muscolare deriva in gran parte dall'ossidazione dei carboidrati e dei grassi all'interno dei mitocondri. Quando la disponibilità di ossigeno diviene inadeguata a sostenere l'attività fisica che si sta svolgendo subentra la glicolisi anaerobica citoplasmatica con una produzione di energia molto più costosa ed accumulo di acido lattico. L'apporto circolatorio di ossigeno viene ritenuto il più importante fattore condizionante la capacità di esercizio anche se la respirazione e gli scambi gassosi hanno un ruolo sostanziale e si adattano continuamente alle necessità di apporto di ossigeno e rimozione di anidride carbonica proveniente dai tessuti. L'interazione fra le funzioni di polmoni, cuore, circolo polmonare e periferico e muscoli è stata schematizzata in una rappresentazione nota come diagramma di Wasserman (*Fig. 1.*)

La portata cardiaca condiziona la capacità funzionale soprattutto nel soggetto sano mentre nel cardiopatico altri fattori quali la ridotta efficienza ventilatoria, l'atrofia muscolare e il depauperamento degli enzimi ossidativi acquistano maggiore rilevanza. La capacità d'esercizio è dunque l'espressione dell'integrità e dello stato di efficienza dell'intero organismo<sup>(1)</sup>.

Figura 1 : Interazioni fra polmoni, cuore e periferia secondo schematizzazione di Wasserman<sup>(1)</sup>.



### 1.1 Determinazione della ( S. A ) Soglia anaerobica

La conoscenza della SA è un importante parametro nella valutazione funzionale e nella metodologia di allenamento sia in ambito sportivo che rieducativo.

Dai primi anni sessanta diversi metodi per la sua determinazione sono stati sviluppati e applicati sia in soggetti con ridotta funzionalità cardiorespiratoria sia in atleti.

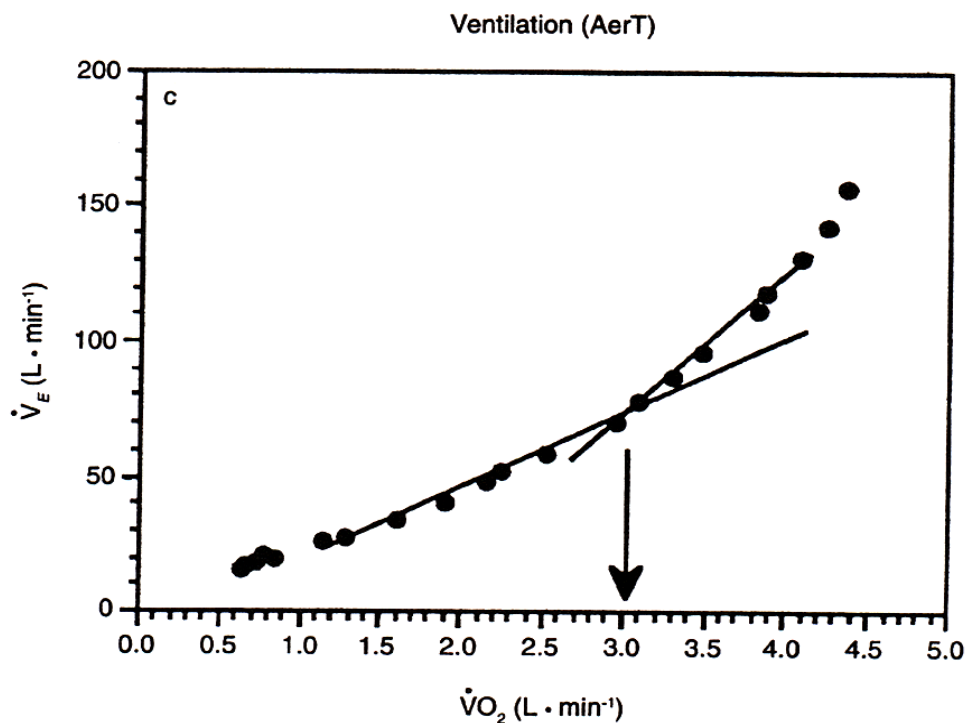
Ricordiamo tre metodi principali:

#### 1.1.1 Soglia anaerobica Ventilatoria.

Questo concetto è stato definito nel 1964 da Wasserman e McIlroy, i quali dimostrarono che durante un esercizio incrementale la relazione fra consumo di ossigeno ( $\dot{V}O_2$ ) e ventilazione polmonare ( $\dot{V}_E$ ) era da prima lineare e poi curvilinea<sup>(2)</sup>: da una certa intensità di esercizio in poi l'incremento della  $\dot{V}_E$  eccedeva l'incremento di  $\dot{V}O_2$ . Il punto di passaggio tra la parte rettilinea e quella curvilinea fu definito SA ventilatoria. L'impennata della  $\dot{V}_E$  rispetto al  $\dot{V}O_2$  è dovuta al fatto che l'"innesco" del metabolismo anaerobico lattacido causa un accumulo di lattato prima nei muscoli e poi nell'organismo. All'acidosi metabolica così determinata, l'organismo reagisce con i sistemi tampone e con quello dei bicarbonati in particolare. L'aumento di  $H^+$  è dunque tamponato dagli ioni  $HCO_3^-$  con produzione

di acido carbonico, ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), che si dissocia in  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  <sup>(3)</sup>. L'aumento di  $\text{H}^+$  e  $\text{CO}_2$  stimola i centri regolatori del respiro determinando un incremento della risposta ventilatoria (Fig. 2)

Figura 2: Soglia Anaerobica Ventilatoria



La soglia anaerobica corrisponde alla zona in cui viene meno la linearità nella relazione  $\text{VE}/\text{VO}_2$ .  
Da: Maud P., Foster C., *Physiological Assessment of Human Fitness, Human Kinetics, England (1995)*

### 1.1.2. Soglia del lattato.

Questo metodo si basa sulla valutazione della concentrazione del lattato nel sangue (arterioso, venoso o capillare) durante un test incrementale. Ad una certa intensità di esercizio l'apporto di  $\text{O}_2$  non è più in grado di bilanciare la demolizione dell'ATP

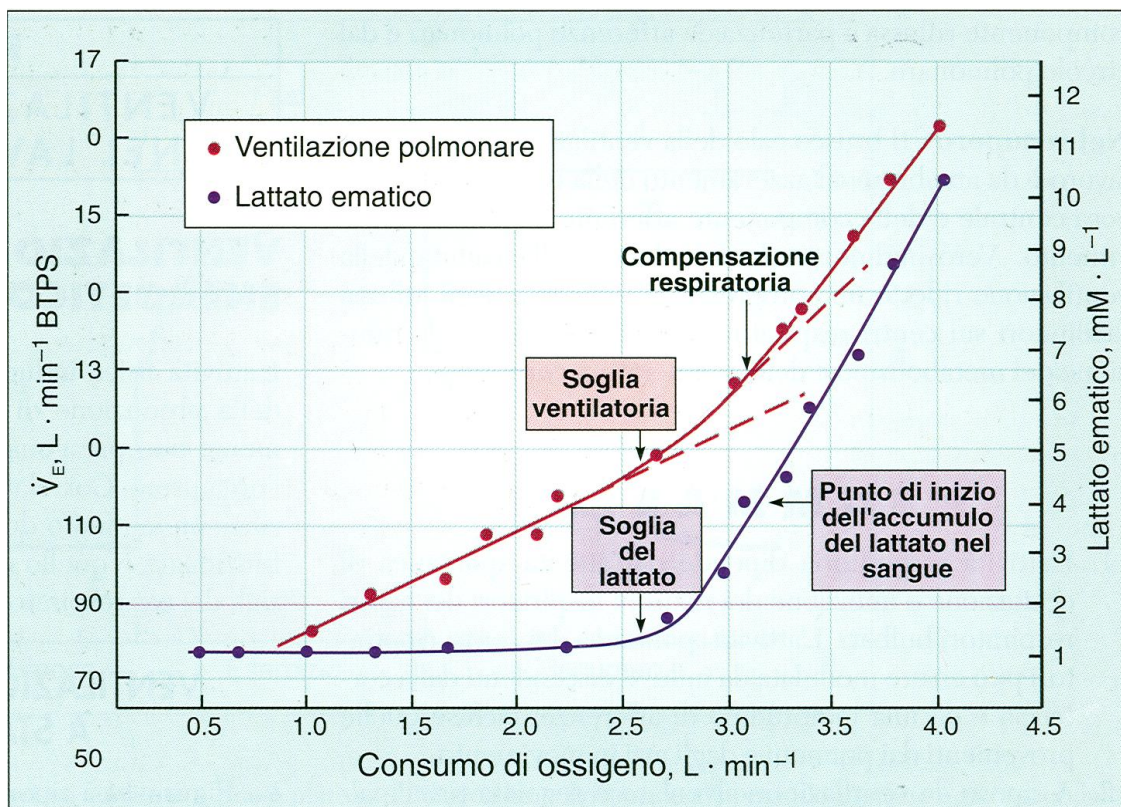
necessario per svolgere quell'attività. L'organismo reagisce attivando le reazioni citoplasmatiche della demolizione anaerobica del glucosio determinando, da una parte la produzione di ATP in eccesso rispetto alle capacità del metabolismo aerobico, e dall'altra la produzione e l'accumulo di lattato prima nei muscoli e poi nel sangue.

Diversi sono i protocolli proposti che si caratterizzano per altrettanto diverse modalità di raccolta del campione biologico, di incremento del carico e di analisi dei dati <sup>(4,5,6,7)</sup>.

La concentrazione di lattato nel sangue varia poco per intensità di esercizio da lievi a submassimali, mentre aumenta bruscamente a partire da una certa intensità submassimale. Si definisce SA l'intensità di energia corrispondente alla fase di brusco aumento.

Tale fase si è verificata in una grande percentuale di casi intorno alla concentrazione di 4 M/mol (Fig.3).

Figura 3: Soglia Anaerobica Ventilatoria e del Lattato

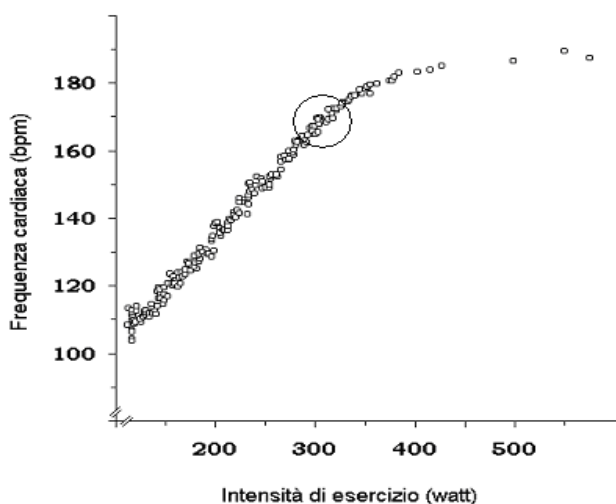


### 1.13. Test Conconi <sup>(8,9)</sup>

Questo protocollo fu inizialmente proposto come test da campo per la determinazione non invasiva della SA nella corsa <sup>(8)</sup>. Successivamente il test è stato adattato anche ad altri sport come marcia, sci di fondo, pattinaggio, canoa, canottaggio, nuoto e ciclismo <sup>(10,11)</sup>. Il test si basa sulla determinazione della relazione fra intensità d'esercizio e frequenza cardiaca (*IE/FC*)

durante un esercizio incrementale. Questa relazione si è dimostrata lineare per valori di IE da bassi a sottomassimali e curvilineare per valori di IE da sottomassimali a massimali. Il punto di passaggio dalla parte lineare a quella curvilineare, detto di "deflessione", si è dimostrato coincidere con l'accumulo di lattato nel sangue, ed è dunque utilizzato come test di laboratorio e da campo per la determinazione della SA (*Fig. 4*).

*Figura 4: Test Conconi*



Inizialmente la soglia anaerobica era usata clinicamente da Wasserman e collaboratori per valutare la tolleranza all'esercizio di soggetti con malattie cardiorespiratorie<sup>(12,13)</sup>. Più recentemente la soglia anaerobica (SA) è utilizzata per molte altre applicazioni, quali:

1. la valutazione funzionale di atleti di durata<sup>(14, 19,21)</sup>
2. la prescrizione dell'esercizio<sup>(15)</sup>
3. lo studio degli effetti dei farmaci sulla tolleranza all'esercizio<sup>(16,17)</sup>
4. la misurazione degli effetti dell'allenamento di durata<sup>(18)</sup>
5. la correlazione con i tipi di fibre muscolari<sup>(19,20,14,21)</sup>

Considerando la performance negli sport di durata, la SA è stata recentemente descritta come un parametro chiave, che definisce l'abilità di sostenere un'elevata intensità d'esercizio<sup>(22)</sup>.

La relazione immediata evidenziabile tra la SA e la prestazione in molte discipline sportive di resistenza, nonché l'estrema sensibilità di questo parametro all'allenamento, hanno suscitato un crescente interesse per questo test. Il rilievo della SA consente inoltre, più di quello diretto del  $VO_{2\max}$ , un metodo semplice e sicuro per il monitoraggio dello stato di forma cardiocircolatoria di soggetti sedentari e affetti da varie patologie<sup>(23)</sup>.

Da un punto di vista metodologico, l'applicazione del Test Conconi al cicloergometro<sup>(6)</sup>, si caratterizza per l'aumento del carico basato sull'aumento della cadenza. È noto che i mammiferi aumentano l'intensità di esercizio principalmente aumentando la cadenza<sup>(24,25,26)</sup>. Nell'uomo si è documentato che in diverse attività motorie (correre, pedalare, nuotare) l'intensità di esercizio aumenta non solo per aumento della forza applicata, ma anche per aumento della cadenza<sup>(27,28,29)</sup>. È stato inoltre dimostrato che la relazione forza/velocità dei muscoli può essere descritta da un'equazione iperbolica e quindi più veloce è il movimento tanto più bassa sarà la

forza generata dal muscolo in contrazione<sup>(7)</sup>. Esiste dunque un minimo livello di attivazione muscolare a cadenze progressivamente crescenti.

D'altra parte è noto che anche il  $\text{VO}_2$  aumenta in modo prima lineare e poi curvilineare durante esercizio incrementale al cicloergometro in ciclisti professionisti. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di verificare l'andamento della relazione IE/FC durante test incrementale al cicloergometro in soggetti cardiopatici e la sua relazione con la SA ventilatoria ( *metodo V - Slope* ).



## **2. Soggetti e Metodi**

### *2.1 Soggetti*

A questo studio hanno partecipato 35 soggetti cardiopatici. I valori medi  $\pm$  deviazione standard (*DS*) di età, altezza e peso sono risultati rispettivamente  $61 \pm 9$  anni,  $172 \pm 5$  cm e  $79 \pm 11$  kg. In Tabella 1. sono riportati i valori individuali dei soggetti esaminati.

*Tabella 1: Caratteristiche antropometriche dei soggetti esaminati*

<b>N°</b>	<b>ETA'</b> <b>(anni)</b>	<b>ALTEZZA</b> <b>(cm)</b>	<b>PESO</b> <b>(kg)</b>	<b>BMI</b>
1	62	173	83	28
2	71	169	70	25
3	60	174	97	32
4	52	162	69	26
5	63	168	67	23
6	72	176	86	28
7	66	170	71	25
8	58	174	68	23
9	62	177	86	27
10	62	173	77	26
11	67	172	65	22
12	64	175	74	24
13	74	178	104	33
14	64	174	76	24
15	61	176	75	25
16	56	175	79	26
17	51	174	93	31
18	43	174	88	29
19	43	174	85	28
20	74	169	75	26
21	47	180	99	31
22	63	158	64	26
23	58	175	82	27
24	66	160	61	24
25	58	168	88	31
26	70	170	79	27
27	66	170	72	25
28	64	171	64	22
29	52	180	91	28
30	80	177	88	28
31	56	168	68	24
32	50	171	76	26
33	51	178	90	28
34	51	178	81	26
35	66	175	75	24
<b>MEDIA</b>	<b>61</b>	<b>172</b>	<b>79</b>	<b>26</b>
<b>DS.</b>	<b>9</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>3</b>
<b>MAX</b>	<b>80</b>	<b>180</b>	<b>104</b>	<b>33</b>
<b>MIN</b>	<b>43</b>	<b>160</b>	<b>61</b>	<b>22</b>

I soggetti sono stati selezionati durante le visite di follow-up presso il Centro Studi Biomedici applicati allo Sport, sede dell' U.O. di Riabilitazione Cardiologica e Medicina dello Sport dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria "S. Anna" di Ferrara. Dei 35 soggetti che hanno partecipato allo studio, 20 avevano subito un Infarto Acuto del Miocardio (IMA), 1 era portatore di Protesi Valvolare Aortica (PROTESI), 19

erano portatori di By Pass Aorto-Coronarico (BAC) , 11 avevano subito un intervento di Angioplastica Percutanea Transluminale (PTCA) (*Tabella 2.2*). Ogni soggetto esaminato ha fornito il proprio consenso informato alla partecipazione allo studio.

*Tabella 2.* Patologie cardiocircolatorie della popolazione studiata

	N	%
IMA	20	57
BAC	19	54
PTCA	11	31
PROTESI	1	3

## *2.2 Farmaci*

Ogni soggetto durante i test di valutazione funzionale ha continuato ad assumere i farmaci necessari al trattamento delle patologie di cui era portatore (*Tabella 3*).

Tabella 3: Farmaci assunti suddivisi per classe, nome commerciale, principio attivo

Classe (n)	Farmaco (n)	Principio attivo
ACE-inibitori (24)	Triatec (5)	Ramipril
	Enapren (5)	Enalapril
	Alapril (1)	Isinopril
	Tiklid (5)	Ticlopidina Cloridrato
	Quinazil (1)	Quinapril Cloridrato
	Quark (1)	Ramipril
	Naprilene (1)	Enalapril maleato
	Setrilan(1)	Spirapril cloridrato
	Aprovel(1)	Irbesartan
	Converten(1)	Enalapril maleato
	Micardis(1)	Telmisartan
	Cardura(1)	Enalapril maleato
	Antiaggreganti (27)	Cardioasa (13)
Cardirene (3)		Lisina acetilsalicilato
Ticlopidina (3)		Ticlopidina cloridrato
Ascriptin(3)		A. acetilsalicilico
Fluilast(1)		Ticlopidina cloridrato
Cardioaspirina(3)		A. acetilsalicilico
Coumadin(1)		warfarin sodico
Beta bloccanti (21)	Tenormin (1)	Atenalolo
	Lopresor (2)	Metoprololo tartrato
	Seloken (7)	Metoprololo tartrato
	Dilatrend (4)	Carvedilolo
	Nebilox (1)	Nebivololo cloridrato
	Congescor(1)	Bisoprololo fumarato
	Atenololo(3)	Atenololo
	Sequacor(1)	Bisoprololo fumarato
	Cardicor(1)	Bisoprololo emifumarato
	Ca-antagonisti (7)	Norvasc (3)
Dilzene (1)		Diltiazem cloridrato
Syscor(1)		nisoldina
Monoket(1)		Isosorbide
Venitrin(1)		Nitroglicerina
Ipocolesterolemizzanti (22)		Sinvacor (6)
	Eskim (3)	Omega polienoici
	Torvast (7)	Atorvastatina
	Sivastin (4)	Simvastatina
	Zocor (2)	Simvastatina
	Antidepressivi (1)	Tavor(1)
Diuretici (1)		Idroclorotiazide + amiloride
Antiaritmici (1)		Mexilitina cloridrato

In particolare, 1 soggetto su 35 (1/35) assumeva antidepressivi, 21/35 assumevano  $\beta$ -bloccanti, 7/35 assumevano Ca-antagonisti, 19/35 assumevano ACE inibitori, 1/35 assumeva diuretici, 24/35 assumevano ipocolesterolemizzanti e ipotrigliceridemizzanti, 27/35 assumevano antiaggreganti piastrinici, 11/35 assumevano altri farmaci.

Prima dell'esecuzione del test, i soggetti sono stati sottoposti a valutazioni cliniche da cui è emersa l'assenza di controindicazioni assolute o relative alla pratica regolare di attività fisica ed alla esecuzione di test da sforzo massimale.

### *2.3 Misurazione dell'Intensità di Esercizio e della Frequenza Cardiaca*

Il test è stato eseguito su un cicloergometro innovativo, messo a punto presso il Centro Studi Biomedici applicati allo Sport dell'Università di Ferrara, e denominato CONTEST.

L'intensità di esercizio era misurata per mezzo di un apparato che funzionava da misuratore di potenza (SRM Training System, Ingenierburo Schoberer, Julich-Welldorf, Germania). La forza applicata ai pedali determina una deformazione nelle pedivelle proporzionale alla forza stessa, che è misurata mediante sensori resistivi.

Figura 5. Powermater: Sistema che permette la misurazione delle deformazioni causate dalla forza esercitata sui pedali convertendole in segnali elettrici.



La velocità angolare delle pedivelle è misurata mediante un contatto inserito all'interno delle pedivelle stesse e attivato da un sensore magnetico.

Con la misurazione della cadenza e della velocità angolare si genera un segnale elettrico modulato, inviato via cavo ad un minicomputer (Powercontrol Figura n 5) posto sul manubrio del cicloergometro.



La potenza è quindi calcolata come prodotto delle forze applicate e delle velocità angolari.

Il minicomputer è inoltre in grado di misurare la frequenza cardiaca ricevendo in telemetria il segnale che proviene da una fascia toracica apposita (Polar Electro, Kempele, Finland).

Il sistema permette dunque la misurazione e la registrazione della potenza applicata ai pedali (watt), della cadenza di pedalata (rivoluzioni per minuto, RPM) e della frequenza cardiaca (battiti per minuto, bpm).

Il cicloergometro CONTEST è inoltre dotato di un software che permette la visualizzazione on-line dei dati raccolti.

L'accuratezza di questo strumento è stata precedentemente dimostrata da altri autori<sup>(31)</sup>.

### *2.3.1 Wind load Simulator*

Il cicloergometro CONTEST riproduce in laboratorio le resistenze che si incontrano pedalando in condizioni *outdoor*, e cioè: la resistenza aerodinamica, la resistenza al rotolamento delle ruote sul suolo e le trascurabili resistenze complessive causate dallo scorrimento della catena sui cerchi dentati.

### *2.3.2 Resistenza aerodinamica*

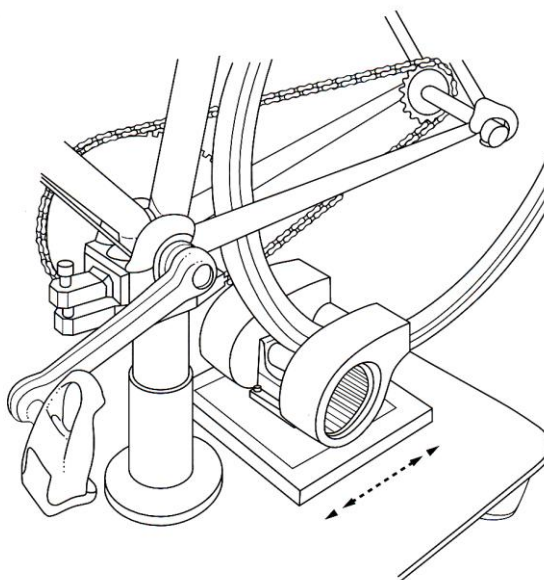
E' noto che all'aumentare della velocità cresce progressivamente l'importanza della resistenza aerodinamica. Nel nostro cicloergometro la resistenza aerodinamica è riprodotta da due ventole attaccate ad un rullo (Vetta Pro Beam, O.M.A.S., San Lazzaro di Savena, Bologna, Italia), su cui scorre la ruota posteriore di una normale bicicletta, che costituisce parte integrante del cicloergometro. Questa ruota era appesantita (2.8 kg e circonferenza 2120 mm) per aumentare l'inerzia di rotazione.

All'aumentare del numero di giri della ruota sul rullo aumenta il numero di giri delle due ventole, ciascuna costituita da 28 palette. La resistenza offerta dalle palette è proporzionale alla velocità di rotazione del rullo, e dunque la resistenza incontrata aumenta proporzionalmente all'aumentare del numero di giri del rullo.

### 2.3.3 Resistenza al rotolamento

La resistenza al rotolamento è quella più importante a basse velocità. Nel nostro cicloergometro è determinata dallo scorrimento della ruota posteriore sul rullo che si trova situato su una slitta scorrevole. La posizione del rullo era determinata in modo che a cadenza e rapporto noti (60 RPM , 53x20) e con pressione del tubolare di 8 atmosfere, corrispondesse l'attesa potenza applicata ai pedali (62 W). In questo modo la procedura era standardizzata prima di ogni teste.

Figura 6: Wind-load Simulator



Dettaglio del Wind-Load Simulator costruito appositamente per il nostro laboratorio. Le frecce indicano i possibili movimenti lungo l'asse orizzontale per variare la resistenza alla rotazione della ruota.

Da: Gregor R.J., Conconi F., *Handbook of Sportsmedicine and Science, Road Cycling*, Blackwell Science Ltd (© 2000)



## *2.4 Protocollo*

Si è svolta una prova da sforzo incrementale, condotta fino all'esaurimento muscolare, ovvero limitata dai sintomi.

### *2.4.1 Stato del soggetto*

I soggetti partecipanti allo studio svolgevano programmi di attività fisica domiciliare diversa per modo, intensità, frequenza e durata delle sedute. Ciascuno giungeva al laboratorio avendo avuto cura di non svolgere attività fisica intensa e/o prolungata nelle 72 ore precedenti la prova. I test erano eseguiti fra le 9.30 e le 11.30 del mattino, avendo consumato una colazione leggera, priva di bevande eccitanti, non meno di 2 ore prima del test.

### *2.4.2 Riscaldamento*

Al fine di attivare progressivamente le reazioni del metabolismo aerobico ed anaerobico ogni test era preceduto da una fase di riscaldamento.

Questa fase durava 15-20 minuti, ed era suddivisa in 2 periodi:

- 1) 5-10 minuti pedalando a bassa intensità, utilizzando rapporti compresi fra 53x18 e 53x22, a cadenza 40-60 rpm;
- 2) successivamente veniva eseguita una progressione basata su piccoli e uniformi incrementi di cadenza, da 50/60 a 75/85 RPM, incrementando 1 RPM/20 secondi. Il tipo di protocollo e il rapporto utilizzato dipendeva dal grado di

allenamento del soggetto. I soggetti più allenati partivano da 60 RPM utilizzando un rapporto più impegnativo (53x18-20), mentre i soggetti meno allenati partivano da 50 RPM utilizzando un rapporto più breve (53x22) .

### *2.4.3 Il test*

Si è trattato di un test incrementale in cui l'aumento dell'intensità d'esercizio era determinato dagli aumenti della cadenza: incrementi costanti di 1 RPM ogni 20 secondi, partendo da 50 o da 60 RPM, a seconda del grado di allenamento del soggetto, mantenendo costante il rapporto utilizzato.

Questo uniforme incremento del carico proseguiva finché l'operatore e/o lo stesso soggetto da valutare, verificavano segni di sforzo "quasi massimale", come dispnea moderata-severa, "mal di gambe" o sudorazione profusa. Inoltre i soggetti erano monitorati con l'ECG a 12 derivazioni.

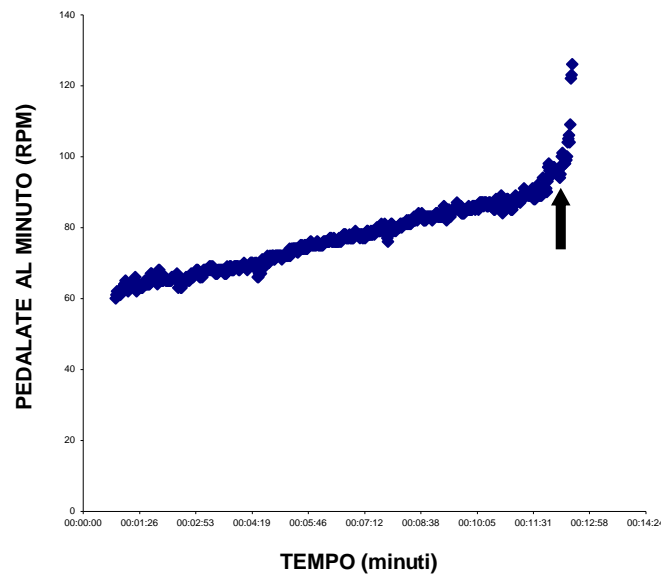
Ci si è inoltre avvalsi della contemporanea rappresentazione grafica della relazione tra IE e FC su monitor di un personal computer connesso al Cicloergometro CONTEST.

Come noto, la relazione IE/FC è lineare per intensità da lievi a sottomassimali e curvilineare per intensità da sottomassimali a massimali. Il punto di passaggio dalla parte lineare a quella curvilineare è noto come punto di deflessione e si è dimostrato corrispondere alla cosiddetta Soglia Anaerobica.

Questi accorgimenti sono stati presi per essere certi che il soggetto da valutare eseguisse una progressione costante fino ad una intensità di esercizio che fosse senza dubbio oltre quella di soglia anaerobica.

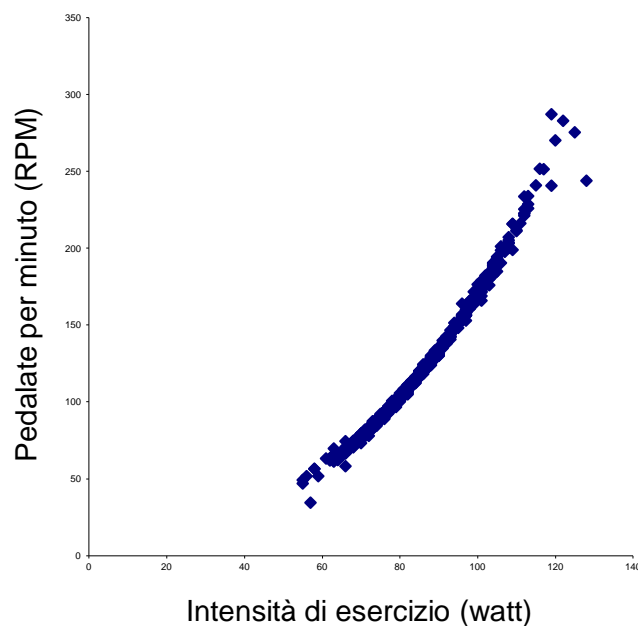
A questo punto aveva inizio la fase finale del test, in cui incrementi piccoli e uniformi di cadenza erano sostituiti da incrementi maggiori (5 RPM) e più rapidi (ogni 10 secondi), fino al raggiungimento del massimo sforzo e dunque all'esaurimento.

Figura 7 : Incremento della cadenza in funzione del tempo



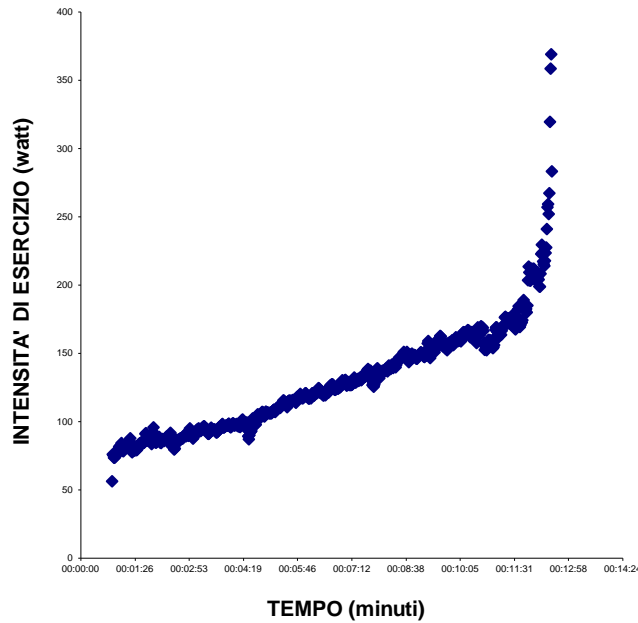
Relazione tra tempo e cadenza in uno dei test. La cadenza aumenta di 1 RPM ogni 20 secondi fino alla fase di inizio dell'accelerazione finale (freccia nera), dove gli incrementi diventano maggiori e più rapidi (5 RPM /10 secondi).

Figura 8 : Incremento della cadenza in funzione dell'intensità di esercizio



Relazione tra cadenza e intensità di esercizio durante il Test Conconi.

Figura 9: Incremento dell'intensità di esercizio in funzione del tempo



#### 2.4.5 Valutazione dei gas respiratori

La valutazione dei gas respiratori è stata effettuata per mezzo di un apposito strumento denominato ergospirometro. Il soggetto è collegato all'apparecchio per mezzo di una maschera di Rudolph che, connessa ad un flussossimetro a turbina, che ha permesso la valutazione dei flussi espiratori ed il campionamento di piccole quantità dei gas espirati, inviati agli analizzatori per l'analisi e la successiva elaborazione. Nel corso delle varie valutazioni è stato utilizzato l'ergospirometro QUARK B<sup>2</sup> (COSMED, Padova di Albano, Roma, Italia).

Questa apparecchiatura misura la ventilazione polmonare per mezzo del flussimetro costituito da una turbina bidirezionale, all'interno della quale una struttura elicoidale mobile ruota sul proprio asse a velocità proporzionale al flusso di aria che la investe; il numero di giri di questa struttura mobile viene letto da un sistema opto-elettronico, integrato ed elaborato da un microcomputer che calcola il valore dei flussi e dei

volumi. L'accuratezza delle valutazioni è stata controllata prima di ogni prova mediante calibrazione della turbina, per mezzo di siringa (COSMED, S/N C00600-01-11) a volume noto (3 litri).

La percentuale di O<sub>2</sub> nell'espriato è stata valutata per mezzo di un analizzatore all'ossido di zirconio (ZrO<sub>2</sub>), che sfrutta la conduttività elettrica determinata, a temperatura elevata, dal movimento degli ioni O<sub>2</sub>.

L'elettrodo, posto tra due camere di misura, di cui una di riferimento e l'altra per il campione in esame, è collegato ad un elettrodo poroso di platino conduttore di elettroni.

La camera di riferimento è collegata al catodo, quella di misura all'anodo di un circuito di forza elettromotrice. Quando la cella è portata alla temperatura alla quale l'elettrodo solido conduce ioni ossigeno, l'intensità di corrente tra i due elettrodi è proporzionale alla pressione parziale dell'ossigeno.

L'analisi della CO<sub>2</sub> è stata effettuata per mezzo di analizzatore ad infrarossi.

L'analizzatore è costituito da un banco ottico e da una scheda di elaborazione elettronica del segnale. In breve, il sistema è costituito da due fasci di raggi infrarossi che, attraverso due celle contenenti una il gas di riferimento e l'altra quello da analizzare, raggiungono un rilevatore.

Il risultato della misurazione è rappresentato dall'attenuazione che subisce la radiazione infrarossa che passa attraverso la camera di misura. Tale attenuazione è proporzionale alla quantità di molecole di gas CO<sub>2</sub> in esse contenuta.

L'accuratezza delle valutazioni è stata controllata prima di ogni prova mediante calibrazione degli analizzatori, per mezzo di aria ambiente e di miscela di gas a composizione nota (CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 16%, N<sub>2</sub> 79%).

Sono stati esclusi dall'elaborazione dei dati i relativi primi due minuti del test: ciò in considerazione del fatto che i parametri biologici considerati in questo studio hanno diverse cinetiche nelle fasi iniziali della prova<sup>(32)</sup>.

Si assume che a partire dal secondo minuto di esercizio gli adattamenti cardiocircolatori abbiano uguale cinetica. Sono stati ugualmente esclusi

dall'elaborazione i dati raccolti nell'ultimo minuto del test : ciò in considerazione del fatto che i piccoli e costanti incrementi del carico durante il test sono stati sostituiti nella parte finale da incrementi maggiori e più ravvicinati nel tempo. In tal modo si potrebbe configurare un *bias* metodologico che abbiamo voluto escludere dall'analisi.

## 2.6 Analisi dei dati

Alla conclusione di ogni prova i dati relativi all'intensità di esercizio (watt) alla frequenza cardiaca (battiti/minuto) e alle pedalate al minuto RPM sono stati trasmessi dal ricevitore (minicomputer) posto sul manubrio della bicicletta ad un personal computer per la successiva elaborazione. Per l'analisi e la rappresentazione grafica ci si è avvalsi del software EXCEL 2000 (Microsoft Corporation, USA), e di un programma sviluppato appositamente per il nostro laboratorio (Tcon, Tek-Up, Bologna, Italia).

I dati relativi alla valutazione ergospirometrica ( $VO_2$ ,  $VCO_2$  e VE) sono stati anch'essi trasferiti allo stesso personal computer per la successiva elaborazione per mezzo di EXCEL 2000.

### *Smoothing*

I dati così raccolti e trasferiti sono stati sottoposti a procedura di *smoothing* (media mobile pesata), che consiste nel ridurre le irregolarità in una serie di dati successivi<sup>(33)</sup>. Si tratta di una funzione che permette di adattare i punti di una relazione fra due variabili non solo in base al valore del singolo punto, ma anche in base ai valori dei punti che lo precedono e lo seguono, creando minor variabilità<sup>(34)</sup>. Questa procedura è indicata per diminuire gli effetti ai fini statistici delle oscillazioni dipendenti dalla modalità di raccolta respiro per respiro (deglutizioni, colpi di tosse, inspirazioni/espirezioni più o meno prolungate ecc).

La formula utilizzata per realizzare la funzione *smoothing* è la seguente:

$$S = 0,25 x ([X-1] + 2 [X] + [X+1])$$

Dove:

S = valore smooth di x;

X = valore al tempo x;

[X-1] = valore precedente;

[X+1] = valore successivo.

La misurazione dei parametri è stata fatta ad intervalli di 5 secondi.

### *Linearità della relazione IE/VO<sub>2</sub>*

Per verificare l'andamento lineare delle relazioni IE/FC e IE/VO<sub>2</sub> abbiamo calcolato il coefficiente di correlazione (*r*): *r* aumenta all'aggiunta di ogni punto successivo, raggiunge il suo valore massimo e diminuisce man mano che i punti deviano dalla linearità.

### *2.6.3 Punto di deflessione*

E' noto che la relazione IE/FC è lineare per valori di IE da bassi a sottomassimali e curvilineare per valori di IE da sottomassimali a massimali; il punto di passaggio tra la parte lineare e quella curvilineare, detto punto di deflessione, è stato determinato utilizzando un metodo matematico che si basa sull'equazione della retta:

$$y = a + bx$$

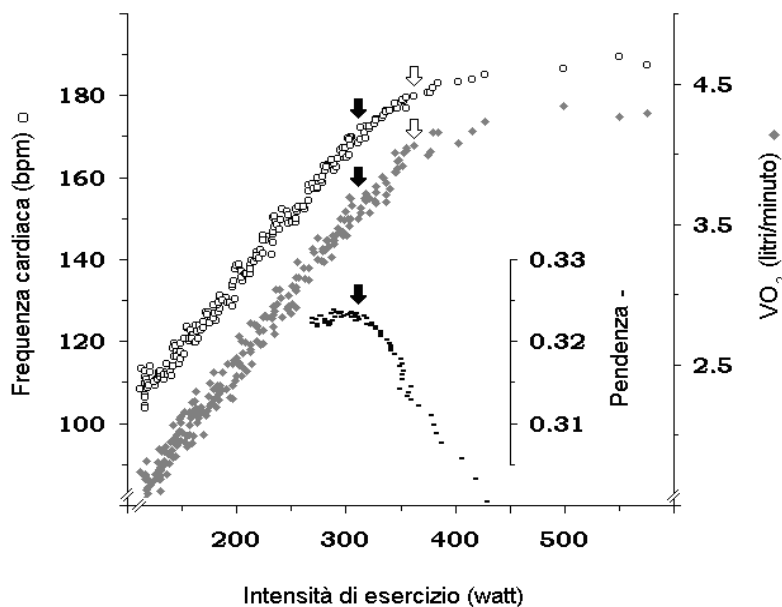
Il valore di  $(b)$  corrisponde alla pendenza della retta ed esprime la variazione di  $y$  per variazione unitaria di  $x$ .

Il valore di  $b$  aumenterà nella parte rettilinea all'aggiunta di ogni punto, ma diminuirà in corrispondenza dell'inizio della parte curvilinea <sup>(35, 36)</sup> (Fig 9); l'identificazione del punto in cui il valore di  $b$  comincia a calare, è quindi oggettivamente determinato e permette di dividere i dati ottenuti in due segmenti.

L'identificazione del punto di intersezione delle regressioni lineari dei due gruppi di dati, permette la determinazione del valore di soglia anaerobica.

Il calcolo matematico è stato applicato escludendo i primi due minuti della prova e mantenendo la parte relativa all'accelerazione finale.

Figura 10: Determinazione matematica della soglia anaerobica nella relazione intensità di esercizio/consumo di ossigeno e intensità di esercizio/frequenza cardiaca



La relazione IE/VO<sub>2</sub> e IE/FC durante un esercizio incrementale. Le frecce nere indicano il punto di deflessione che è stato calcolato matematicamente. Le frecce bianche indicano l'inizio della fase di accelerazione finale.

In questo studio abbiamo applicato tale modello matematico, sia all'analisi della relazione IE/FC che IE/VO<sub>2</sub>.



#### 2.6.4 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il pacchetto statistico MedCalc (MedCalc software, Mariakerke, Belgio).

Prima di tutto abbiamo determinato la distribuzione di tutte le variabili esaminate, sia quelle misurate (IE, FC,  $VO_2$ ), che quelle calcolate (pendenza della retta al punto di deflessione e all'inizio dell'accelerazione finale). Per valutare la normalità della distribuzione abbiamo utilizzato i test di Kolmogorov-Smirnov e di Shapiro-Wilk. Successivamente abbiamo valutato l'andamento della relazione  $VO_2/FC$  durante ogni test, eseguendo una regressione lineare e determinando il coefficiente di correlazione ( $r$ ).

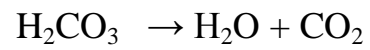
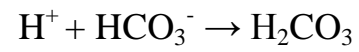
Dopo avere accertato la normalità della distribuzione dei parametri esaminati, è stato applicato un test di Student ( T-test ) per dati appaiati per valutare la relazione fra i valori medi di IE ai punti di deflessione e di inizio della fase di accelerazione finale nelle relazioni IE/ $VO_2$  ed IE/FC. Abbiamo poi determinato il coefficiente di correlazione ( $r$ ) tra IE al punto di deflessione sia nella relazione IE/ $VO_2$  ( $IE_{dVO_2}$ ) che nella relazione IE/FC ( $IE_{dFC}$ ). Infine è stata effettuata un'analisi di regressione lineare per i valori di  $IE_{dFC}$  in funzione dei valori di  $IE_{dVO_2}$ , e applicato un test di Student per dati appaiati per valutare la differenza tra i valori medi di  $IE_{dVO_2}$  ed  $IE_{dFC}$ .

#### 2.6.5 Soglia anaerobica ventilatoria ( V - SLOPE )

La soglia anaerobica ventilatoria è stata determinata per mezzo del metodo V-slope. Tale procedura si basa sull'analisi della relazione consumo d'ossigeno/produzione di anidride carbonica ( $VO_2/VCO_2$ ) durante esercizio incrementale. L'analisi della relazione permette la suddivisione dei dati raccolti in due segmenti a diversa tendenza ( *Slope* ). L'intersezione dei due segmenti corrisponde alla SA.  $VO_2$  e  $VCO_2$  aumentano proporzionalmente per intensità da lievi a submassimali. Da un certo punto in poi, l'aumento di  $VCO_2$  eccede l'aumento di  $VO_2$ , causando una diversa

pendenza. Questa variazione di pendenza dipende da un eccesso di  $V_{CO_2}$  rispetto al  $V_{O_2}$ .

Questo fenomeno è ascrivibile alla dissociazione dell'acido carbonico ( $H_2CO_3$ ) conseguente alla reazione:



### 3. RISULTATI

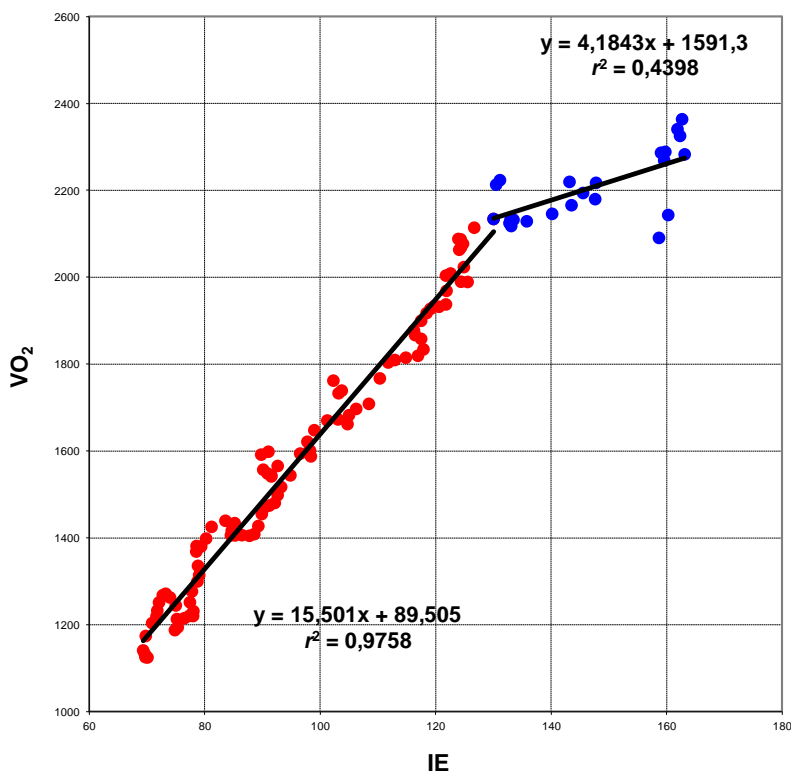
Tutti i soggetti esaminati hanno concluso il Test massimale senza complicazioni.

#### 3.1 Relazione IE/VO<sub>2</sub>

In 24 soggetti su 35 (69 % dei casi) la relazione si è dimostrata lineare per IE da lievi a sottomassimali, e curvilineare per IE da sottomassimali a massimali. I dati raccolti permettono dunque una suddivisione in 2 segmenti con 2 diverse equazioni della retta. E' stato identificato il punto di deflessione in corrispondenza dell'intersezione delle 2 rette relative.

In figura 11 è rappresentato l'andamento della relazione IE/VO<sub>2</sub> in uno dei soggetti esaminati. La figura permette di evidenziare che questo soggetto "Deflette" a 133 Watt e 2125 ml/min. Sono inoltre rappresentati in figura i dati relativi all'equazione della retta nei 2 segmenti ottenuti: rispettivamente  $y = 15,501x + 89,505$   $r^2 = 0,9758$  e  $y = 4,1843x + 1591,3$   $r^2 = 0,4398$ .

Figura 11: Andamento della relazione IE/VO<sub>2</sub> in uno dei soggetti esaminati



I valori medi  $\pm$  deviazione standard (DS), nonché i valori minimi e massimi di  $IE_d$ ,  $VO_{2d}$  e tempo alla deflessione (minuti:secondi) dei 24 soggetti esaminati sono rappresentati nella tabella 4.

Tabella 4 : Relazione  $IE/VO_2$

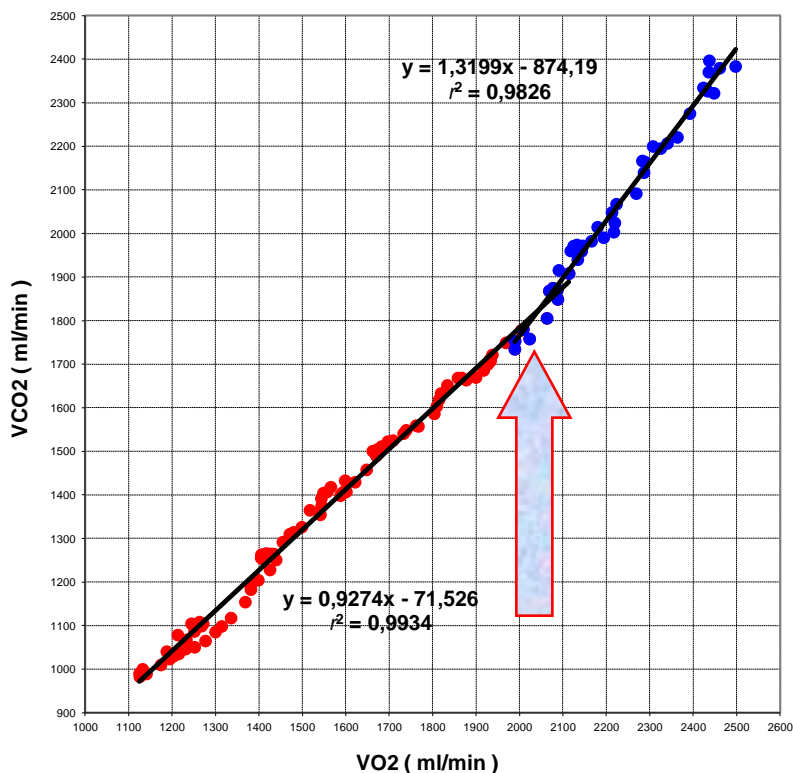
	<b>IE</b>	<b>VO<sub>2</sub>(ml/min)</b>	<b>Tempo(min:sec)</b>
<b>Media</b>	116	1683	06.05
<b>DS</b>	33	493	01.34
<b>Min</b>	66	680	01.55
<b>Max</b>	189	2700	08.30

### 3.2 Relazione $VO_2/VCO_2$

In tutti i soggetti esaminati è stato possibile identificare la Soglia Anaerobica Ventilatoria per mezzo del metodo V-slope. I dati raccolti respiro-per-respiro permettono di osservare una distribuzione dei punti nel corso del test secondo 2 segmenti. In tutti i 35 soggetti esaminati è stato possibile identificare una retta relativa ai 2 segmenti e, conseguentemente, l'intersezione delle 2 rette medesime corrispondente alla Soglia Anaerobica secondo Beaver et al.

In figura 12 è rappresentata graficamente la relazione  $VO_2/VCO_2$  durante il test in uno dei soggetti esaminati. Sono inoltre rappresentati i dati delle equazione delle 2 rette. La freccia indica l'intersezione e dunque la Soglia Anaerobica Ventilatoria.

Figura 13:  $VO_2/VCO_2$  in uno dei soggetti esaminati



I valori medi  $\pm$  DS, nonché i valori minimo e massimo alla SA così determinata sono rappresentati nella Tabella 5.

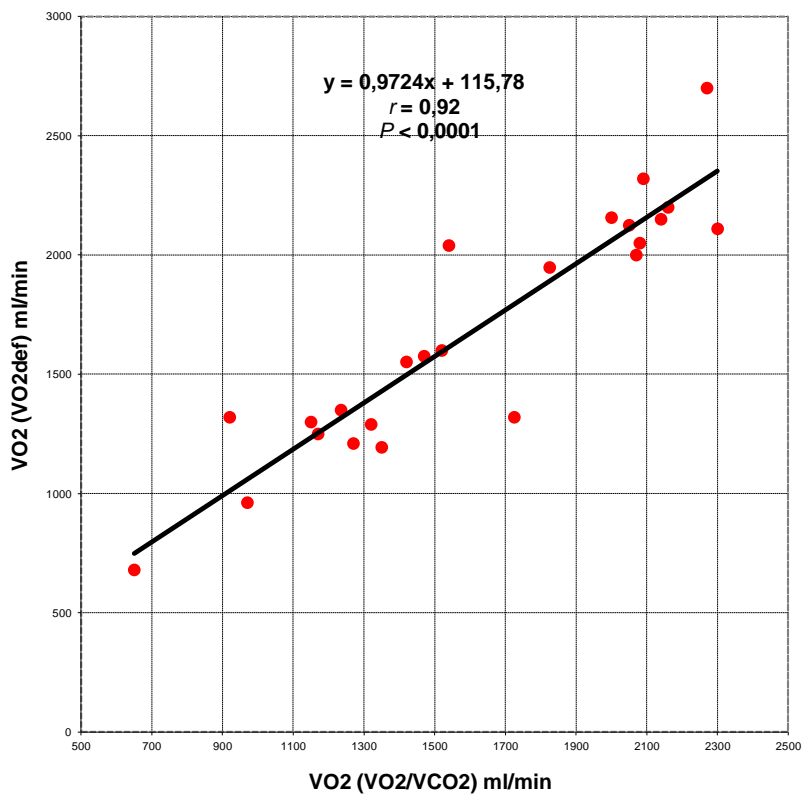
	$VO_2$ (ml/min)	$VO_{2max}$ (ml/min)	SA% di $VO_{2max}$
<b>Media</b>	1683	2047	78,3
<b>DS</b>	493	556	7,6
<b>Min</b>	680	1067	60,9
<b>Max</b>	2700	2760	89,2

Si noti come i valori medi percentuali alla SA rispetto al  $VO_{2max}$  siano elevati per soggetti cardiopatici.

### 3.3 Confronto fra $VO_2$ alla SA vs $VO_2$ alla deflessione di IE/ $VO_2$

In figura 14 è rappresentata la correlazione ottenuta fra i valori di  $VO_2$  alla deflessione con i valori di  $VO_2$  alla SA ventilatoria. Si noti l'ottima correlazione ottenuta ( $R^2 = 0.85$ ,  $P < 0.0001$ )

Figura 14. Correlazione fra VO<sub>2</sub> alla deflessione ed alla SA ventilatoria.



La comparazione mediante test di Student per dati appaiati dei valori medi di VO<sub>2</sub> alla SA ventilatoria rispetto ai valori di VO<sub>2</sub> alla deflessione permette di affermare che non esistono differenze statisticamente significative ( $1612 \pm 478$  vs  $1683 \pm 504$ , ml/min  $P = 0.09$  ).

## DISCUSSIONE

In valutazione funzionale il protocollo impiegato può avere un importante impatto sulla relazione fra intensità d'esercizio, consumo d'ossigeno, produzione di anidride carbonica e frequenza cardiaca. Nell'ambito di test incrementali, sia al tappeto rotante che la ciclo ergometro, ci sono due tipi di approccio: protocolli a "gradini" e "protocolli a rampa" come quello impiegato in questo studio. Protocolli a gradini sono tutt'ora molto impiegati sia in ambito clinico che sportivo per la valutazione del fitness cardio- respiratorio. Tuttavia, alcune importanti istituzioni scientifiche internazionali ( *American College of Sports Medicine, American College of Cardiology, American Heart Association* ) raccomandano ora l'impiego di protocolli più gradualizzati, quando possibile individualizzati. Le ragioni di queste indicazioni si basano sul fatto che incrementi troppo grandi e/o troppo rapidi , determinano una minor sensibilità nella diagnosi di malattia coronarica, una minor affidabilità nella valutazione degli effetti di un intervento farmacologico o riabilitativo, nonché la tendenza a sovrastimare le capacità di esercizio. Al contrario, protocolli a rampa sono meglio tollerati e permettono il raggiungimento di valori più elevati di consumo d'ossigeno ed inoltre riducono il rischio di precoce esaurimento per affaticamento muscolare.

### ***IE/VO<sub>2</sub>***

E' noto che durante test incrementali al cicloergometro il VO<sub>2</sub> aumenta linearmente alla IE fino ad intensità lavorative sub massimali al di sopra delle quali l'incremento della potenza erogata eccede l'incremento del consumo d'ossigeno descrivendo un andamento che tende a "plateau".

In questo studio abbiamo osservato che in 24 casi su 35 ( 69% ) l'andamento della relazione IE/VO<sub>2</sub> è lineare per intensità lavorative da lievi a sub massimali, e curvilineare per intensità da sub-massimali a massimali. E' stato dunque possibile

identificare un punto di passaggio tra la parte lineare e quella curvilinea cui corrisponde un'attenuazione del  $VO_2$ , e che abbiamo chiamato punto di deflessione  $VO_{2def}$ . Nei rimanenti 11 casi su 35 la relazione si è mantenuta lineare durante tutto il test. Questo comportamento prevalente era stato dimostrato da Lucia et al. su ciclisti di alto livello. A nostra conoscenza è la prima volta che tale fenomeno fisiologico è descritto in soggetti cardiopatici. La contemporanea valutazione elettrocardiografica è risultata negativa e dunque possiamo escludere che questo fenomeno sia riferibile ad aspetti patologici. Abbiamo dunque cercato una spiegazione fisiologica a questo fenomeno. Ancorché prevalente ( 24 su 35 ), questo andamento non ha riguardato la totalità dei soggetti esaminati e riteniamo che ciò possa essere riferito a due fattori: 1) il protocollo impiegato prevede l'incremento del carico lavorativo per mezzo di piccoli e graduali incrementi di cadenza. Sono dunque richieste capacità coordinative che soggetti cardiopatici non hanno. In altri termini, non sono abituati a pedalare. Questo potrebbe spiegare al contrario, in ciclisti il fenomeno è praticamente sempre osservabile. 2) un'altra possibile interpretazione riguarda il possibile impatto di farmaci attivi sull'apparato cardiovascolare di cui questi soggetti hanno continuato a fare uso durante il test. Questi farmaci, in modo particolare i beta bloccanti, potrebbero modificare le cinetiche di frequenza cardiaca, consumo d'ossigeno e produzione di  $CO_2$ , anche in considerazione dei diversi principi attivi e della diversa posologia.

### $VO_2/VCO_2$

La valutazione ergospirometrica cui sono stati sottoposti i soggetti esaminati a permesso di analizzare l'andamento della relazione fra  $VO_2$  e  $VCO_2$  durante il test. Come atteso, in tutti i soggetti valutati tale relazione si è dimostrata lineare per IE da lievi a sub massimali con una determinata pendenza. Al di sopra di una certa IE il rapporto fra  $VO_2$  e  $VCO_2$  si modificava in modo tale da descrivere un secondo segmento caratterizzato da maggior pendenza rispetto al primo. Questo fenomeno è ben noto in letteratura e permette l'identificazione della soglia anaerobica ventilatoria



all'intersezione dei due segmenti con diversa pendenza con metodo detto *V-Slope*. Abbiamo dunque voluto verificare quale fosse la relazione fra la soglia anaerobica ventilatoria e la deflessione di IE/ $VO_2$ .

$VO_2/VCO_2$  vs  $VO_{2DEF}$

Questo studio ha dimostrato una più che buona correlazione fra il consumo d'ossigeno alla soglia anaerobica ventilatoria determinata con metodo *V-Slope* e il  $VO_2$  corrispondente a  $VO_{2def}$  ( $r = 0.92$ ,  $P < 0.0001$ ). Inoltre l'analisi dei valori medi più o meno deviazione standard, effettuata per mezzo del test di Student per dati appaiati, ha permesso di documentare analoga buona correlazione ( $1612 \pm 478$  vs  $1683 \pm 504$  ml/min,  $P = 0.09$ ).

In conclusione, questo studio dimostra che anche in soggetti cardiopatici sottoposti a test incrementale al cicloergometro, è possibile identificare matematicamente il punto di deflessione del  $VO_2$  rispetto alla IE. Questa deflessione si è dimostrata altamente correlata con la soglia anaerobica ventilatoria. E' dunque possibile sostenere l'interpretazione metabolica di  $VO_{2def}$  per cui l'incremento della potenza erogata al di sopra di questo punto eccede l'incremento dell'impegno del metabolismo aerobico per l'attivazione della glicolisi anaerobica lattacida.

## BIBLIOGRAFIA

1. Vallebona A. Gigli G. , *l'importanza della capacità di esercizio in cardiologia*, Ital Heart j Suppl 4 (9): 712-719)
2. Wasserman K., McIlroy M.B. *Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise*. Am J Cardiol 1964; 14:844-852.
3. Wasserman K. *Anaerobic threshold and cardiovascular function*. Monaldi Arch Chest Dis 2002; 58(1): 1-5.
4. Mader A., Liesen H., Heck H., et al. *Zur Beurteilung der sportartspezifischen Ausdauerleistungsfähigkeit im Labor*. Sportarzt Sportmed 1976; 4: 80-88.
5. Keul J., Simon G., Berg A., Dickhuth H.H., Goertler I., Kubel R. *Bestimmung der individuellen anaeroben Schwelle zur Leistungsdiagnostik und Trainingsgestaltung*. Dtsch. Z. Sportmed 1979; 30:212-218.
6. Karlsson J., Jacobs I. *Onset of blood lactate accumulation during muscular exercise as a threshold concept*. Int. J. Sports Med. 1982; 3(4): 190-201.
7. Hill A. V. *The heat of shortening and the dynamic constants of muscle*. Proc. R. Soc. Lond. (biol) 1938 ; 126:136-195.
8. Conconi F., Ferrari M., Ziglio P.G., Droghetti P., Codecà L. *Determination of the anaerobic threshold by a non invasive field test in runners*. J Appl Physiol; 1982; 52:869-873.
9. Conconi F., Grazi G., Casoni I., Guglielmini C., Borsetto C., Ballarin E., Mazzoni G., Patracchini M., Manfredini F. *The Conconi test: Methodology after 12 years of application*. Int . J. Sports Med.1996; 17(7): 509-519.
10. Droghetti P., Borsetto C., Casoni I., Cellini M., Ferrari M., Paolini A.R., Ziglio P.G., Conconi F. *Non invasive determination of the anaerobic threshold in canoeing, cross-country skiing, cycling, roller and iceskating, rowing and walking*. Eur J Appl Physiol 1985; 53:299-303.
11. Grazi G., Alfieri N., Borsetto C., Casoni I., Manfredini F., Mazzoni G., Conconi F. *The power output/heart rate relationship in cycling: test standardization and repeatability*. Med Sci Sports Exerc. 1999; 31(10): 1478-1483.
12. Wasserman K.,and M.B. McIlroy. *Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise*. Am. J. Cardiol. 14:844-852, 1964.

13. Wasserman K, B.J. Whipp, S.N. Koyal, and W:L. Beaver. *Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise*. J. Appl. Physiol. 35:236-243, 1973.
14. Rusko H., P.H. Muller, and E. Karvinen. *Anaerobic threshold, skeletal muscle enzymes and fiber composition in young female cross.country skiers*. Acta Physiol. Scand. 108:263-268, 1980.
15. Dwyer J., R. Bybee. *Cardiac indices of the anaerobic threshold*. Med. Sci. Sports Exercise. In press.
16. Hughson R.L., B.J. MacFarlane. *Effects of oral propranolol on the anaerobic threshold and maximum exercise performance in normal man*. Can. J. Physiol. Pharmacol. 59:567-573, 1981.
17. Hughson R.L., B.J. MacFarlane. *Effects of oral propranolol on the anaerobic threshold and maximum exercise performance in normal man*. Can. J. Physiol. Pharmacol. 59:567-573, 1981.
18. Weber K.T., G.T. Kinasewitz, J.S. West, J.S. Janiki, N. Reichel, A.P. Fishman. *Long-term vasodilator therapy with trimazosin in chronic cardiac failure*. N. Engl. J. Med. 303:242-249, 1980.
19. Davis J.A., M.H. Frank, B.J. Whipp, K. Wasserman. *Anaerobic threshold alterations caused by endurance training in middle-aged men*. J. Appl. Physiol. 46 :1039-1046, 1979.
20. Farrell P.A., J.H. Wilmore, E.F. Coyle, J.E. Billings, D.L. Costill. *Plasma lactate accumulation and distance running performance*. Med. Sci. Sports 11:338-344, 1979.
21. Ivy J.L., R.T. Withers, P.J. Van Handel, D.H. Elger, D.L. Costill. *Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants lactate threshold*. J. Appl. Physiol. 48:523-527, 1980.
22. Sjodin B., I. Jacobs. *Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance*. Int. J. Sports Med. 2:23-26, 1981.
23. Whipp B.J., J.A. Davis, F. Torres, K. Wasserman. *A test to determine parameters of aerobic function during exercise*. J. Appl. Physiol. 50:217-221, 1981.
24. Dal Monte A., Faina M. *Valutazione dell'atleta. Analisi funzionale e biomeccanica della capacità di prestazione*. Capitolo 11, UTET © 2000.
25. Aryoshi M., Yamaji K., Shepard R.J. *Influence of running pace upon performance: effects upon treadmill endurance time and oxygen cost*. Eur J Appl Physiol 1979, 41:83-91.
26. Coast J.R., Cox R.H., Welch H.G. *Optimal pedalling rate in prolonged bouts of cycle ergometry*. Med Sci Sports Exerc 1986, 18:225-230.

27. Kram R., Taylor R. *Energetics of running: a new perspective*. Nature 1990, 346:265-267.
28. Green H.J., Patla A.E. *maximal aerobic power: neuromuscular and metabolic considerations*. Med. Sci. Sports Exerc. 24:38-46, 1992.
29. Klentrou P.P., Montpetit R.R. *Energetics of backstroke swimming in males and females*. Med. Sci. Sports Exerc. 24:371-375, 1992.
30. Stegeman J. *Exercise physiology*. New York: Geroge Thieme Verlag, 258-264, 1981.
31. Grazzi G., Alfieri N., Borsetto C., Casoni I., Manfredini F., Mazzoni G., Conconi F., *The power output/heart rate relationship in cycling: test standardization and repeatability*, Med Sci Sports Exer; 31(10): 1478-1483 (1999)
32. Beaver Wl et al. *A new method foe detecting anaerobic threshold by gas exchange*. J Appl. Physiol. 60(6) :2020-2027, 1986
33. MathSoft Inc., *S-Plus 5 for UNIX, Guide to Statistics*, paragraph 8.10, MathSoft Inc. (© 1988-1998) <http://www.demog.berkeley.edu/213/REF/statman1.pdf>
34. Easton V.J., McColl J.H., *STEPS Statistics Glossary v1.1, Time Series Data, Smoothing*, University of Glasgow, Department of Statistics, Glasgow, Ireland (1997)
35. Conconi F., Grazzi G., Casoni I., Guglielmini C., Borsetto C., Ballarin E., Mazzoni G., Patracchini M., Manfredini F., *The Conconi test: Methodology after 12 years of application*, Int. J. Sports Med., 17(7): 509-519 (1996)
36. Grazzi G., Alfieri N., Borsetto C., Casoni I., Manfredini F., Mazzoni G., Conconi F., *The power output/heart rate relationship in cycling: test standardization and repeatability*, Med Sci Sports Exer; 31(10): 1478-1483 (1999)

