



# Università degli Studi di Ferrara

DOTTORATO DI RICERCA IN

"Scienze Biomediche Endocrinologiche e Neurofisiologiche"

CICLO XXII

COORDINATORE Prof. Alessandro Martini

**Quantificazione degli adattamenti muscolari metabolici attraverso spettroscopia a raggi infrarossi e risposta emodinamica a seguito di un programma riabilitativo di cammino alla massima velocità libera dal dolore nell'arteriopatia periferica.**

Settore Scientifico Disciplinare M-EDF/01

**Dottorando**

Dott. Mandini Simona

**Tutore**

Prof. Manfredini Fabio

Anni 2007/2009

## **INDICE**

### **INTRODUZIONE**

La malattia.....	pg. 3
La valutazione del paziente con arteriopatia periferica.....	pg. 4
La gestione del paziente.....	pg. 11

<b>SCOPO DEL LAVORO.....</b>	<b>pg. 16</b>
------------------------------	---------------

<b>SOGGETTI E METODI.....</b>	<b>pg. 17</b>
-------------------------------	---------------

<b>ANALISI STATISTICA.....</b>	<b>pg. 22</b>
--------------------------------	---------------

<b>RISULTATI.....</b>	<b>pg. 23</b>
-----------------------	---------------

<b>DISCUSSIONE.....</b>	<b>pg. 27</b>
-------------------------	---------------

<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>pg. 32</b>
--------------------------	---------------

<b>TABELLE.....</b>	<b>pg. 39</b>
---------------------	---------------

<b>FIGURE.....</b>	<b>pg. 44</b>
--------------------	---------------

## **L'ARTERIOPATIA OBLITERANTE PERIFERICA**

### **La malattia**

L'arteriopatia obliterante periferica (AOP) è una condizione patologica secondaria ad una serie di alterazioni in grado di provocare danni irreversibili a carico della parete di arterie di diverso calibro, in particolare a livello degli arti inferiori, con conseguente apporto vascolare insufficiente nei distretti distali all'alterazione stessa.

La AOP colpisce il 3-10% della popolazione e circa l'8% della popolazione tra 55-74 anni, con un'ulteriore quota del 17% che risulta asintomatica. La prevalenza dell'AOP tende ad essere due volte maggiore nei maschi rispetto alle donne tra 50-70 anni, con tendenza ad equilibrarsi dopo i 70 anni<sup>(1-5)</sup>. Questa patologia, la cui incidenza appare in aumento sia negli USA, che in Europa, già ad uno stadio clinico intermedio è in grado di incidere fortemente sulle attività lavorative e ricreative del paziente, divenendo così anche un importante problema socio-economico<sup>(6,7)</sup>.

L'AOP è principalmente provocata da processi aterosclerotici che vedono come distretti maggiormente colpiti il segmento aorto-iliaco ed il segmento femoro-popliteo. Nel paziente diabetico, anche se l'aterosclerosi risulta ubiquitaria, la localizzazione più frequente e più grave è a carico dei vasi femoro-popliteo-tibiale.

L'AOP può presentarsi in modi diversi, dall'insufficienza arteriosa asintomatica, al dolore in seguito a deambulazione (claudicatio intermittens) e a riposo.

Il sintomo caratteristico precoce e più frequente tipico nello stadio intermedio dell'AOP, è la claudicatio intermittens, rappresentata da dolore crampiforme ai muscoli delle gambe nei distretti a valle della lesione durante la deambulazione. Tale sintomo è evocato precocemente in salita e, a differenza di dolori di altra natura, recede completamente e in pochi minuti con il riposo.

La sindrome aterosclerotica aorto-iliaca, meno frequente, può provocare dolore indotto da esercizio fisico ai quadranti inferiori della schiena, alle natiche o alle cosce, oltre a impotenza sessuale (sindrome di Leriche) mentre la lesione dell'arteria femorale superficiale è la più frequente e comporta sintomatologia a carico del polpaccio.

Se la claudicatio progredisce in gravità, il dolore può manifestarsi anche a riposo, in particolare durante la notte. Una minoranza di pazienti presenta una progressione dell'AOP verso un quadro di ischemia severa degli arti, con formazione di ulcere e gangrena. Tale condizione può richiedere, nelle forme più gravi, la rivascolarizzazione chirurgica o l'amputazione dell'arto colpito. L'intensità della sofferenza, così come l'evoluzione del quadro clinico, dipende dal grado di ostruzione delle arterie interessate e dall'integrità ed efficienza dei circoli collaterali.

In uno studio su pazienti con claudicatio seguiti per 5 anni, è emerso che il 75% circa rimane stabile o migliora sul piano sintomatico presumibilmente in seguito a sviluppi di circoli collaterali, il 20% sviluppa un aggravamento della claudicatio e il 5% presenta ischemia critica degli arti inferiori <sup>(8)</sup>

Se nel 1961 uno studio <sup>(9)</sup> evidenziava un'incidenza di amputazioni maggiori nel 7% dei pazienti con claudicatio dopo 5 anni e nel 12% dopo 10 anni, dati più recenti confermano che l'amputazione è un evento abbastanza raro, con rischio a 5 anni del 2% <sup>(10)</sup>. L'amputazione peraltro diviene più frequente una volta che i sintomi del dolore a riposo o le ulcerazioni tissutali diventano manifesti (ischemia critica degli arti): in uno studio prospettico nazionale, il rischio di amputazioni maggiori è risultato del 12,2% dopo solo 3 mesi in caso di dolore a riposo o di ulcerazione ischemica; il rischio aumenta ulteriormente se il paziente continua a fumare o in presenza di diabete <sup>(10)</sup>.

Il rischio di amputazione risulta peraltro nettamente inferiore a quello della comparsa di eventi cardiovascolari fatali e non. L'AOP è infatti spia di un quadro di aterosclerosi generalizzata e rappresenta un fattore di rischio indipendente di mortalità cardiovascolare accompagnandosi ad un rischio di mortalità di almeno il 30% entro 5 anni e di quasi il 50% entro 10 anni, soprattutto per infarto del miocardio (60%) o ictus (12%) <sup>(11)</sup>. Il rischio è più che raddoppiato in caso di AOP grave, ma anche pazienti asintomatici presentano un rischio aumentato da due a cinque volte di eventi cardiovascolari fatali e non fatali.

La diagnosi precoce di AOP è dunque particolarmente importante al fine di instaurare una prevenzione secondaria efficace ed una corretta terapia.

### **La valutazione del paziente con arteriopatía periferica.**

In genere la diagnosi di arteriopatía periferica occlusiva viene posta sulla base dell'anamnesi e dell'esame obiettivo, ma per una valutazione più accurata è opportuno ricorrere a metodiche di vario genere a disposizione.

*Valutazioni emodinamiche.* La flussimetria Doppler sfrutta il principio che ogni onda sfigmica realizza uno spostamento di volumi, inviando un segnale che risulta essere trifasico a livello delle arterie irroranti distretti muscolari, o difasico nei rami più distali. In caso di lesioni stenosanti il segnale viene demodulato, fino a che il segnale diviene sempre più arrotondato e monofasico. Nelle ostruzioni il profilo dell'onda velocimetrica è monofasico, distribuito non solo durante la sistole ma anche nella diastole con una costante sopraelevazione rispetto alla linea zero, a causa dell'aumento della circolazione collaterale. Se l'ostruzione è significativa il segnale può non essere rilevabile in periferia. Un ulteriore approfondimento viene fornito dalla determinazione dell'indice caviglia - braccio (ICB) o ankle-brachial index (ABI) o Indice di Winsor (IW), che rappresenta il rapporto tra la pressione arteriosa registrata a livello della arteria tibiale posteriore o della arteria pedidia e

quella rilevata a carico dell'arteria omerale. La misura si esegue utilizzando una sonda ultrasonica a effetto doppler (anche del tipo pocket) e un normale sfigmomanometro. Per maggior precisione, si rilevano i valori ai quattro arti (braccio sin, braccio dx, caviglia dx e caviglia sin). Il calcolo si effettua dividendo il massimo valore misurato alle caviglie per il massimo valore registrato alle braccia. Dal rapporto dei due dati si ottiene una valutazione oggettiva del flusso periferico e conseguentemente del grado di ostruzione del vaso <sup>(12)</sup>. I valori normali sono compresi tra 1,2 e 0,95; tra 0,9 e 0,65 ricade la gran parte dei pazienti II° stadio di Fontaine affetti da claudicatio. Pazienti al III°-IV° stadio presentano valori inferiori a 0,5 per la severità del processo stenotico-ostruttivo. Un indice inferiore a 0,3 è considerato un segnale prognosticamente sfavorevole anche se a valori così bassi l'indice diventa meno affidabile, e si preferisce valutare il paziente sulla base del valore assoluto della pressione sistolica alla caviglia. Se il valore della pressione alla caviglia supera di 20-25 mmHg quello omerale va considerato inattendibile, e deve essere sospettata la presenza di calcificazioni arteriose riscontrabili spesso nel paziente diabetico. In questi casi la pressione arteriosa dovrà essere misurata all'alluce, con metodo pletismografico <sup>(13)</sup>. Su questo stesso principio procedurale si basa la misurazione delle pressioni di occlusione segmentarie dell'arto. In condizioni normali non vengono rilevati gradienti pressori maggiori di 20 mmHg tra segmenti contigui; se tale gradiente risulta essere superiore, questo incremento sarà indicativo per una lesione emodinamicamente significativa.

L'esame EchoDoppler, oltre all'analisi del flusso ematico con il descritto metodo Doppler, consente di valutare direttamente la struttura dei vasi. La sua evoluzione, l'Echo-Color-Doppler, permette poi di visualizzare in modo colorimetrico caratteristiche e direzioni del flusso.

Un ruolo diagnostico secondario è invece a carico della Pletismografia, il cui principale campo di applicazione rimane quello dello studio del flusso e delle pressioni d'occlusione digitali, e dunque del riconoscimento delle lesioni estremamente periferiche. Dal momento che in un soggetto normale la pressione sistolica all'alluce è pari a circa l'80% della pressione brachiale, valori di indici alluce/braccio inferiori a 0,6 sono già indicativi di arteriopatìa, mentre valori inferiori a 0,2 si associano generalmente a lesioni trofiche.

Per quanto concerne lo studio del microcircolo periferico sono disponibili una serie di metodiche di minor utilizzo routinario, quali la capillaroscopia, il laser-Doppler e la tensione transcutanea d'ossigeno (TcO<sub>2</sub>). L'esame Angiografico, viene invece effettuato quando a causa della gravità dell'ostruzione si ritiene possibile dover intervenire con l'intervento chirurgico vascolare. Ha quindi spesso funzione preoperatoria, soprattutto quando sono interessati i tratti aorto-iliaco e femoro-popliteo. Consiste nella somministrazione di un mezzo di contrasto nelle arterie mediante iniezione diretta (aortografia, arteriografia) o posizionamento di cateteri per via transfemorale

(tecnica di Seldinger) e nello scatto successivo di numerose radiografie in breve tempo. E' così possibile ottenere una visualizzazione diretta dell'albero arterioso, localizzare selettivamente il distretto interessato dall'ostruzione e valutare la conformazione anatomica dei vasi.

*Valutazioni funzionali.* Consentono di determinare oggettivamente il grado di limitazione funzionale del paziente <sup>(14,15)</sup>, vista l'inattendibilità fornito dalla classica auto-valutazione della distanza percorsa alla claudicatio. L'esecuzione di test funzionali risulta quindi utile per determinare il grado di disabilità, per valutare la stabilità del quadro clinico, per valutare i cambiamenti di performance dopo intervento di rivascolarizzazione, dopo avviamento di una nuova terapia farmacologica o dopo intervento riabilitativo.

La valutazione funzionale può accompagnarsi a quella emodinamica, come nel Test di Strandness, che mira a valutare la capacità di compenso della circolazione collaterale in condizioni di sforzo. L'indagine consiste nella misurazione delle pressioni di occlusione alla caviglia, dopo che il paziente ha camminato per alcuni minuti sul tapis roulant. Nel soggetto normale lo sforzo provoca una vasodilatazione periferica massimale per diminuzione delle resistenze periferiche, con cospicuo aumento del flusso muscolare e valori pressori sovrapponibili a quelli pre-esercizio o solo lievemente inferiori. Nel soggetto arteriopatico invece, dove i circoli collaterali hanno già sfruttato ogni capacità di compenso e si manifestano condizioni di ischemia relativa, si evidenziano cali pressori al di sotto dei valori basali.

La valutazione funzionale del paziente AOP, è effettuata con differenti protocolli standardizzati eseguibili al treadmill e su strada.

Un protocollo di durata predeterminata eseguibile su strada, è costituito dal Test dei 6 minuti di cammino o Six-minute walking test <sup>(16)</sup>. Questo test, proposto inizialmente per la valutazione dei pazienti affetti da malattie croniche invalidanti come coronaropatie e broncopneumopatie, è stato utilizzato anche nel paziente arteriopatico <sup>(17)</sup>. Il test consiste nel fare camminare i pazienti percorrendo la massima distanza possibile in 6 minuti. Al momento della comparsa della claudicatio il paziente informa il medico continuando a camminare fino a che la claudicatio diviene insopportabile. Una volta interrotto il cammino per il dolore, il paziente può riprendere la prova appena possibile. Trascorsi i 6 minuti previsti, viene calcolata la distanza totale percorsa e annotata la distanza alla comparsa dei sintomi (pain-free walking distance). In termini assoluti, una distanza percorsa inferiore a 300 m è considerata un valore prognostico sfavorevole in termini di morbilità e mortalità cardiovascolare a breve termine <sup>(18)</sup>. Il test consente inoltre di valutare in termini percentuali il grado di limitazione funzionale del paziente in studio rispetto ad un soggetto sano dello stesso sesso e di pari età attraverso una formula validata <sup>(19)</sup>.

Tra le prove su strada è stato recentemente proposto un test <sup>(20)</sup> che mira a determinare la velocità di comparsa del dolore o pain threshold speed (PTS). Si tratta di un test incrementale effettuato in un corridoio caratterizzato da bassa velocità iniziale e da incrementi molto ridotti di velocità al termine di brevi tratti di cammino. . La prova termina quando il paziente, dopo aver segnalato il momento di comparsa dei sintomi dolorosi, non è più in grado di proseguire nella prova. L'originalità del test deriva dalla identificazione non già di una distanza (iniziale o massima) al dolore ma di una velocità critica. Tale velocità, oltre a costituire un parametro prestativo di riferimento, è utilizzabile a per guidare programmi di allenamento individualizzati ai pazienti.

I test a carico costante ed i test graduali, rappresentano i protocolli più frequentemente utilizzati al treadmill <sup>(21,22)</sup>. Già in uso per la valutazione di altre patologie quali le coronaropatie, sono utilizzati per determinare le capacità di cammino del soggetto affetto da patologia ostruttiva agli arti inferiori.

I test *a carico costante* prevedono che i pazienti vengano fatti camminare a velocità e pendenza costante (2,3 km/h al 7,5%, 3,0 o 3,2 km/h al 10 % ) fino alla comparsa dei sintomi

I test *graduali*, a carichi crescenti, prevedono una velocità di cammino fissa (ad es. 3,2 o 3,5 Km/h) con aumenti di pendenza a intervalli di tempo predeterminati (3,5 % ogni 3 minuti o 2 % ogni 2 minuti) fino al raggiungimento del dolore.

I parametri ottenibili attraverso queste prove, utili a valutare la performance del cammino, sono la “claudication walking distance o initial claudication distance (ICD)”, ovvero la distanza alla quale comincia ad evidenziarsi il dolore da claudicatio e la “maximal walking distance o absolut claudication distance” (ACD), cioè la distanza massima percorsa, parametro più utilizzato in sede di outcome. Può inoltre essere valutata la severità della sintomatologia provata dal paziente durante il test attraverso una scala da 0 a 4 (0 = assenza del dolore, 1 = inizio della claudicatio, 2 = dolore leggero, 3 = dolore moderato, 4 = dolore severo).

Partendo però dal principio che i test e i protocolli usati nei pazienti arteriopatici dovrebbero tenere conto della limitazione funzionale dei pazienti da testare e della necessità che i dati ottenuti possano fornire utili indicazioni per il programma riabilitativo, alcuni autori hanno proposto un test incrementale basato sulla velocità come parametro di outcome <sup>(23)</sup>. Tale test, costituendo l'evoluzione, con maggior standardizzazione, di quello precedentemente descritto su strada <sup>(20)</sup> determina la Pain Threshold Speed del paziente arteriopatico.

Anche in questo caso elementi portanti della metodica sono la bassa velocità iniziale (1,5 Km/h), incrementi molto ridotti di velocità (0,1 Km/h) al termine di brevi tratti di cammino (10m) ed il raggiungimento della massima velocità esprimibile (Vmax). Il test si è dimostrato ripetibile,

indipendente dal protocollo e correlato ad altre modalità di misurazione validate e precedentemente descritte, quali il Test dei 6 minuti di cammino e il graded treadmill test.

*La valutazione non invasiva del metabolismo muscolare e del grado di ossigenazione periferica.*

Lo studio del metabolismo muscolare può consentire l'analisi della condizione di ossigenazione muscolare durante il movimento e di determinare la capacità estrattiva da parte del muscolo. Studiare l'efficienza del muscolo nell'utilizzare l'ossigeno disponibile, può infatti rappresentare un fattore critico nella valutazione della performance del cammino del paziente e dunque della disabilità da AOP .

Tale valutazione si è resa possibile con l'avvento della spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS, Near Infrared Spectroscopy), una tecnica diagnostica in grado di misurare l'ossigenazione tissutale in maniera non invasiva ed in tempo reale. Non necessitando di un'infrastruttura speciale ed utilizzando strumentazioni portatili relativamente a basso costo, questa metodica presenta grandi potenzialità.

La NIRS utilizza un mezzo innocuo per studiare i tessuti biologici ovvero, la radiazione ottica e precisamente la banda spettrale nel vicino infrarosso (NIR, 700-950nm).

Il fotone NIR lanciato nel tessuto biologico non lo attraversa secondo un percorso rettilineo tra sorgente e rilevatore, come nel caso fotone X, bensì esegue un percorso maggiore, assimilabile ad una spezzata, più o meno complessa a seconda del numero di "eventi di scattering" a cui va incontro, che si conclude con l'assorbimento totale del fotone da parte del tessuto (evento raro nella banda spettrale NIR) o con la sua fuoriuscita dal tessuto (fotoni "trasmessi" e fotoni "riflessi"). Le sonde NIR più utilizzate hanno la sorgente rivelatrice, cioè una o più fibre ottiche che captano la radiazione luminosa fuoriuscita dal tessuto biologico dopo aver percorso un tragitto di profondità variabile e di forma paragonabile ad una "banana" ("banana shape"), dalla stessa parte della sorgente luminosa ("spettroscopia in riflettanza", a differenza della "spettroscopia in trasmissione" in cui le sorgenti rivelatrici luminose sono posizionate ai lati opposti del tessuto da studiare).

La distanza massima tra l'estremità della fibra rivelatrice e quella della fibra che emette la radiazione ottica è di solito 3,5-4 cm, permettendo ai fotoni NIR di penetrare nel tessuto biologico sottostante fino ad una profondità massima di 3-3,5 cm.

Il fotone NIR nel tessuto biologico subisce due processi principali: la diffusione (scattering) e l'assorbimento, entrambi lunghezza d'onda-dipendenti.

La diffusione, processo dominante nella banda spettrale NIR, è alla base del tipico percorso a zig-zag del fotone all'interno del tessuto, ed è quantizzata dal coefficiente di scattering ( $\mu_s$ ), misurabile con le recenti metodiche NIRS risolte nel tempo.

L'assorbimento da parte del tessuto biologico, basso nella banda spettrale NIR, è principalmente dovuto all'emoglobina e quantizzato dal coefficiente di assorbimento ( $\mu_a$ ), misurabile indipendentemente da  $\mu_s$  con le recenti metodiche NIRS risolte nel tempo <sup>(24)</sup>.

L'emoglobina ossigenata ( $HbO_2$ ) e l'emoglobina deossigenata (HHb) hanno spettri di assorbimento differenti nel NIR. Tale caratteristica permette di misurare separatamente le due forme di Hb e quindi la saturazione in ossigeno dell'Hb ( $StO_2$ ) nei tessuti studiati.

La complessità dell'interazione luce NIR - tessuto biologico è alla base del continuo evolvere delle tecnologie NIRS utilizzate in campo sperimentale e clinico.

Gli strumenti NIR presenti sul mercato e maggiormente sperimentati utilizzano tecniche basate sull'emissione di luce "in continua", ad intensità costante, in grado di ottenere misure "relative" dell'ossigenazione tissutale e quindi delle variazioni della  $StO_2$  in un certo tessuto.

La strumentazione per spettroscopia NIR risolta in tempo (dominio del tempo, o dominio delle frequenze), basata sulla emissione di luce ad intensità variabile nel tempo (nel dominio delle frequenze la radiazione ottica viene modulata sinusoidalmente in ampiezza e radiofrequenza), permette di ottenere dati che riproducono il reale stato dell'ossigenazione dei tessuti biologici indagati, mediante il dosaggio "assoluto" dell'  $HbO_2$  e Hb e quindi della  $StO_2$  <sup>(25)</sup>.

Lo spettroscopio consente la valutazione dello stato di ossigenazione e della emodinamica in corso di esercizio, impossibile con altre metodiche tradizionali. Consente inoltre misurazioni in condizioni ischemiche durante o dopo esercizio statico isometrico o dinamico ai diversi arti.

La tecnica NIRS negli ultimi anni ha consentito lo studio non invasivo del metabolismo muscolare attraverso misure semi quantitative o quantitative dinamiche o statiche.

Tra queste il consumo d'ossigeno muscolare ( $mVO_2$ ), determinabile attraverso una metodica di occlusione venosa ed arteriosa <sup>(26,27)</sup>, che potrebbe rappresentare un parametro di interesse oltre che di facile raccolta anche in un setting clinico <sup>(28)</sup>.

Usando il metodo dell'occlusione venosa,  $mVO_2$  è calcolato dalla percentuale di incremento dell'emoglobina deossigenata (HHb) <sup>(26)</sup> dal momento che l'efflusso venoso è bloccato e l'incremento di HHb è dovuto solamente al consumo di ossigeno.

Il calcolo del consumo di ossigeno ( $mVO_2$ ) con l'occlusione arteriosa, supponendo che l'emoglobina totale (tHb) rimanga costante <sup>(26)</sup>, può essere calcolato dalla percentuale di decremento dell'emoglobina ossigenata ( $O_2Hb$ ) oppure dalla percentuale di decremento di  $Hb_{diff}/2$ ; l'occlusione, determinando un blocco sia dell'efflusso che dell'afflusso isola il sangue in un compartimento dove il decremento di ossigeno dalla  $O_2Hb$  è direttamente proporzionale al consumo. Le diverse concentrazioni di HHb,  $O_2Hb$  e  $Hb_{diff}$  sono espresse in  $\mu M/sec$  e convertite in millilitri di ossigeno al minuto per 100gr di tessuto ( $mlO_2/min/100gr$ ) considerando che ciascuna

molecola di Hb è legata con quattro molecole di O<sub>2</sub>, che il volume molare del gas è di 22.4L, che il valore della densità del muscolo è di 1,04 Kg/L e assumendo condizioni STPD <sup>(29)</sup>.

Da questi valori si ricava la seguente equazione:

$$mVO_2 = (((\Delta O_2 Hb * 60) / (10 * 1,04)) * 4) * 22,4 / 1000 \quad [mlO_2 / min / 100gr]$$

dove  $\Delta O_2 Hb$  può essere sostituito da  $\Delta HHb$  o da  $\Delta Hb_{diff} / 2$ .

La metodica basata sulla occlusione venosa è stata identificata come quella più idonea a misure ripetute su pazienti, non evocando, a differenza di quella arteriosa, alcuna sintomatologia dolorosa <sup>(27, 30-32)</sup> e consentendo di determinare i valori di capacità estrattiva muscolare in soggetti sani ed in pazienti con AOP. Un recente studio condotto su un'ampia popolazione di pazienti ha evidenziato come nel portatore di AOP non vi siano limitazioni di estrazione muscolare dell'ossigeno, almeno a livello del muscolo gastrocnemio, a confronto di soggetti sani rispetto ai quali, i valori registrati nelle gambe dei pazienti, risultano leggermente più elevati e addirittura significativamente maggiori in presenza di maggiore severità di malattia, verosimilmente per la prolungata esposizione ad uno stimolo ipossico <sup>(30)</sup>. La metodica NIRS e il parametro  $mVO_2$  possono dunque divenire utili nel seguire l'outcome riabilitativo di soggetti portatori di arteriopatia periferica, anche se finora non sono stati utilizzati in tal senso.

La metodica NIRS come detto, consente inoltre di documentare le modificazioni di ossigenazione muscolare in fase dinamica. Nonostante questo rappresenti un aspetto di grande interesse per chi opera in ambito riabilitativo, non si sono sviluppati studi finalizzati ad un utilizzo di tale metodica a scopo diagnostico o in sede di outcome riabilitativo. Solo recentemente è stata proposta una metodica di valutazione funzionale oggettiva di facile riproducibilità in ambulatorio per pazienti AOP. Tale metodica di valutazione supportata dalla strumentazione NIRS, consente di quantificare il grado di deossigenazione a livello del muscolo gastrocnemio durante l'esecuzione di un protocollo incrementale <sup>(20)</sup> in un range di velocità predeterminato attraverso l'analisi dell'area sotto la curva dell'emoglobina ossigenata e differenziale. Tale analisi consente di determinare se la traccia dinamica evidenzia uno squilibrio metabolico a carico del muscolo in studio e se tale squilibrio sia compatibile con una condizione di malattia periferica o meno <sup>(28)</sup>. Tale valutazione quantitativa potrebbe risultare un prezioso dato metabolico dinamico in sede di outcome riabilitativo. Una riduzione dell'area sotto la curva dell'emoglobina ossigenata potrebbe infatti significare una più favorevole condizione emodinamica e un grado di relativa maggior ossigenazione a carico del distretto muscolare in studio.

## **La gestione del paziente**

La terapia delle arteriopatie periferiche mira a ridurre la progressione della malattia aterosclerotica generalizzata e la conseguente morbilità e mortalità cardiovascolare, attraverso il controllo della pressione arteriosa e sulla eliminazione e/o riduzione dei fattori di rischio, soprattutto fumo e ipercolesterolemia, in grado di favorire il processo aterosclerotico.

Mira inoltre ad intervenire sui sintomi specifici per migliorare capacità funzionale e qualità di vita del paziente e si propone di prevenire le complicazioni agli arti inferiori (ulcere, gangrena, amputazioni).

Il trattamento del paziente quindi, oltre a basarsi sul ricorso a misure locali (igiene dei piedi, uso di creme emollienti, calzature adeguate), prevede la somministrazione di farmaci adeguati, interventi non di tipo chirurgico e ad approcci chirurgici veri e propri.

Se gli antiaggreganti piastrinici sono in grado di provocare un rallentamento nella progressione dei processi aterosclerotici, pur senza incidere sulla tolleranza allo sforzo, la terapia farmacologica si è rivelata di scarso aiuto. Di scarsa utilità si sono dimostrati particolarmente i vasodilatatori: durante lo sforzo infatti, nelle aree distali all'ostruzione si verifica una vasodilatazione a cui segue una riduzione della pressione di perfusione a livelli talora inferiori a quelli presenti nei tessuti interstiziali durante il lavoro muscolare. La pentossifillina, un derivato della xantina, sembra sia invece in grado di ridurre la viscosità ematica aumentando la flessibilità degli eritrociti e, quindi, la perfusione a livello del microcircolo con il risultato di garantire un maggiore apporto di ossigeno ai tessuti. Tale farmaco in prove preliminari, è sembrato in grado di migliorare la tolleranza allo sforzo in pazienti con claudicatio<sup>(33-35)</sup>.

Il cilostazolo, molecola da tempo presente negli Stati Uniti e solo da poco disponibile in Italia, si è dimostrata in grado di migliorare la distanza di cammino nei pazienti con claudicatio intermittens e di ridurre la restenosi dopo intervento coronarico, ma la sua efficacia rimane non ben definita dopo terapia endovascolare per malattia femoro-poplitea<sup>(36,37)</sup>.

La terapia chirurgica: i pazienti negli stadi iniziali di malattia (il cosiddetto I° stadio della classificazione di Fontaine) non necessitano né di terapie sintomatiche mediche (se si esclude la terapia antiaggregante) né chirurgiche. In tali pazienti è invece fondamentale intervenire sui fattori di rischio. Negli stadi intermedi (II° stadio Fontaine) l'arteriopatia presenta, nella maggior parte dei casi, un'evoluzione abbastanza favorevole con esercizio, terapia medica associata ad intervento sui fattori di rischio. In una percentuale compresa tra il 25%-35% dei casi la sintomatologia invece peggiora al punto da richiedere l'intervento chirurgico. Il 5% dei pazienti, soprattutto in presenza di diabete, va incontro ad amputazione. In questo stadio, soprattutto in caso di marcata riduzione della

funzionalità e nei pazienti relativamente giovani, risulta giustificato il ricorso all'intervento chirurgico o alle tecniche di radiologia interventistica (PTA, Laser-angioplastica, atrectomia). Anche la sede delle lesioni ostruttive è importante nell'indicazione al trattamento chirurgico.

Negli stadi avanzati (III°-IV° stadio Fontaine), caratterizzati da dolore a riposo, ulcere ischemiche e gangrene e rischio di perdere l'arto, può divenire una scelta pressoché obbligata il ricorso all'intervento chirurgico di rivascolarizzazione potendo scegliere tra diverse tecniche (Tromboendarterectomia o TEA, Bypass, procedure angiologiche). Nel programmare l'intervento devono essere tenuti in conto la eventuale concomitanza di altre patologie e la polidistrettualità aterosclerotica, fattori questi in grado di aumentare il rischio operatorio.

La Sport-terapia: la proposta di introdurre l'esercizio fisico, ed in particolare il cammino, come metodo terapeutico per la claudicatio intermittens risale al 1898<sup>(38)</sup>. Da allora numerosi studi hanno evidenziato che l'esercizio fisico è un importante ed efficace metodo terapeutico per l'arteriopatia cronica ostruttiva allo stadio II° di Fontaine, con una bassissima morbilità e mortalità. L'efficacia dell'attività fisica riabilitativa basata sulla deambulazione è stata infatti dimostrata a partire dal 1966, quando il primo studio controllato e randomizzato sull'esercizio fisico in soggetti con AOP evidenziò un marcato miglioramento nella distanza percorsa. Gli obiettivi primari di questo studio e di altri successivi sono rappresentati dal tempo o distanza massimi di deambulazione e dal tempo o distanza massimi di deambulazione senza dolore, opportunamente misurati.

In una meta-analisi nel 1995<sup>(39)</sup>, Gardner e Pouehlman evidenziarono che l'incremento del tempo di marcia senza la comparsa del dolore si aggirava attorno al 180% in persone che avevano seguito un programma d'allenamento, contro il 40% dei gruppi di controllo; mentre il tempo di marcia massimale era migliorato del 130%, contro il 30% dei gruppi di controllo. La terapia basata sull'esercizio fisico richiedeva di marciare quotidianamente ad un'intensità d'esercizio inferiore alla soglia della comparsa del dolore, con l'indicazione di interrompere l'esercizio fisico ai primi sintomi (parestesie o dolore).

L'analisi degli studi riportati in letteratura evidenzia in maniera univoca che la riabilitazione mediante l'esercizio fisico è in grado di migliorare significativamente le capacità di marcia dei pazienti affetti da arteriopatie croniche ostruttive periferiche. Le più recenti linee-guida<sup>(40)</sup> riconoscono quindi che "la riabilitazione riveste un ruolo fondamentale nella terapia dell'arteriopatia al II stadio. Tuttavia questa terapia offre risultati ottimali solo se svolta sotto supervisione medica"<sup>(41-43)</sup>. Per questo "Un programma di fisioterapia (possibilmente con supervisione medica) deve essere considerato parte integrante del trattamento della claudicatio" (raccomandazione grado A, livello Ia).

E dunque, negli stadi iniziali o nei casi in cui l'intervento chirurgico risulti di difficile attuazione o di ridotto beneficio, è indubbio che la ricerca di efficaci protocolli di valutazione e di riabilitazione sia fondamentale.

Gli attuali protocolli in uso prevedono che i pazienti svolgano l'attività fisica in supervisione presso centri specializzati camminando al punto di dolore quasi massimale per più di 30 minuti per sessione, almeno tre volte alla settimana per almeno sei mesi. Tali programmi, svolti in supervisione, si sono dimostrati maggiormente efficaci sul miglioramento dell'autonomia di cammino, rispetto a programmi home-based<sup>(44,45)</sup>.

Di contro i programmi home-based, basati su semplici istruzioni riguardo l'esercizio da effettuare (es. camminare alla massima tolleranza del dolore), hanno dimostrato una elevata e prolungata aderenza all'esercizio, con bassi costi per il sistema sanitario<sup>(45)</sup>.

Relativamente ai programmi home-based risulta difficile stabilire l'intensità di esercizio trattandosi spesso di cammino libero spontaneo, che spesso viene consigliato con la modalità di raggiungere il sintomo doloroso e insistere fino a quando possibile, per poi fermarsi il tempo necessario e ripartire successivamente.

L'alternativa sviluppata e validata recentemente presso il Centro Malattie Vascolari dell'Università di Ferrara, attraverso il Programma di Riabilitazione Vascolare, prevede valutazioni funzionali seriate in ospedale ed esercizio da svolgersi a casa a velocità però prescritta e controllata con uso di metronomi (Test in-Train out, Ti-To). La velocità di esercizio a domicilio, prevede un'intensità di cammino appena al di sotto della velocità di soglia del dolore (PTS) identificata nella prova incrementale eseguita al treadmill, ed è la cosiddetta massima velocità libera da dolore (MAS)<sup>(20,46)</sup>.

Difficile peraltro identificare le modificazioni che un programma di esercizio realmente induce. Dall'analisi della letteratura, sono riportate "generiche" modifiche positive unicamente in termini di capacità di cammino (aumento del tempo di cammino) e di risposta cardiovascolare all'esercizio<sup>(47,48)</sup>.

Poche o scarse modifiche emodinamiche, quali variazioni dell'indice caviglia braccio, sono state riportate in letteratura e ridotti studi sulle modificazioni muscolari occorse sono disponibili<sup>(49)</sup>.

Del resto l'applicazione di diversi programmi di esercizio, in termini di intensità e durata delle sessioni, potrebbe avere un peso determinante sulle modificazioni inducibili in periferia.

I pazienti avviati a programmi riabilitativi home-based, vengono istruiti a camminare ad una velocità individuale generica e di insistere oltre la comparsa del dolore<sup>(14)</sup>. Nei programmi in supervisione svolti al treadmill, viene utilizzata un'intensità di esercizio tale da raggiungere il sintomo e proseguire ad un livello sottomassimale di dolore e la ripetizione di queste sessioni di

cammino in presenza di dolore si è dimostrata in grado di migliorare la tolleranza all'esercizio <sup>(14)</sup>. L'idea è che questo tipo di esercizio, che comporta una grossa quota di ischemia, potrebbe essere il più efficace nel trattamento della claudicatio e che il massimo dolore ad alta intensità può essere efficace a creare risposte di adattamento <sup>(12)</sup>. L'allenamento produce effettivamente maggior tolleranza all'esercizio nei pazienti ed è in grado di produrre miglioramenti significativi in termini di distanza di cammino <sup>(39)</sup>. Queste sessioni ad alta intensità di esercizio, non sono però seguite da adattamenti aerobici, ma piuttosto da disturbi del metabolismo ossidativo, da segnali di attivazione del metabolismo anaerobico e da denervazione del muscolo scheletrico <sup>(50)</sup>.

Un'ipotesi da inseguire, potrebbe essere quella di migliorare la capacità di produrre energia per via aerobica aumentando la concentrazione di mitocondri muscolari e la capillarizzazione nelle zone povere di ossigeno. Tali effetti si possono ottenere effettuando un esercizio specifico per tempi sufficientemente lunghi e ad intensità sottomassimali <sup>(51)</sup>.

È infatti noto che intensità di esercizio elevate, danneggiano la funzione muscolare e la capacità respiratoria dei muscoli che lavorano <sup>(52,53)</sup>, ma allo stesso tempo una bassa concentrazione di ossigeno locale risulta essere un adeguato ed indipendente stimolo per il metabolismo ossidativo <sup>(54,55)</sup>. L'allenamento dovrebbe dunque combinare l'appropriata intensità e durata adeguata di esercizio. Gli esperti di esercizio riconoscono che ad un'elevata intensità oltre la soglia anaerobica, il volume di allenamento è limitato mentre, in un esercizio svolto intorno alla soglia anaerobica la relazione intensità-risultato ottimale <sup>(56)</sup>.

Per tutte queste ragioni, il nostro gruppo ha ipotizzato che la ricerca di un indicatore del livello di intensità di allenamento appropriato per paziente arteriopatico, potrebbe rappresentare uno strumento strategico per ottimizzare la relazione intensità-durata di allenamento. L'indicatore di intensità adeguata di esercizio è stata determinata per pazienti con patologia coronarica (frequenza cardiaca), per i pazienti con patologia polmonare cronica ostruttiva (grado di dispnea) e per altre popolazioni generalmente sane come gli anziani (livello di esercizio percepito) <sup>(57-59)</sup>.

Dunque, l'identificazione di un'intensità ideale di esercizio potrebbe risultare efficace nel paziente con arteriopatía periferica e potrebbe essere utilizzata come base per sviluppare metodi di valutazione ed allenamenti riabilitativi. Il primo passo in questa direzione è stato fatto con la messa a punto di un test, inizialmente in corridoio <sup>(20)</sup> e recentemente su treadmill <sup>(60)</sup> con lo scopo di determinare la velocità critica di cammino dei pazienti AOP, denominata velocità di soglia del dolore (PTS). Questo parametro è risultato utile per definire l'esercizio aerobico sottomassimale e per valutare gli effetti derivati da tale allenamento.

L'intensità di allenamento è infatti un aspetto cruciale nei pazienti AOP dove, camminare alla normale velocità (90-120 passi/min in base all'età) può risultare un esercizio molto intenso per i

muscoli delle regioni ischemiche rendendo la locomozione energeticamente insostenibile a seguito di un ridotto afflusso di sangue, provocando così la claudicatio.

L'esercizio, effettuato ad intensità e tempi inizialmente ridotti ma progressivamente crescenti, mira a far eseguire un lavoro con scarsa attivazione del meccanismo anaerobico lattacido dei distretti a minor disponibilità di ossigeno, in assenza di dolore ed apportando adattamenti funzionali, emodinamici, cardiovascolari e metabolici tipici dell'allenamento aerobico <sup>(45,61)</sup>.

Il programma Ti-To proposto <sup>(23)</sup>, ha lo scopo di migliorare la potenza aerobica della gamba malata facendo camminare il paziente ad una velocità al di sotto della naturale velocità di deambulazione ma coerente con la disponibilità di energia consentita dal ridotto trasporto di ossigeno e/o dalla presenza di comorbidità (es. anemia, cardiopatie e miopatie). Pertanto, i punti cardine del programma Ti-To sono: valutazione del PTS, allenamento alla MAS <sup>(62,55)</sup>, la sostenibilità dell'allenamento a intensità libera da sintomi e la modalità intervallata dove il periodo di riposo serve a prevenire il progressivo accumulo di acido lattico nel muscolo ischemico. La MAS, che viene progressivamente modificata in base alle modificazioni indotte dal training, mira ad avvicinare o raggiungere la normale velocità di locomozione. I pazienti che all'inizio del programma Ti-To hanno camminato senza dolore per 2 minuti ad una velocità media di 2 km/h, dopo 6 mesi sono in grado di sostenere una sessione quotidiana di 10 minuti di cammino consecutivi in assenza di sintomi ad una velocità media di 3 km/h.

Al termine del percorso riabilitativo Ti-To i miglioramenti osservati sono simili alle variazioni medie in termini di ACD osservati dall'esecuzione di altri programmi riabilitativi (+83%) <sup>(63)</sup> anche se il confronto in termini di efficacia tra gli studi risulta difficile a causa dei diversi protocolli utilizzati, della popolazione analizzata e dell'intensità di esercizio prescritta.

A seguito del programma Ti-To sono stati inoltre evidenziati adattamenti di tipo emodinamico con l'aumento dell'indice ABI della gamba peggiore, dato da una riduzione media della pressione sistolica e da un aumento di quella misurata alla caviglia. Tali adattamenti <sup>(64)</sup>, sono stati raramente descritti a seguito di programmi in supervisione <sup>(14)</sup>, e non sono stati riscontrati in pazienti che hanno camminato liberamente ad alte intensità.

In un modello animale di claudicatio intermittens, sviluppato nei cani, l'esercizio è risultato in grado di incrementare il flusso sanguigno in periferia mediante la formazione di circoli collaterali fino a compensare l'ostruzione dell'arteria femorale <sup>(64)</sup>. Il protocollo utilizzato (es. 10 min/die di esercizio individualizzato con incrementi di intensità per un anno) ricorda quello Ti-To, dove uno stimolo adeguato per il rimodellamento vascolare potrebbe derivare da ripetute sessioni di esercizio svolte in una condizione di lieve anaerobiosi della regione ischemica, come dimostrato dalle sensazioni lievi di disagio locali al termine di ogni sessione.

E' noto che l'esercizio favorisce la produzione di ossido nitrico, un agente vasoattivo che regola il tono vascolare con effetto vasodilatatore sui vasi arteriosi, induce ipossia tissutale ed evoca variazioni di shear stress. Tali fattori sono elementi alla base dei processi neoangiogenetici e del rimodellamento vascolare indotti dall'esercizio <sup>(65-68)</sup>. Pazienti con AOP che si esercitavano in condizioni ischemiche e sub-ischemiche, hanno evidenziato un incremento dell'indice ABI, un aumento in circolo di cellule endoteliali progenitrici e la loro integrazione nelle reti endoteliali <sup>(69)</sup>.

## **SCOPO DEL LAVORO**

Riconoscere con maggiore precisione gli effetti di un programma riabilitativo risulta rilevante per individuare le caratteristiche di un programma di esercizio (intensità, durata, volume) utili a sviluppare modificazioni metaboliche ed emodinamiche, e a definire efficaci modalità di intervento basate sulla sport-terapia.

Come precedentemente riportato, in letteratura esistono però pochi studi in questo senso, dovuti alla limitazione nello studio del muscolo per l'invasività delle procedure utilizzabili (es. biopsia) <sup>(70-72)</sup>. Il presente studio, che giunge da una parte dopo ricerche relative ai metodi di valutazione e di proposizione dell'esercizio in AOP e dall'altra dopo una fase di studio relativa all'applicazione della metodica NIRS, cerca di apportare informazioni originali e rilevanti riguardo le modifiche indotte da un programma riabilitativo originale per l'arteriopatia periferica. Nello specifico, mira a documentare gli effetti emodinamici e metabolici muscolari alla base delle variazioni di performance ottenute attraverso un programma di sport-terapia condotto alla massima velocità libera da sintomi. Lo studio, che per la prima volta si avvale della metodica NIRS per tale finalità, mira inoltre a valutare se diverse risposte adattative siano osservabili nei pazienti sottoposti ad uno stesso intervento.

## **SOGGETTI E METODI**

Lo studio ha riguardato una coorte di 55 pazienti consecutivi (di cui 39 di sesso maschile) affetti da arteriopatia periferica al II stadio secondo Fontaine con claudicatio stabile da almeno sei mesi (Gruppo E), inviati al Programma di riabilitazione vascolare.

La diagnosi di arteriopatia periferica era stata preventivamente effettuata presso il reparto di Chirurgia Vascolare sulla base di tecniche diagnostiche per immagini (es. Angio-TC, Angio-RM) o di un esame Echo-Color-Doppler (ECD) (Philips iU22 Ultrasound System) mirato a valutare la presenza di lesioni dell'albero arterioso a carico dell'aorta addominale, arteria iliaca comune ed esterna, arteria femorale profonda, superficiale e comune, arteria poplitea ed entrambi gli assi tibiali.

Sono stati esclusi dallo studio i pazienti che presentavano controindicazioni o limitazioni all'esercizio (es. angina instabile, recente intervento o infarto al miocardio da meno di 6 mesi, patologie cardiache con frazione di eiezione < 30% , neoplasie con attesa di vita  $\leq$  6 mesi).

Ai fini della misurazione effettuata con metodica NIRS sono stati esclusi pazienti con marcate limitazioni riguardo la capacità di trasporto ed utilizzo dell'ossigeno (anemia severa e/o miopatia) o importante disabilità al cammino (distanza al dolore riferita < 50m) tale da pregiudicare la capacità di raggiungere la velocità prestabilita durante il test al treadmill con sensori NIRS <sup>(28)</sup>.

Sono stati inoltre esclusi durante lo studio, i pazienti che avevano attivato una nuova terapia farmacologica in grado di condizionare la risposta circolatoria, i soggetti che non sono stati in grado di portare a termine almeno il 50% delle sessioni di esercizio prescritte e chi non si è presentato alla visita di controllo entro dieci giorni dalla data prevista senza motivarne l'assenza.

Sono stati inoltre studiati 15 soggetti sani (di cui 8 di sesso maschile) inseriti come gruppo di controllo (Gruppo C). Sono stati esclusi dallo studio i soggetti affetti da patologie in grado di ridurre l'attività spontanea e, durante lo studio, chi aveva avviato programmi di training strutturato.

I soggetti, a diverso grado di attività fisica, sono stati preventivamente sottoposti a valutazione clinica ed esame ECD per escludere la presenza di ogni condizione patologica cronica.

Tutti i partecipanti allo studio, ai quali è stata richiesta l'astinenza dal fumo, hanno firmato il consenso informato ed il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico locale.

### **Misure di outcome**

Nei due gruppi in studio le misure di outcome sono state effettuate all'ingresso (T0) e a  $7\pm 2$  mesi (T9), periodo che per i pazienti con AOP corrisponde al termine del programma riabilitativo.

Le misurazioni ed i test funzionali sono stati eseguiti in ambiente a temperatura stabile ed attrezzato in caso di emergenze mediche. Ai pazienti veniva richiesto di assumere la terapia farmacologica

abituale e tutti i partecipanti allo studio erano invitati a non assumere caffeina nelle 12 ore precedenti ed evitare lavori muscolari impegnativi ed inusuali nelle 24 ore precedenti la misurazione.

### ***Valutazioni emodinamiche***

*Indice Caviglia-Braccio (ABI):* all'arrivo in ospedale, ai soggetti esaminati veniva richiesto un periodo di riposo di circa 10-15 minuti prima procedere alle misure.

L'indice ABI è stato misurato a tutti i soggetti in studio secondo le modalità standard <sup>(39)</sup> mediante l'utilizzo di un doppler acustico (Stereodop 448.S) ed un bracciale da sfigmomanometro standard.

Al paziente disteso sul lettino in posizione supina, venivano misurate la pressione sistolica a livello delle arterie tibiale posteriore e pedidia di entrambe le gambe e successivamente veniva misurata la pressione arteriosa sistemica a livello omerale con uno sfigmomanometro aneroido, dotato di un bracciale per adulti.

L'indice ABI per ogni arto è stato calcolato attraverso il rapporto tra la pressione sistolica più alta rilevata alla caviglia e la pressione sistolica riscontrata al braccio.

Le gambe di ogni paziente sono state classificate come arto peggiore o migliore in base all'indice ABI. Sono stati considerati incomprimibili i vasi in presenza di ABI maggiore di 1,40 o in caso di interruzione della procedura, per dolore nella sede del manicotto, ad una pressione di 300 mmHg pur in presenza di segnale Doppler.

In sede di outcome, i pazienti che presentavano un incremento significativo di ABI ( $\geq 10\%$ ) a carico della gamba peggiore rispetto alle misurazioni basali, sono stati classificati come "responders" al trattamento dal punto vista emodinamico (gruppo ABI+ ) ed i restanti pazienti ( $ABI < 10\%$ ) sono stati classificati come non responders (gruppo ABI-).

### ***Valutazioni metaboliche muscolari mediante spettroscopia a raggi infrarossi (NIRS)***

Per le misure effettuate con spettroscopio a raggi infrarossi NIRS, è stato utilizzato uno strumento ad onda continua (Oxymon MK III Artinis Medical System, the Netherlands) le cui caratteristiche tecniche sono riportate in tabella 1 (figura 1). Questo sistema, dotato di due canali (un canale sorgente di luce ed uno rilevatore), utilizza una luce ad intensità modulata alla frequenza di 1 MHz ed i diodi laser a tre lunghezze d'onda (905, 850, and 770 nm), corrispondenti alle lunghezze d'onda di assorbimento di ossiemoglobina ( $O_2Hb$ ) e deossiemoglobina (HHb). La luce dai diodi laser, propagandosi attraverso i tessuti biologici, viene in parte assorbita e in parte dispersa da parte dei tessuti stessi per poi essere catturata dalle fibre rilevatrici. L'intensità della quota di luce raccolta fornisce informazioni dirette riguardo la concentrazione di  $O_2Hb$  e HHb ( $[O_2Hb]$ ,  $[HHb]$ ).

Altri parametri vengono invece calcolati dai precedenti, quali l'emoglobina totale (tHb= O<sub>2</sub>Hb + HHb) e l'emoglobina differenziale (dHb= O<sub>2</sub>Hb - HHb). Tali misure sono state sempre eseguite dagli stessi operatori.

Prima di effettuare la valutazione, è stato stimato lo strato di tessuto adiposo mediante la misura delle pliche al polpaccio, nel suo punto più largo, utilizzando un plicometro (Holtain Ltd, UK), in accordo con gli standard internazionali <sup>(73)</sup>. È stata effettuata quindi la lettura in millimetri ed è stata considerata la media di tre misurazioni consecutive.

Successivamente, al soggetto, disteso sul lettino in posizione supina, venivano posizionati ed assicurati con nastro adesivo i sensori a raggi infrarossi NIRS al ventre mediale del muscolo gastrocnemio (figura 2), nello stesso punto in cui sono state misurate le pliche.

Per tutte le misure, la distanza fra gli optodi dei sensori NIRS è stata mantenuta a 4 cm consentendo una profondità massima di penetrazione della luce di circa 20 mm.

*Determinazione del consumo di ossigeno muscolare a riposo ( mVO<sub>2</sub>) con metodica dell'occlusione venosa:* Con il paziente sempre in posizione supina, veniva posizionato a livello del terzo distale di coscia, un centimetro al di sopra dell'articolazione del ginocchio, un manicotto da sfigmomanometro ( $l=79$  cm,  $h=21$  cm) con manometro (Wenzhou Bokang Medical Instruments and Health Products Co. Ltd, Wenzhou, China) (figura 2). Durante le misure NIRS, il paziente veniva invitato a rimanere in silenzio e a non effettuare contrazioni muscolari.

L'occlusione venosa veniva indotta gonfiando il manicotto ad una pressione di 60 mmHg in circa quattro secondi. Tale pressione veniva mantenuta costante per trenta secondi e successivamente, il manicotto pneumatico veniva velocemente sgonfiato. Il valore assoluto di mVO<sub>2</sub> determinato con l'occlusione venosa è stato poi calcolato analizzando il grado di incremento della [HHb] nel lasso di tempo in cui il deflusso venoso era bloccato dalla compressione <sup>(26)</sup>.

I dati raccolti ed i successivi calcoli sono stati eseguiti utilizzando il software Oxysoft 47 (Artinis Medical System, Netherland).

Il valore di consumo di ossigeno è stato successivamente calcolato attraverso la formula validata precedentemente riportata.

Le variazioni di concentrazione di HHb, originariamente espresse in micromoli per secondo (μM/s), sono state convertite in millilitri di O<sub>2</sub> per 100 grammi di tessuto per minuto (ml/100g/min) <sup>(74, 75)</sup>.

Tale misurazione è stata effettuata per ogni arto di ogni soggetto in studio.

## **Valutazioni funzionali**

*Determinazione della pain threshold speed e misura del grado di ossigenazione muscolare in un range di velocità predeterminato:* Prima di procedere all'effettuazione del test, al paziente che ancora aveva applicato al gastrocnemio di entrambe le gambe i sensori NIRS, veniva posizionata in sede precordiale una fascia con elettrodi munita di trasmettitore e al polso un cardiofrequenzimetro con memoria per la registrazione della frequenza cardiaca in continuo (Sport Tester PE3000, Polar Electro, Finland), successivamente veniva fatto salire sul treadmill (Technogym RunRace® HC1200). Prima di iniziare la prova il paziente veniva istruito a riferire immediatamente agli operatori, nel corso del test, il momento di comparsa di sintomi quali parestesie e dolore, unitamente ad intensità e sede interessata dalla sintomatologia.

La prova era preceduta da un periodo di riscaldamento della durata di un minuto ad una velocità di 1,5 km/h durante il quale il paziente poteva prendere confidenza con lo strumento. L'uso del corrimano per mantenere l'equilibrio è stato mantenuto costante durante tutti i test al treadmill.

In seguito, e dopo una sosta di pochi secondi, il test, interamente svolto in assenza di pendenza, aveva inizio alla velocità di 1,5 km/h che veniva progressivamente incrementata di 0,1 km/h ogni 10 metri. Veniva annotata la velocità corrispondente alla comparsa del dolore crampiforme (PTS) e la prova era interrotta quando il paziente non era più in grado di aumentare ulteriormente la velocità di marcia a causa del dolore ( $V_{max}$ ).

In assenza di sintomi riferiti il test veniva interrotto per stanchezza o incapacità, puramente meccanica, di mantenere il passo alla velocità imposta dal nastro trasportatore. Il test poteva inoltre essere interrotto, come previsto dal protocollo originale <sup>(20)</sup>, per la comparsa di altri sintomi (vertigini, algie precordiali) o al raggiungimento di valori di frequenza cardiaca prossimi al valore di frequenza cardiaca massima teorica precedentemente calcolata.

Il valore minimo relativo al grado di ossigenazione muscolare ( $O_2Hb$ ) al termine del test incrementale veniva letto ed annotato.

La frequenza cardiaca del soggetto veniva registrata a riposo in posizione ortostatica e durante l'esecuzione del test al termine di ogni step. Infine, è stata calcolata la differenza ( $dFc$ ) fra la frequenza registrata a 1,7 km/h e quella registrata a 3,0 km/h, utilizzata come indicatore di impegno cardiovascolare.

Allo scopo di determinare il grado di ossigenazione muscolare in fase dinamica, i dati semiquantitativi registrati con lo spettroscopio a raggi infrarossi in un range di velocità predeterminato (da 1,7 km/h a 3,0 km/h) sono stati analizzati con l'utilizzo del software Oxysoft 47 e successivamente trasferiti in un foglio di lavoro elettronico (Microsoft Excel 7.0). Dopo

normalizzazione allo zero, i dati venivano analizzati con un software statistico (Medcalc 8.0, Medcalc Software, Mariakerke, Belgium) allo scopo di calcolare l'area sotto la curva (AUC) e quantificare le variazioni relative ad ogni parametro NIRS ( $O_2Hb_{AUC}$ ,  $HHb_{AUC}$ ,  $dHb_{AUC}$ ,  $tHb_{AUC}$ ) nel periodo di analisi indicato, secondo la metodica recentemente validata<sup>(28)</sup>.

*Test a carico costante:* A venti minuti dalle valutazioni precedentemente descritte, il paziente veniva sottoposto al test classicamente utilizzato per quantificare il grado di severità della *claudicatio*. Anche in questo caso, prima di iniziare la prova, il paziente veniva informato sulla modalità di esecuzione della prova ed era invitato a riferire immediatamente il momento di comparsa del dolore, unitamente a sede ed intensità del sintomo. All'avvio il nastro veniva portato in pochi secondi ad una pendenza del 10% e ad una velocità di 3 Km/h. Tale carico veniva mantenuto costante per tutta la durata della prova. Nel momento in cui il paziente lamentava il dolore tipico da *claudicatio* venivano annotati tempo di comparsa e metri percorsi (ICD). La prova veniva interrotta quando il paziente non era più in grado di proseguire per il dolore. Anche in questo caso venivano registrati tempo di comparsa e metri percorsi (ACD).

### ***Programma riabilitativo***

I pazienti, al termine delle misurazioni effettuate nella visita di ingresso, sono stati avviati all'esecuzione di un programma di esercizio prescritto in sede e svolto a domicilio, cosiddetto *Test In - Train Out (Ti-To)*. Il programma prevedeva l'esecuzione di due sessioni giornaliere di cammino intervallato. Nel corso di ogni sessione al paziente era richiesto di camminare per 1 minuto e di riposare (seduto) per un minuto, per 10 volte consecutive, ad una velocità indicata (tabella 2).

L'intensità di esercizio prescritta risultava marcatamente inferiore alla velocità abituale di cammino e mediamente inferiore al 20-30% rispetto al PTS precedentemente determinato. Tale velocità, o massima velocità libera da sintomi (MAS), veniva convertita in frequenza di passo per consentire ai pazienti una esecuzione precisa al domicilio attraverso l'utilizzo di un metronomo per musica<sup>(23)</sup>.

Per i pazienti con handicap marcato o sfumato (es. MAS <2km/h o >3 km/h), la velocità di cammino prescritta veniva rispettivamente diminuita o aumentata di sei passi/minuto. Quando la velocità di esercizio superava i 66 passi/min, veniva consigliata l'esecuzione di un minuto di riscaldamento a 60 passi/min.

Nel corso del programma la durata di ogni sessione era mantenuta costante durante tutto il periodo di studio, mentre l'intensità di esercizio, il tempo di riposo e la lunghezza di ogni periodo di lavoro veniva progressivamente modificata come mostrato tabella 2.

L'esercizio, il cui svolgimento era richiesto due volte al giorno per sei giorni a settimana, veniva svolto solitamente in casa (es. corridoio, garage), per evitare limitazioni o influenze dovute alle condizioni climatiche. In caso di interruzione forzata del programma, i pazienti venivano istruiti a riprendere l'esercizio dalla più bassa intensità prescritta.

Ai pazienti veniva chiesto inoltre di compilare un diario giornaliero su cui annotare gli eventuali sintomi comparsi durante l'esercizio.

All'inizio del programma, ad un membro della famiglia (o un accompagnatore) era richiesto di verificare la corretta e completa esecuzione del programma prescritto e la compilazione del diario. I diari sono stati raccolti ad ogni successivo controllo (eseguiti a 1-2-4-6-9 mesi). In caso di dubbi sulle modalità di esecuzione del programma o per la richiesta di informazioni, i pazienti potevano contattare telefonicamente il team di riabilitazione per tutta la durata del programma.

Durante il periodo di studio al gruppo di controllo è stato richiesto di continuare a svolgere le normali attività quotidiane.

## **ANALISI STATISTICA**

Tutti dati sono presentati come media  $\pm$  deviazione standard.

La normale distribuzione delle variabili in studio è stata verificata attraverso il test di normalità di Kolmogorov-Smirnov. Le caratteristiche dei due gruppi in studio e quelle intra-gruppo a tempo zero (T0) ed a  $7\pm 2$  mesi (T9) sono state confrontate mediante il T-test di Student.

L'analisi ANOVA a una coda è stata effettuata per confrontare le modifiche delle misure di outcome a T0 e a T9 nei due gruppi in studio. Il grado di relazione fra gli incrementi percentuali dell'indice ABI e del parametro  $O_2Hb_{AUC}$  è stato stimato attraverso una regressione lineare e la forza dell'associazione quantificata mediante il coefficiente di correlazione di Pearson (r).

Un'analisi di regressione multipla basata su procedura di selezione di tipo stepwise è stata utilizzata per valutare quali variabili indipendenti in studio (età, BMI, ABI,  $mVO_2$ , dFc,  $O_2Hb_{AUC}$ ,  $HHb_{AUC}$ ,  $dHb_{AUC}$ ) siano associate alla performance espressa al treadmill (variabile dipendente: PTS e ACD) all'ingresso e all'uscita del programma riabilitativo proposto.

È stato considerato significativo un valore di  $p \leq 0,05$ .

L'analisi statistica è stata eseguita attraverso il pacchetto statistico Medcalc 10.4 (Medcalc Software, Mariakerke, Belgium).

## **RISULTATI**

Gruppo Esercizio (gruppo E): Nel corso del programma non si è verificato alcun evento avverso in corso di valutazione in sede ospedaliera né in corso di effettuazione dell'esercizio a domicilio. Nessun paziente ha interrotto il programma per problemi di salute occorsi in relazione allo svolgimento dell'esercizio proposto.

13 pazienti appartenenti al gruppo E non hanno completato lo studio per mancanza di interesse (n=2), mancata effettuazione di almeno il 50% del programma a causa di comorbidità intercorrenti (n=7), aggravamento del quadro e necessità di sottoporsi ad intervento chirurgico (n=3), morte (n=1).

Le caratteristiche dei 42 pazienti che hanno completato il programma riabilitativo proposto sono riportate in tabella 3. Nessuna variazione di terapia è stata riferita dai pazienti del gruppo E. Tutti i 42 pazienti del gruppo E hanno rispettato il programma di esercizio e compilato il diario di allenamento. Il tempo medio di esercizio nel periodo di osservazione, è stato di circa  $64 \pm 9$  ore e la velocità media di cammino è stata aumentata da 60 a  $84 \pm 10$  passi/min. La distanza media percorsa nell'arco di un mese di allenamento andava da 18 a 24 km, con variazione intra-individuale di circa il 25%, in base alla velocità di esercizio dei pazienti.

Gruppo controllo (gruppo C): I soggetti sani sono risultati significativamente più giovani rispetto ai pazienti in studio (rispettivamente  $38.3 \pm 15.3$  e  $70.8 \pm 6.6$   $p < 0.0001$ ). Tutti i soggetti sani reclutati (n=15) sono stati rivalutati al termine del periodo di analisi. Le caratteristiche dei 15 soggetti sani analizzati nello studio sono riportate in tabella 3. Nessuna patologia intercorrente è stata riferita dai componenti del gruppo di controllo.

I soggetti appartenenti al gruppo C, hanno continuato ad eseguire le loro normali attività durante tutto il periodo in analisi.

### **Misure di outcome nella intera popolazione in studio**

Le misure di outcome ottenute nei pazienti o per ogni gamba in studio relativamente al gruppo esercizio e controllo sono riportate in tabella 4.

#### ***Valutazioni Funzionali***

*Determinazione della pain threshold speed* Tutti i soggetti in studio hanno svolto il test incrementale al treadmill. Il valore medio del parametro PTS misurato nel gruppo E è risultato  $3,7 \pm 1,1$  km/h ed

ha evidenziato un significativo incremento a T9 (da  $3,7 \pm 1,1$  km/h a  $4,2 \pm 0,9$  km/h  $p < 0,0001$ ) (tabella 4, figura 3).

*Test a carico costante:* Per quanto riguarda il protocollo al treadmill a carico costante effettuato nel gruppo E, il valore medio di ICD ed ACD a T0 risultava rispettivamente  $94,7 \pm 52,7$ m e  $142,7 \pm 66,7$ m con un incremento a T9 rispettivamente del 80% e 30% (ICD da  $94,7 \pm 52,7$ m a  $123,6 \pm 54,8$ m ACD da  $142,7 \pm 62,7$ m a  $156,6 \pm 56,5$ m; rispettivamente  $p=0,0012$  e  $p=n.s.$ ) (tabella 4).

### ***Valutazioni emodinamiche***

*Indice caviglia-braccio (ABI):* Sono state misurate 76 gambe appartenenti al gruppo E, e 30 gambe appartenenti al gruppo C. I valori dell'indice ABI misurati a T0, sono risultati significativamente più bassi nei pazienti del gruppo E rispetto al gruppo C (rispettivamente  $0,70 \pm 0,19$  e  $1,09 \pm 0,05$ ;  $p < 0,0001$ ).

A T9, tali valori hanno evidenziato un incremento significativo unicamente nel gruppo E (da  $0,70 \pm 0,19$  a  $0,77 \pm 0,19$ ;  $p < 0,0001$ ) (figura 4).

I valori relativi a tutte le gambe dei soggetti in studio e all'arto migliore e peggiore del gruppo E sono riportate in tabella 4.

### ***Valutazioni metaboliche muscolari***

Le pliche di tessuto adiposo a livello del gastrocnemio sono state misurate in tutte le gambe dei pazienti e dei soggetti sani in studio (76 per il gruppo E, 30 per il gruppo C). I valori registrati sono risultati minori di 16mm in entrambe i gruppi. Tali valori non sono risultati significativamente differenti nelle nel gruppo E ( $9,5 \pm 3,0$  mm) rispetto al gruppo C ( $9,5 \pm 2,9$  mm).

### ***Statiche***

*Consumo di ossigeno muscolare a riposo (  $mVO_2$  ) con metodica dell'occlusione venosa:* In tutte le gambe dei soggetti in studio è stato possibile misurare il  $mVO_2$ .

Nel gruppo E il valore medio di  $mVO_2$  è risultato  $0,044 \pm 0,028$  ml/100g/min mentre nel gruppo C,  $0,038 \pm 0,015$  ml/100g/min.

I valori basali di  $mVO_2$  misurati in entrambe i gruppi in studio non sono risultati significativamente diversi fra loro. A T9, è emerso invece un notevole aumento di tale parametro unicamente nel gruppo E (da  $0,044 \pm 0,028$  ml/100g/min a  $0,057 \pm 0,032$ ;  $p=0,0011$  ml/100g/min) (figura 5).

I valori relativi a tutte le gambe dei soggetti in studio e all'arto migliore e peggiore del gruppo E sono riportate in tabella 4.

## ***Dinamiche***

*Misura del grado di ossigenazione muscolare durante l'esecuzione del test incrementale al treadmill in un range di velocità predeterminato:* Nel gruppo C non è emersa alcuna variazione significativa relativa al dFc a T9 (da  $7,5 \pm 6,8$  a  $7 \pm 5,6$   $p=n.s.$ ).

Le variazioni di ossigenazione in termini di AUC registrate con metodica NIRS, sono state misurate in tutte le gambe dei soggetti in studio.

A T0, l'AUC relativa ai parametri  $O_2Hb_{AUC}$  (rispettivamente  $-131,8 \pm 406,3$  nel gruppo E,  $308,4 \pm 267,5$  nel gruppo C;  $p<0,001$ ),  $HHb_{AUC}$  (rispettivamente  $404,7 \pm 496,2$  nel gruppo E,  $-31,4 \pm 190,7$  nel gruppo C;  $p<0,001$ )  $dHb_{AUC}$ , (rispettivamente  $-544,4 \pm 858$  nel gruppo E,  $347,7 \pm 362,8$  nel gruppo C;  $p<0,001$ ) è risultata significativamente diversa nel gruppo E rispetto al gruppo C. Per quanto riguarda invece il parametro  $tHb_{AUC}$ , i due gruppi non sono risultati diversi fra loro (rispettivamente  $246,2 \pm 412,9$  nel gruppo E,  $260,8 \pm 285,6$  nel gruppo C;  $p=n.s.$ )

Tali parametri a T9, presentano modifiche altamente significative unicamente nel gruppo E riguardo l' $O_2Hb_{AUC}$  (da  $-131,8 \pm 406,3$  a  $32,2 \pm 387,4$ ;  $p=0,0010$ ),  $HHb_{AUC}$  (da  $404,7 \pm 496$  a  $227,5 \pm 456,7$ ;  $p=0,0020$ ) e  $dHb_{AUC}$  (da  $-544,4 \pm 858$  a  $-155,9 \pm 749,4$ ;  $p=0,0001$ ) mentre, nel gruppo C, non si evidenziano variazioni rilevanti (tabella 4, figure 6, 7, 8, 9).

Il valore assoluto di massima deossigenazione ( $O_2Hb_{max}$ ) è risultato a T0 significativamente più basso nel gruppo E rispetto al gruppo C (rispettivamente  $-4,8 \pm 6,7$  e  $2,2 \pm 2,3$ ;  $p<0,001$ ) (tabella 4). In entrambe i gruppi non sono emerse variazioni significative a T9 (tabella 4).

Nel gruppo E, dalla relazione fra gli aumenti percentuali di  $O_2Hb_{AUC}$  (227%) e quelli dell'indice ABI (11%), è emersa una debole ma significativa correlazione ( $r=0,229$   $p=0,047$ ).

I valori relativi a tutte le gambe dei soggetti in studio e all'arto migliore e peggiore del gruppo E sono riportate in tabella 4.

Un esempio di modificazioni, in termini di minor deossigenazione, indotte dal programma Ti-To è rappresentato in figura 10.

## ***Impegno cardiovascolare***

L'impegno cardiovascolare identificato con il parametro dFc risultava a T0 significativamente maggiore nel gruppo E rispetto al gruppo C (rispettivamente  $12,2 \pm 7,3$  e  $7,5 \pm 6,8$ ;  $p=0,025$ ). A T9, tale parametro è risultato significativamente diminuito nel gruppo E (da  $12,2 \pm 7,3$  a  $9,6 \pm 5,7$ ;  $p=0,0293$ ) senza differenza significativa tra pazienti in terapia con beta-bloccanti ( $n=6$ ) e quelli non in terapia con beta-bloccanti ( $n=36$ ) e la differenza fra gruppi in studio, presente a T0, non risulta più significativa a T9 (tabella 4, figura 11).

### ***Relazione tra risposta funzionale e parametri emodinamici e muscolari***

Allo scopo di identificare le variabili indipendenti (età, BMI, ABI,  $mVO_2$ , dFc,  $O_2Hb_{AUC}$ ,  $HHb_{AUC}$ ,  $dHb_{AUC}$ ) associate alla performance espressa al treadmill, una regressione multipla di tipo stepwise, non ha evidenziato variabili significativamente associate ai parametri ICD e ACD ne all'ingresso ne all'uscita del programma riabilitativo proposto.

Relativamente al dato PTS, se nessuna variabile era presente all'ingresso, a T9 è emerso invece che tale parametro è risultato correlato all'indice ABI e al  $mVO_2$  ( $r^2=0,333$   $p=0,001$ ) (tabella 5).

### ***Adattamenti emodinamici e metabolici muscolari nei pazienti AOP in studio***

Considerando le gambe peggiori dei pazienti in studio e valutando la risposta emodinamica relativa, sono stati identificati due gruppi di pazienti, a risposta emodinamica favorevole (gruppo ABI+  $n=27$ ) e a risposta emodinamica assente (Gruppo ABI-  $n=15$ ).

A fronte di un incremento funzionale non significativamente diverso, il gruppo ABI- ha evidenziato variazioni di  $mVO_2$  significativamente superiore ( $p=0.0037$ ) al gruppo ABI+, con incremento circa 5 volte superiore al termine del programma (figure 12, 13, 14).

I dati funzionali, emodinamici metabolici muscolari e di impegno cardiovascolare sono riportati in tabella 6.

## DISCUSSIONE

Lo studio presentato, utilizza per la prima volta la tecnica NIRS in sede di *outcome* per identificare in maniera non invasiva le modificazioni metaboliche periferiche associate a variazioni di performance indotte da un programma di riabilitazione nel paziente con arteriopatia periferica negli stadi intermedi di malattia. La necessità del paziente con AOP è di soddisfare, durante il cammino, il fabbisogno energetico dei distretti ipossici a causa delle lesioni vascolari a monte che riducono il flusso ematico <sup>(176)</sup>. Per risolvere questo problema, vengono messi in atto interventi invasivi che mirano a ristabilire il flusso nel muscolo ischemico o ricercati e proposti agenti vasoattivi o metabolici come la carnitina.

Un risultato più completo è però teoricamente ottenibile con l'esercizio, trattamento ritenuto efficace in AOP <sup>(77)</sup>, anche se le modificazioni indotte dall'allenamento non sono state sempre adeguatamente documentate.

Precedenti studi effettuati con l'utilizzo della biopsia muscolare, hanno evidenziato un significativo incremento dei livelli di enzimi ossidativi, nei muscoli di pazienti con AOP, al termine di un programma di esercizio <sup>(67-69)</sup>. Studi successivi hanno poi specificato che i maggiori effetti sul metabolismo ossidativo, sono evidenziati a seguito di un allenamento in grado di causare una lieve condizione ischemica a livello dei muscoli del polpaccio <sup>(50)</sup>. Inoltre, è stata sottolineata una maggiore attività dell'enzima ossidativo citocromo ossidasi, che riveste un ruolo fondamentale nei meccanismi di produzione di energia per via aerobica, nei pazienti avviati unicamente a riabilitazione rispetto sia ai soggetti sottoposti ad intervento chirurgico vascolare che in quelli in cui è stata abbinata la chirurgia all'esercizio <sup>(78)</sup>.

L'esercizio nei soggetti AOP viene normalmente proposto in supervisione presso centri specializzati, sotto forma di ripetute sessioni di cammino ad un livello di dolore tale da aumentare la tolleranza all'esercizio e la sopportazione del dolore ottenendo sedute di cammino progressivamente più lunghe.

A fronte di una efficacia sulla *exercise capacity*, lo studio delle modificazioni istologiche successive ad un tale esercizio non ha però evidenziato nei pazienti lo sviluppo di enzimi aerobici ma anzi, un aumento degli enzimi anaerobici unitamente a segni di danno muscolare <sup>(50)</sup>.

Nel paziente AOP, identificare con precisione l'intensità ed i tempi di allenamento ideali risulterebbe quindi un fattore molto rilevante.

Il programma da noi proposto è stato sviluppato sulla base delle informazioni ricavate dalla fisiologia dell'esercizio e utilizzate nell'allenamento sportivo. Modificazioni simili nella capacità respiratoria del muscolo sono principalmente ottenibili attraverso un training aerobico a particolari e

precise intensità di lavoro <sup>(51,79,80)</sup>. Facendo riferimento al tipo di approccio all'allenamento utilizzato negli sport di endurance, risulta che la performance nella corsa è strettamente correlata alla velocità a cui si accumula una concentrazione di lattato ematico di 4 mmol/L <sup>(81)</sup>. A seconda quindi della potenza aerobica individuale il maratoneta adatta il proprio passo di gara ad una velocità inferiore, corrispondente al maggior consumo di ossigeno possibile prima dell'aumento esponenziale del lattato. Tale intensità, il cosiddetto "maximal steady-state running pace" per vari eventi tende ad aggirarsi su un livello di lattato ematico pari a 2 mmol/L <sup>(82,83)</sup>.

Su tali basi si fonda il programma utilizzato in questo studio, che utilizza un sistema di valutazione basato sulla definizione della PTS individuale <sup>(20)</sup> e sulla prescrizione individualizzata di una precisa intensità di esercizio sottomassimale per le capacità muscolari locali del paziente e dunque inferiore alla soglia del dolore, la cosiddetta maximal asymptomatic speed (MAS). L'ipotesi iniziale era che esercitando a tale velocità la gamba peggiore, precocemente esposta a condizione ipossica, avremmo potuto fornire in tale sede uno stimolo adeguato senza provocare massiva produzione di lattato e sintomatologia dolorosa. <sup>(47)</sup>.

Procedendo con lo sviluppo e l'applicazione del programma, grazie alla metodica NIRS abbiamo osservato che già a velocità di spostamento minime a carico della gamba peggiore e già nell'arco del primo minuto di esercizio, si assisteva ad una marcata deossigenazione a carico del gastrocnemio. Abbiamo quindi costruito un programma di lavoro intervallato inizialmente a bassissima velocità di cammino, con rapporto tra lavoro e recupero pari a 1:1 per evitare un accumulo di acido lattico eccessivo e limitante la contrazione muscolare. È stata confezionata una tabella di lavoro standard settimanale con progressivi incrementi della frequenza di passo per elevare lo "steady state walking pace" del paziente e solo successivamente abbiamo provveduto ad aumentare i tempi di lavoro rispetto a quelli di recupero, per adattare il paziente alla performance del cammino libero <sup>(23)</sup>.

Serviva ancora un elemento e cioè il tempo necessario per evocare gli adattamenti aerobici, (enzimi aerobici, capillarizzazione), che come noto si ottengono fra i 3 ed i 12 mesi di allenamento con un picco a 18 mesi per quanto riguarda gli enzimi del ciclo di Krebs <sup>(84)</sup>. Il programma dunque doveva "trattenere" e motivare il paziente per un periodo di tempo adeguato.

A questo punto vi erano, a nostro avviso, le condizioni teoriche per riuscire ad ottenere quello che gli allenatori inducono negli atleti, ovvero modificazioni aerobiche periferiche spiccate.

Non avevamo però, i mezzi non-invasivi per valutare il reale effetto di questo nuovo approccio di sport-terapia. Potevamo solo limitarci ad osservare incrementi significativi della capacità funzionale, risultata maggiore rispetto a quella di pazienti non allenati o che camminavano liberamente, e di pazienti allenati con programmi home-based tradizionali <sup>(20)</sup>.

Contestualmente, ed a differenza di quanto riportato in letteratura<sup>(77)</sup> avevamo però ripetutamente osservato favorevoli adattamenti emodinamici, con riduzione della pressione arteriosa e incremento della pressione alla caviglia e conseguenti variazioni favorevoli di ABI<sup>(47,23)</sup>. Dal momento però che tali modificazioni non si evidenziavano in tutti i soggetti nonostante il miglioramento di funzione pressoché generalizzato, abbiamo ipotizzato che lo studio degli adattamenti muscolari avrebbe potuto fornirci una chiave di lettura.

Abbiamo quindi avviato lo studio con spettroscopia a raggi infrarossi del gastrocnemio trattandosi di un muscolo distale alla gran parte delle lesioni, necessario nel cammino ed in grado di consentire un facile posizionamento dei sensori NIRS. Sono poi state effettuate esperienze per ricercare e mettere a punto una metodica dinamica quantitativa in grado di quantificare con precisione il grado di squilibrio nella condizione di ossigenazione muscolare durante il cammino in un range di velocità predeterminato<sup>(28)</sup> e siamo poi passati a studiare e valorizzare una metodica statica già validata quale il consumo di ossigeno muscolare ( $mVO_2$ ) con metodica NIRS<sup>(27)</sup>. Se, come da noi osservato nei pazienti AOP<sup>(30)</sup>, modificazioni di tale parametro erano evidenziabili in condizioni di maggior severità di malattia, verosimilmente per stimolo ipossico, abbiamo ipotizzato che adattamenti potessero essere documentati anche a seguito di un programma di training, se in grado di risultare adeguatamente stimolante. Il parametro  $mVO_2$  poteva quindi diventare decisivo per lo studio della capacità estrattiva di ossigeno in sede di *outcome* riabilitativo<sup>(30)</sup>.

Lo studio ha quindi utilizzato i parametri statici e dinamici ottenuti con metodica NIRS per documentare che le variazioni positive di performance in termini di PTS della popolazione AOP in esame, dimostrati al termine di un programma di esercizio eseguito a velocità inferiore alla soglia del dolore, sono sostenuti da una favorevole nuova condizione metabolica e non sono riconducibili ad una semplice maggiore sopportazione del dolore. Tale condizione è caratterizzata da un incremento non generalizzato del flusso periferico (ABI) e da un miglioramento della capacità di estrarre e di utilizzare l'ossigeno a livello del gastrocnemio sia a riposo che in condizioni dinamiche con riduzione delle aree negative di  $O_2Hb_{AUC}$ .

A fronte di tale incremento di efficienza nell'utilizzo dell'ossigeno, si evidenziava una minor richiesta di trasferimento dello stesso, con una riduzione del 25% del carico cardiocircolatorio inteso come numero di battiti al minuto necessari per raggiungere una velocità predeterminata<sup>(28)</sup>. Al termine del programma inoltre, tale "carico" non risulta più statisticamente diverso da quello misurato nella popolazione sana di controllo.

Il secondo aspetto rilevante dello studio è la capacità di documentare diversi adattamenti a seguito dello stesso stimolo allenante all'interno di una popolazione di pazienti.

La possibilità di ottenere modificazioni emodinamiche nei pazienti AOP attraverso l'esercizio è di grande rilevanza ma discusso. In un precedente studio, avevamo osservato che solo nel gruppo Ti-To a confronto con un gruppo di esercizio home-based al dolore, si evidenziavano modificazioni superiori o pari al 10% a livello della pressione più bassa rilevata alla caviglia, in un terzo dei pazienti si evidenziava un analogo incremento dell'ABI, ed in parte di questi si osservava al doppler uno sviluppo di circoli collaterali <sup>(23)</sup>.

Nel presente studio abbiamo quindi preso in esame per ogni paziente la gamba peggiore dal punto di vista emodinamico. Tali gambe, che risultano potenzialmente limitanti la performance in quanto esposte a precoce ipossia, sono quelle su cui viene tarata la velocità di cammino nel programma.

Abbiamo quindi suddiviso i pazienti in due gruppi in base agli incrementi di ABI registrati al termine del programma nella gamba peggiore, per vedere l'interrelazione tra fattori adattativi potenzialmente coinvolti nella performance. I due gruppi di pazienti così identificati non sono risultati diversi tra loro per presenza di fattori potenzialmente sfavorevoli la risposta emodinamica (diabete, cardiopatia, pregressi interventi o tipo e sede di lesione vascolare) ed a 9 mesi, hanno raggiunto uno stesso livello di PTS medio. A T9 il gruppo ABI+ presentava un incremento notevole dell'indice caviglia-braccio (+25%), e quindi della disponibilità di ossigeno periferico, a differenza del gruppo ABI- dove non è emerso alcun aumento di ABI. In quest'ultimo gruppo però si è evidenziato un'importante incremento del  $mVO_2$  (+145%) e quindi della capacità estrattiva del muscolo rispetto al gruppo ABI+.

Dunque in un gruppo (ABI+), la condizione di lieve anaerobiosi della regione ischemica come quella indotta dal programma Ti-To ha indotto modificazioni emodinamiche verosimilmente favorite dall'azione dell'ossido nitrico <sup>(65-68)</sup>.

Diversi sono gli studi in merito, in uno effettuato su uomini sani adulti, emerge che l'esercizio a intensità sottomassimale, arriva a produrre un rimodellamento dell'arteria femorale <sup>(76)</sup>, mentre a seguito di esercizio ischemico e sub-ischemimico si sono documentati incrementi di valori di ABI e aumento delle cellule endoteliali progenitrici circolanti nei soggetti arteriopatici <sup>(69)</sup>. Infine, a seguito di un programma con le medesime caratteristiche del programma Ti-To in pazienti con insufficienza renale in emodialisi, si sono osservati a sei mesi aumenti delle colonie formate dalle cellule endoteliali progenitrici <sup>(84)</sup>.

Nel nostro gruppo ABI+, tale situazione è risultata accompagnata e confermata a nove mesi da una minor condizione di deossigenazione nell'affrontare un esercizio da 1,7 a 3 km/h, sia in termini di area sotto la curva che in valore assoluto, indicando una maggiore disponibilità di emoglobina carica di ossigeno da possibile neoformazione di collaterali che ha consentito di ottenere simili incrementi di performance.

Se dunque nei programmi riabilitativi l'aumento di ABI pur statisticamente significativo può risultare clinicamente poco rilevante come giustamente osservato <sup>(85)</sup>, in questo caso si dimostra che al di là del valore medio, in alcuni pazienti questo può corrispondere ad una nuova favorevole condizione emodinamica indotta dall'esercizio.

L'altro importante fattore è che il gruppo ABI- ha invece messo in atto un sistema compensatorio, ovvero l'incremento dell'estrazione muscolare periferica ( $mVO_2$ ), dimostrazione della plasticità dei sistemi periferici di trasporto ed utilizzo dell'ossigeno.

Come terzo elemento di discussione va confermata la possibilità di utilizzare la metodica NIRS per lo studio delle modificazioni del metabolismo muscolare anche in sede di *outcome*, dal momento che i valori registrati in soggetti sani attivi, a distanza di nove mesi risulta invariata a differenza dei pazienti che hanno portato a termine il programma proposto.

Tale aspetto metodologico può pertanto risultare utile nello studio di varie patologie croniche così come per valutare effetti di interventi e farmaci vasoattivi.

Il lavoro, oltre a presentare le limitazioni derivanti dalla metodica NIRS (limitata regione di valutazione del muscolo, variabilità del posizionamento delle sonda, pliche di tessuto adiposo nella zona di studio) e la variabilità dei risultati, fattori precedentemente discussi <sup>(30)</sup>, presenta importanti limitazioni. Gli operatori non erano ciechi rispetto ai risultati ottenuti con la metodica NIRS, anche se i dati strumentali oggettivi non sono modificabili dagli operatori.

Importante limitazione è rappresentata dal gruppo di controllo, limitato per il numero e costituito da soggetti sani. Il senso principale era però definire se condizioni di vita normali e attività fisica non strutturata potessero essere responsabili di modificazioni del pattern muscolare metabolico.

In conclusione, l'esercizio Ti-To, nei pazienti AOP, apporta miglioramenti funzionali attraverso l'induzione di adattamenti periferici che possono risultare prevalentemente di tipo emodinamico o muscolare con diversa combinazione e con un equilibrio tra i fattori. Il risultato che ne deriva è una migliore risposta funzionale e un minor impegno dell'apparato cardiovascolare di tipo compensatorio.

Studi futuri potranno da una parte confermare questi dati preliminari e dall'altra aiutare a capire se fattori genetici o di altra natura siano alla base della capacità di sviluppare modificazioni emodinamiche da parte dei pazienti sottoposti a training riabilitativo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Leng GC, Fowkes FGR. The epidemiology of peripheral arterial disease. *Vascular Medicine Review* 1993; 4:5-18.
2. Fowkes FGR. Epidemiology of atherosclerotic arterial disease in the lower limbs. *Eur J Vasc Surg* 1988; 2:283-9.
3. Criqui MH, Fronek A, Barrett-Connor E, Klauber MR, Gabriel S, Goodman D. The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation* 1985;71: 510-51.
4. Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey,1999-2000. *Circulation* 2004;110:738-43.
5. Kannel WB, Skinner JJ, Schwartz MJ, et al. Intermittent claudication: incidence in the Framingham study. *Circ J* 41:875-883,1970
6. Montron A, Guignard E, Pelc A, Comte S. Peripheral arterial obliterative disease. Cost of illness in France. *Pharmacoeconomics* 1998; 13(1 Pt 1): 51-9.
7. Migliaccio-Walle K, Caro JJ, Ishak KJ, O'Brien JA. Costs and medical care consequences associated with the diagnosis of peripheral arterial disease. *Pharmacoeconomics* 2005;23:733-42
8. Dormandy J, Heeck L, Vig s. Predicting which patients will develop chronic critical leg ischemia. Review. *Semin Vasc Surg* 1999 Jun;12(2):138-41.
9. Bloor K. Natural history of arteriosclerosis of the lower extremities. *Ann R Coll Surg Engl* 28:36-51, 1961.
10. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MH, Harris KA, Fowkes FGR on behalf of the TASC II Working Group. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33: S1-S75.

11. Tierney S et al. ABC of arterial and vascular disease. Secondary prevention of peripheral vascular disease. *BMJ* 2000;320:1262-5.
12. Hiatt WR. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 2001;344:1608-21.
13. Andreozzi GM. Diagnostica strumentale delle arteriopatie obliteranti periferiche. Quali esami, quando, perché. In: Allegra C, Andreozzi GM, Cocchieri S, Di Perri T. Management del paziente arteriopatico. *Excerpta Medica* 2000; 67-114.
14. Regensteiner JG, Gardner A, Hiatt WR. Exercise testing and exercise rehabilitation for patients with peripheral arterial disease: status in 1997. *Vasc Med* 1997;2:147-55.
15. Hiatt WR, Hirsch AT, Regensteiner JG, Brass EP. Clinical Trials for Claudication. Assessment of exercise performance, functional status, and clinical end points. *Vascular Clinical Trialists. Circulation* 1995;92:614-21.
16. Enright PL. The six-minute walk test. *Respir Care* 2003;48: 783-5.
17. Montgomery PS, Gardner AW. The clinical utility of a six minute walking test in peripheral arterial occlusive disease patients. *J Am Geriatric Soc*, 1998; 46(6): 706-711.
18. Cahalin LP, Mathier MA, Semigran MJ, *et al*: The six-minute walk test predicts peak oxygen uptake and survival in patients with advanced heart failure. *Chest* 110:325-332, 1996.
19. Enright PL, Sherrill DL: Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 158:1384-1387, 1998.
20. Manfredini F, Mangolini C, Mascoli F, Mazzoni G, Taddia MC, Manfredini R, Conconi F. An incremental test to identify the pain threshold speed in patients with intermittent claudication. *Circ J* 2002; 66:1124-27.

21. Cachovan M, Rogatti W, Creutzig A, Diehm C, Heidrich H, Scheffler P, Woltering F. Treadmill testing for evaluation of claudication: comparison of constant-load and graded exercise tests. *Eur J Endovasc Surg*, 1997; 14(4): 238-243.
22. Gardner A, Skinner J, Cantwell B, Smith K. Progressive vs. single stage treadmill tests for evaluation of claudication. *Med Sci Sports Exerc*. 1991; 23: 402-408.
23. Manfredini F, Malagoni AM, Mascoli F, Mandini S, Taddia MC, Basaglia N, Manfredini R, Conconi F, Zamboni P. Training rather than walking: the test in -train out program for home-based rehabilitation in peripheral arteriopathy. *Circ J*. 2008 Jun;72(6):946-52.
24. Fantini S., M.A. Franceschini, J.B. Fishkin, B. Barbieri, E. Gratton, Quantitative Determination of the Absorption Spectra of Chromophores in Strongly Scattering Media: a Light-Emitting-Diode Based Technique, *Appl. Opt.* 1994; 33: 5204-5213.
25. Gratton E., W.W. Mantulin, M.J. Vande Ven, J.B. Fishkin, M.B. Maris, B.Chance, The Possibility of a Near-Infrared Optical Imaging System Using Frequency-Domain Methods, *Science* 1990:183-189.
26. De Blasi RA, Almenrader N, Aurisicchio P, and Ferrari M. Comparison of two methods of measuring forearm oxygen consumption( $\dot{V} O_2$ ) by near infrared spectroscopy. *J Biomed Optics*2: 171–173, 1997.
27. De Blasi RA, Cope M, Elwell C, Safoue F, and Ferrari M. Noninvasive measurement of human forearm oxygen consumption by near infrared spectroscopy. *Eur J Appl Physiol* 67: 20–25,1993
28. Manfredini F, Malagoni AM, Felisatti M, Mandini S, Mascoli F, Manfredini R, Basaglia N, Zamboni P. A dynamic objective evaluation of peripheral arterial disease by Near-Infrared Spectroscopy. *Eur J Vasc Surg*. 2009.
29. Vierordt H. Anatomische, Physiologische und Physikalische Daten und Tabellen. 1906. Jena, Gustav Fisscher.

30. Malagoni AM, Felisatti M, Mandini S, Mascoli F, Manfredini R, Basaglia N, Zamboni P, Manfredini F. Resting muscle oxygen consumption by near-infrared spectroscopy in peripheral arterial disease: a parameter to be considered in a clinical setting? *Angiology* 2010 in press.
31. Homma S, Eda H, Ogasawara S, Kagaya A: Near-infrared estimation of O<sub>2</sub> supply and consumption in forearm muscles working at varying intensity. *J Appl Physiol* 80:1279-1284, 1996.
32. Wolf U, Wolf M, Choi JH, et al: Localized irregularities in hemoglobin flow and oxygenation in calf muscle in patients with peripheral vascular disease detected with near-infrared spectrophotometry. *J Vasc Surg* 37:1017-1026, 2003.
33. Porter JM, Cutler BS, Lee BY, et al: Pentoxifylline efficacy in the treatment of intermittent claudication: Multicenter controlled double-blind trial with objective assessment of chronic occlusive arterial disease patients. *Am Heart J* 104:66-72, 1982.
34. Reich T, Gillings D. Effects of pentoxifylline on severe intermittent claudication. *Angiology* 38:651-656, 1987.
35. DeSanctis MT, Cesarone MR, Belcaro G, et al. Treatment of long-distance intermittent claudication with pentoxifylline; A 12-month, randomized trial. *Angiology* 53 (suppl):S13-S17, 2002.
36. Dawson DL, Cutler BS, Meissner MH, et al. Cilostazol has beneficial effects in treatment of intermittent claudication: Results from a multicenter, randomized, prospective, double-blind trial. *Circ J* 98:678-686, 1998.
37. Money SR, Herd JA, Isaacsohn JL, et al. Effect of cilostazol on walking distances in patients with intermittent claudication caused by peripheral vascular disease. *J Vasc Surg* 27:267-275, 1998.
38. Erb W. Über das "intermittierende Hinken" und andere nervöse Störungen in Folge von Gefäßerkrankungen. *Dtsch Z Nervenheilkunde* 1898; 13 :1-76.

39. Gardner AW, Pohelman ET. Exercise rehabilitation programs for the treatment of claudication pain. A meta-analysis. *JAMA* 1995; 274: 975-80.
40. Regensteiner JG, Wolfel EE, Brass EP, Carry MR, Ringel SP, Hargarten ME, Stamm ER, Hiatt WR. Chronic changes in skeletal muscle histology and function in peripheral arterial disease. *Circulation* 1993; 87(2): 413-421.
41. Creasy TS, McMillan PJ, Fletscher EWL, Colin J, Morris PJ. Is percutaneous transluminal angioplasty better than exercise for claudication? Preliminary results from a prospective randomized trial. *Eur J Vasc Surg* 1990; 4:134-140.
42. Regensteiner JG, Steiner JF, Hiatt WR: Evaluation of walking impairment by questionnaire in patients with peripheral arterial disease. *J Vasc Med Biol* 1990 (2): 142-52.
43. Rose GA. The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. *Bull WHO* 1962; 27: 645-58.
44. Wind J, Koelemay MJW. Exercise therapy and the additional effect of supervision on exercise therapy in patients with intermittent claudication: Systematic review of randomized controlled trials. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 34: 1–9.
45. AshworthNL, Chad KE, Harrison EL, Reeder BA, Marshall SC. Home- versus center-based physical activity programs in older adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 25: CD004017.
46. Manfredini F, Conconi F, Malagoni AM, Manfredini R, Basaglia N, Mascoli F, et al. Training guided by Pain Threshold Speed: Effects of a home-based program on claudication. *Int Angiol* 2004; 23: 379–387.
47. Crowther RG, Spinks WL, Leicht AS, Sangla K, Quigley F, Golledge J. Effects of a long-term exercise program on lower limb mobility, physiological responses, walking performance, and physical activity levels in patients with peripheral arterial disease. *J.Vasc.Surg.* 2008 Feb;47(2):303-9.

48. Hodges LD, Sandercock GR, Das SK, Brodie DA . Randomized controlled trial of supervised exercise to evaluate changes in cardiac function in patients with peripheral atherosclerotic disease. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2008 Jan;28(1):32-7. Epub 2007 Nov 14.
49. Stewart KJ, Hiatt WR, Regensteiner JG, Hirsch AT. Exercise training for claudication. *N Engl J Med* 2002; 347: 1941– 1951.
50. Hiatt WR, Regensteiner JG, Wolfel EE, Carry MR, Brass EP. Effect of exercise training on skeletal muscle histology and metabolism in peripheral arterial disease. *J Appl Physiol* 1996;81:780-8.
51. Henriksson J, Hickner RC. Adaptations in skeletal muscle in response to endurance training. In: Harries M, Williams C, Stanish WD, Micheli LJ, editors. *Oxford textbook of sports medicine*. New York: Oxford University Press; 1998.p.48-52.
52. Hermansen L. Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise. *Ciba Found Symp* 1981;82:75-88.
53. Gollnick PD, Bertocci LA, Kelso TB, Witt EH, Hodgson DR. The effect of high-intensity exercise on the respiratory capacity of skeletal muscle. *Pflugers Arch* 1990;415:407-13.
54. Kaijser L, Sundberg CJ, Eiken O, Nygren A, Esbjornsson M, Sylven C *et al*. Muscle oxydative capacity and work performance after training under local leg ischemia. *J Appl Physiol* 1990;69:785-7.
55. Bylund-Fellenius AC, Walker PM, Elander A, Holm S, Holm J, Schersten T. Energy metabolism in relation to oxygen partial pressure in human skeletal muscle during exercise. *Biochem J* 1981;200:247-55.
56. Foster C, Schrage M, Snyder AC. Blood lactate and respiratory measurement of the capacity for sustained exercise. In: Maud PJ, Foster C, editors. *Physiological assessment of human fitness*. Champagne (IL): Human Kinetics; 1995.p57-72.

57. Nieuwland W, Berkhuisen MA, Van Veldhuisen DJ, Rispens P. Individual assessment of intensity-level for exercise training in patients with coronary artery disease is necessary. *Int J Cardiol* 2002;84:15-21.
58. Horowitz MB, Littenberg B, Mahler DA. Dyspnea ratings for prescribing exercise intensity in patients with COPD. *Chest* 1996;109:1169-75.
59. Dishman RK. Prescribing exercise intensity for healthy adults using perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26:1087-94.
60. Manfredini F, Conconi F, Malagoni AM, Manfredini R, Mascoli F, Liboni A *et al.* Speed rather than distance: a novel graded treadmill test to assess claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;28:303-9.
61. Barak S, Stopka CB, Archer Martinez C, Carmeli E. Benefits of low-intensity pain-free treadmill exercise on functional capacity of individuals presenting with intermittent claudication due to peripheral arterial disease. *Angiology*. 2009 Aug-Sep;60(4):477-86. Epub 2008 Sep 25.
62. Belman MJ, Gaesser GA. Exercise training below and above the lactate threshold in the elderly. *Med Sci Sports Exerc* 1991; 23: 562–568.
63. Watson CJ, Phillips D, Hands L, Collin J. Claudication distance is poorly estimated and inappropriately measured. *Br J Surg* 1997; 84:1107– 1109.
64. Weiss T, Fujita Y, Kreimeier U, Messmer K. Effect of intensive walking exercise on skeletal muscle blood flow in intermittent claudication. *Angiology* 1992; 43: 63 – 71.
65. Green DJ, Maiorana A, O’Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol* 2004; 561: 1–25.

66. Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* 2004; 97: 1119– 1128.
67. Rehman J. Can angiogenesis be exercised? *EXS* 2005; 94: 155–161.
68. Kojda G, Hambrecht R. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise: Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovasc Res* 2005; 67: 187 – 197.
69. Sandri M, Adams V, Gielen S, Linke A, Lenk K, Krankel N, et al. Effects of exercise and ischemia on mobilization and functional activation of blood-derived progenitor cells in patients with ischemic syndromes: Results of 3 randomized studies. *Circulation* 2005; 111: 3391– 3399.
70. Lundgren F, Dahllof AG, Lundholm K, Schersten T, Volkmann R. Intermittent claudication-surgical reconstruction or physical training? A prospective randomized trial for treatment efficiency. *Ann Surg* 1989;209:346-55.
71. Holm J, Dahloff AG, Bjorntorp B, Schersten T. Enzyme studies in muscle of patients with intermittent claudication, Effect of training. *Scand J Clin Lab Invest* 1973;31(Suppl 128):201-5.
72. Tan KH, De Cossart L, Edwards PR. Exercise training and peripheral vascular disease. *Br J Surg*. 2000 May;87(5):553-62. Review
73. Marfell-Jones, M., Olds, T., Stewart, A. and Carter, L., International standards for anthropometric assessment (2006). ISAK: Potchefstroom, South Africa.
74. Van Beekvelt MC, Colier WN, Wevers RA, Van Engelen BG: Performance of near-infrared spectroscopy in measuring local O<sub>2</sub> consumption and blood flow in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 90:511-519, 2001.
75. Vierordt H: Anatomische, Physiologische und Physikalische Daten und Tabellen. Jena, Germany: Gustav Fisscher, 1906.

76. Dinunno FA, Tanaka H, Monahan KD, Clevenger CM, Eskurza I, DeSouza CA et al. Regular endurance exercise induces expansive arterial remodelling in the trained limbs of healthy men. *J Physiol* 2001;534(Pt 1):287-95.
77. Stewart AHR, Lamont PM. Exercise for intermittent claudication. Supervised programmes should be universally available. *BMJ* 2001;323:703-4.
78. Lundgren F, Dahllöf AG, Scherstén T, Bylund-Fellenius AC. Muscle enzyme adaptation in patients with peripheral arterial insufficiency: spontaneous adaptation, effect of different treatments and consequences on walking performance. *Clin Sci (Lond)*. 1989 Nov;77(5):485-93.
79. Svedenhag J, Henriksson J, Sylven C. Dissociation of training effects on skeletal muscle mitochondrial enzymes and myoglobin in man. *Acta Physiol Scand* 1983;117:213-8.
80. Sjodin B, Jacobs I, Svedenhag J. Changes in onset of blood lactate accumulation (OBLA) and muscle enzymes after training at OBLA. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1982;49:45-57.
81. Farrell PA, Wilmore JH, Coyle EF, Billing JE, Costill DL. Plasma lactate accumulation and distance running performance. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;556:83-91.
82. Sjodin B, Jacobs I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int J Sports Med* 1981;2:23-6.
83. LaFontaine TP, Londeree BR, Spath WK. The maximal steady state *versus* selected running events. *Med Sci Sports Exerc* 1981;13:190-3.
84. Saltin B, Henriksson J, Nygaard E, Andersen P, Jansson E. Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Ann N Y Acad Sci*. 1977;301:3-29.

85. Malagoni AM, Catizone L, Mandini S, Soffritti S, Manfredini R, Boari B, Russo G, Basaglia N, Zamboni P, Manfredini F. Acute and long-term effects of an exercise program for dialysis patients prescribed in hospital and performed at home. *J Nephrol.* 2008 Nov-Dec;21(6):871-8.
86. Andreozzi GM, Leone A, Martini R, Laudani R, Salimistraro G, Deinite G. Effectiveness and costs of a short-course supervised training program in claudicants: proposal for a shared protocol with aerobic working load. *Int Angiol.* 2008 Oct;27(5):401-7.

## TABELLE

**Tabella 1.** Caratteristiche tecniche dello strumento utilizzato Oxymon Nirs MK III

Tecnologia	Onda continua NIRS
Misure	Variazioni muscolari locali dell'emoglobina ossigenata e deossiemoglobina (metodo SRS)
PC	Comunica con PC tramite porta USB
Banda di frequenza	Compresa tra 1 e 48, dipende dalla configurazione.
Sorgente luminosa	Diodi laser (Fig.8)
Lunghezza d'onda	775 e 850nm (standard),fino a 8 possibili variazioni di lunghezza d'onda
Tempo di campionamento	50Hz per 30 secondi ( o in alternativa 200Hz)
Input esterni	Forniti fino a 8 input supplementari a 50Hz
Potenza	Auto-rilevamento 110-240V (circa 40watt)
Ambiente	Funzionamento ad una temperatura di circa 15-27°C, altitudine 0-5750m

**Tabella 2.** Descrizione schematica del programma riabilitativo Ti-To proposto.

<b>Settimane (n)</b>	<b>Durata esercizio (min)</b>	<b>Ripetizioni (n)</b>	<b>Pausa tra le ripetizioni (min)</b>	<b>Velocità (passi/min)</b>
1	1	10	1	60
2	1	10	1	60
3	1	10	1	63
4	1	10	1	63
5	1	10	1	66
6	1	10	1	66
7	1	10	1	69
8	1	10	1	69
9	1	10	1	72
10	1	10	1	72
11	1	10	1	76
12	1	10	1	76
13	1	10	1	80
14	1	10	1	80
15	1	10	1	84
16	1	10	1	84
17	1	10	1	88
18	1	10	1	88
19	1	10	1	92
20	1	10	1	92
21	2	5	1	76
22	2	5	1	76
23	2	5	1	80
24	2	5	1	84
25	2	5	1	88
26	2	5	1	92
27	3	3	1	76
28	3	3	1	80
29	3	3	1	84
30	3	3	1	88
31	3	3	1	92
32	5	2	1	80
33	5	2	1	76
34	5	2	1	80
35	5	2	1	84
36	10	1	-	84

**Tabella 3.** Caratteristiche dei soggetti che hanno completato lo studio.

	<b>Gruppo E</b> <b>(n= 42)</b>	<b>Gruppo C</b> <b>(n= 15)</b>
Età (anni)	70.8±6.6	38.3±15.3
Sesso maschile, n(%)	35 (83)	7 (46.6)
<b><i>Sede delle lesioni vascolari (%)</i></b>		
Aorto-iliaco	8 (19)	0 (0)
Femoro-popliteo	26 (61)	0 (0)
Infra-popliteo	5 (12)	0 (0)
<b><i>Fattori di rischio, n(%)</i></b>		
Diabete	14 (33)	0 (0)
Ipertensione	26 (62)	0 (0)
Dislipidemia	25 (60)	0 (0)
Fumo	36 (86)	3 (20)
Familiarità	16 (38)	0 (0)
<b><i>Comorbidità, n(%)</i></b>		
IMA	12 (29)	0 (0)
Patologia coronarica	5 (12)	0 (0)
Ictus	5 (12)	0 (0)
Patologia polmonare	1 (2)	0 (0)
Intervento vascolare periferico	11 (26)	0 (0)
<b><i>Terapia, n(%)</i></b>		
Anticoagulanti	3 (7)	0 (0)
Antiaggreganti	39 (93)	0 (0)
Statine	27 (64)	0 (0)
Antipertensivi	28 (66)	0 (0)
Beta-bloccanti	6 (14)	0 (0)

**Tabella 4.** Parametri di outcome all'ingresso (T0) e 7±2 mesi (T9) nei due gruppi in studio.

Parametri	Gruppo E				Gruppo C				P Intergruppo
	Soggetti (n)	Gambe (n)	T0	T9	Soggetti (n)	Gambe (n)	T0	T9	
<b>Funzionali</b>									
PTS (km/h)	42		3.7±1.1	4.2±0.9***					
Vmax (km/h)	42		4.2±0.8	4.5±0.7**	30		5.4±0.7	5.3±0.7	NS
ICD (m)	42		95±53	121±53**					
ACD (m)	42		143±67	154±55					
<b>Emodinamici</b>									
<b>ABI</b>									
Tutte		76	0.70±0.19	0.77±0.19***		15	1.09±0.05	1.1±0.1	<0.0001
Gamba peggiore		42	0.61±0.12	0.69±0.14***					
Gamba migliore		34	0.82±0.19	0.87±0.19*					
<b>Metabolici muscolari</b>									
<b>mVO<sub>2</sub> (ml/100g/min)</b>									
Tutte		76	0.044±0.028	0.057±0.032*		15	0.038±0.015	0.047±0.022	NS
Gamba peggiore		42	0.045±0.028	0.055±0.031					
Gamba migliore		34	0.042±0.028	0.060±0.034*					
<b>O<sub>2</sub>Hb<sub>AUC</sub> (unità arbitraria)</b>									
Tutte		76	-132±406	33±387**			308±268	243±223	<0.001
Gamba peggiore		42	-138±429	-5±429*					
Gamba migliore		34	-124±383	78±329*					
<b>HHb<sub>AUC</sub></b>									
Tutte		76	405±496	228±457*		15	-31±191	178±170	<0.001
Gamba peggiore		42	478±545	269±507*					
Gamba migliore		34	314±419	176±388					
<b>dHb<sub>AUC</sub></b>									
Tutte		76	-544±858	-156±749**		15	348±363	311±275	<0.001
Gamba peggiore		42	-630±984	-203±827*					
Gamba migliore		34	-438±670	-98±649*					
<b>tHb<sub>AUC</sub></b>									
Tutte		76	246±413	256±363		15	261±286	242±298	NS
Gamba peggiore		42	292±387	256±404					
Gamba migliore		34	190±442	255±312					
<b>O<sub>2</sub>Hb max</b>									
Tutte		76	-5±7	-4±6			2±2	1±2	<0.001
Gamba peggiore		42	-6±8	-4±6		15			
Gamba migliore		34	-4±5	-4±7					
<b>Impegno cardiovascolare</b>									
dF <sub>c</sub> (bpm)	42		12.2±7.3	9.6±5.7*	30		7.5±6.8	7.0±5.6	NS

L'analisi intragrupo è stata effettuata mediante il t-Test di Student \*p<0.05, \*\*p<0.001, \*\*\*p<0.0001. Significatività P intergruppo mediante analisi ANOVA a una coda.

NS, non significativo; PTS, pain threshold speed; ICD, initial claudication distance; ACD, absolute claudication distance; ABI, indice caviglia-braccio; mVO<sub>2</sub>, consumo di ossigeno muscolare a riposo; O<sub>2</sub>Hb, emoglobina ossigenata; HHb, emoglobina deossigenata; dHb, differenza (O<sub>2</sub>Hb-HHb); tHb, somma (O<sub>2</sub>Hb+HHb).

**Tabella 5.** Risultato dell'analisi di regressione multipla stepwise relativa al parametro Pain Threshold Speed (PTS) misurato a 7±2 mesi (T9). Sono riportate solo le variabili indipendenti incluse nel modello.

	<b>Coefficiente</b>	<b>Std. Error</b>	<b>t</b>	<b>P</b>
<b>ABI</b>	3.1286	0.8487	3.686	0.0007
<b>mVO<sub>2</sub></b>	8.7050	3.9114	2.226	0.0322

**Tabella 6.** Parametri funzionali, emodinamici metabolici muscolari ed impegno cardiovascolare e loro incremento percentuale nei sottogruppi in studio.

Parametri	Gruppo ABI+ (n=27)			Gruppo ABI- (n=15)			P intergruppo
	T0	T9	%	T0	T9	%	
<i>Funzionali</i>							
<b>PTS (km/h)</b>	3.7±1.1	4.4±0.9***	22	3.5±1.1	4±0.8***	16	NS
<i>Emodinamici</i>							
<b>ABI</b>	0.59±0.11	0.73±0.13***	25	0.64±0.13	0.61±0.13*	-9	<0.0001
<i>Metabolici muscolari</i>							
<b>mVO<sub>2</sub> (ml/100g/min)</b>	0.053±0.029	0.058±0.036	29	0.029±0.016	0.048±0.018*	145	0.015
<b>O<sub>2</sub>Hb<sub>AUC</sub></b>	-193±439	40±471*	664	-39±404	-84±340	-200	NS
<b>HHb<sub>AUC</sub></b>	564±607	284±503*	21	323±382	242±529	8	NS
<b>dHb<sub>AUC</sub></b>	-779±1097	-134±848	106	.362±696	-327±801	-70	NS
<b>tHb<sub>AUC</sub></b>	296±404	311±409	96	284±368	158±388	-436	NS
<i>Impegno cardiovascolare</i>							
<b>dFc</b>	12±7	6±9*	-20	13±7	11±4*	42	NS

L'analisi intragruppo è stata effettuata mediante il t-Test di Student: \*p<0.05, \*\*p<0.001, \*\*\*p<0.0001 Significatività P intergruppo mediante analisi ANOVA a una coda.

NS, non significativo; PTS, pain threshold speed; ICD, initial claudication distance; ACD, absolute claudication distance; ABI, indice caviglia-braccio; mVO<sub>2</sub>, consumo di ossigeno muscolare a riposo; O<sub>2</sub>Hb, emoglobina ossigenata; HHb, emoglobina deossigenata; dHb, differenza (O<sub>2</sub>Hb-HHb); tHb, somma (O<sub>2</sub>Hb+HHb).

## FIGURE

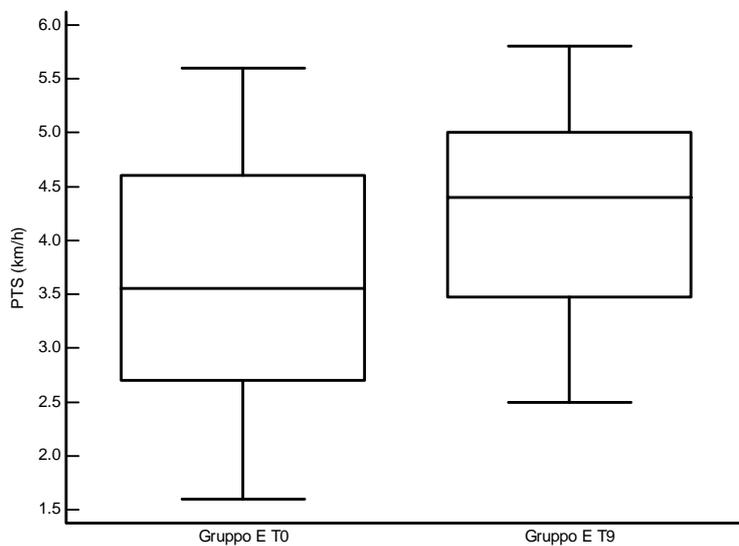
**Figura 1.** Oximon Nirs MK III e Diodi laser



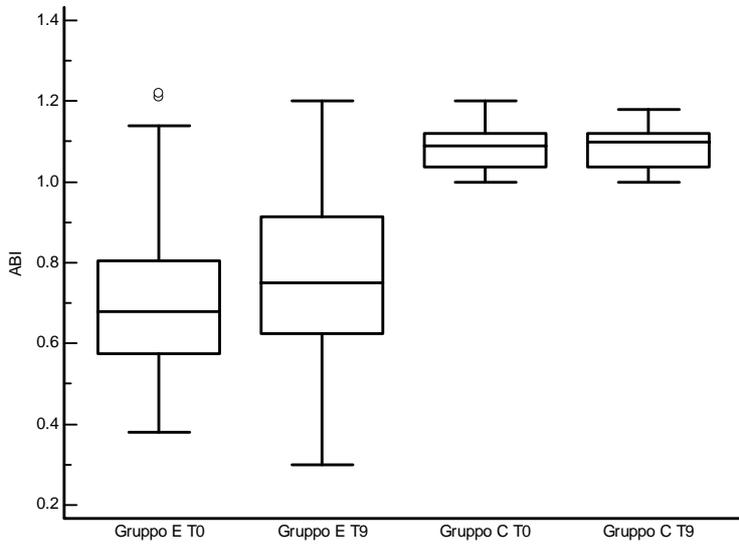
**Figura 2.** Esempio di posizionamento dei sensori a raggi infrarossi.



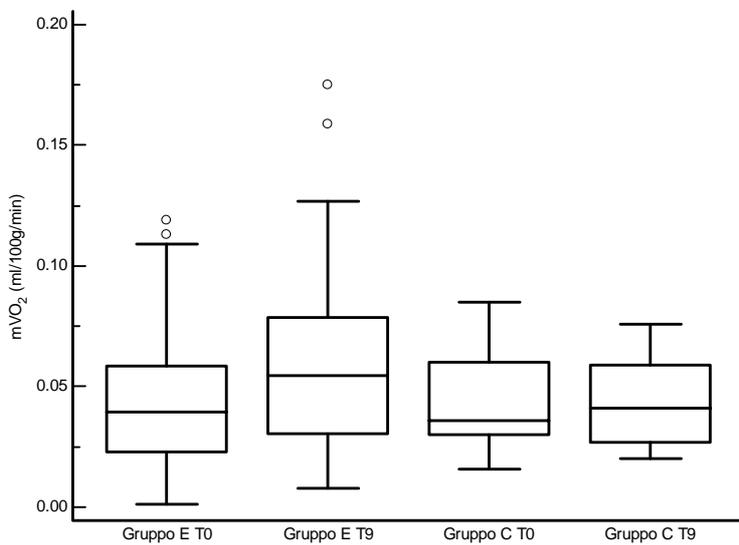
**Figura 3.** Pain Threshold speed (PTS) determinato all'ingresso (T0) e dopo  $7\pm 2$  mesi (T9) nel gruppo E in studio.



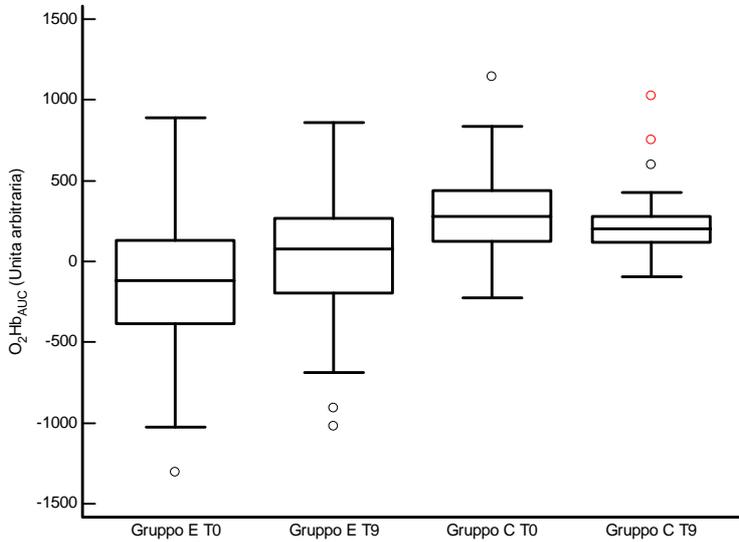
**Figura 4.** Indice caviglia-braccio (ABI) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo 7±2 mesi (T9).



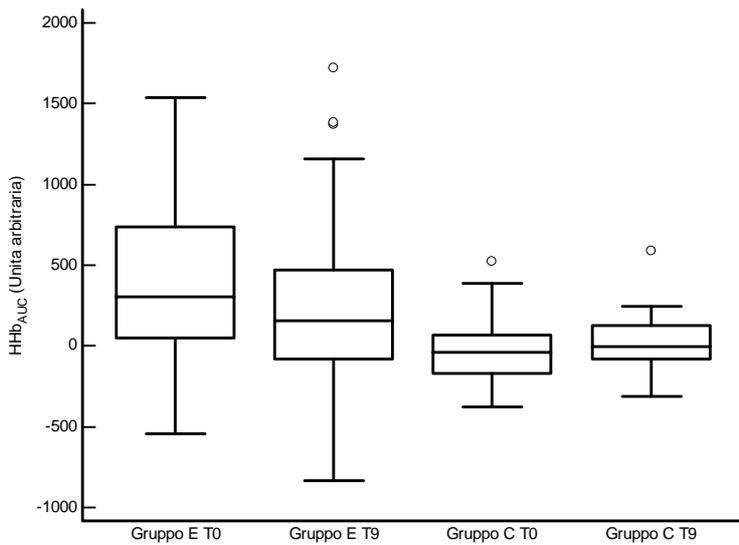
**Figura 5.** Consumo di ossigeno muscolare a riposo ( $mVO_2$ ) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo 7±2 mesi (T9).



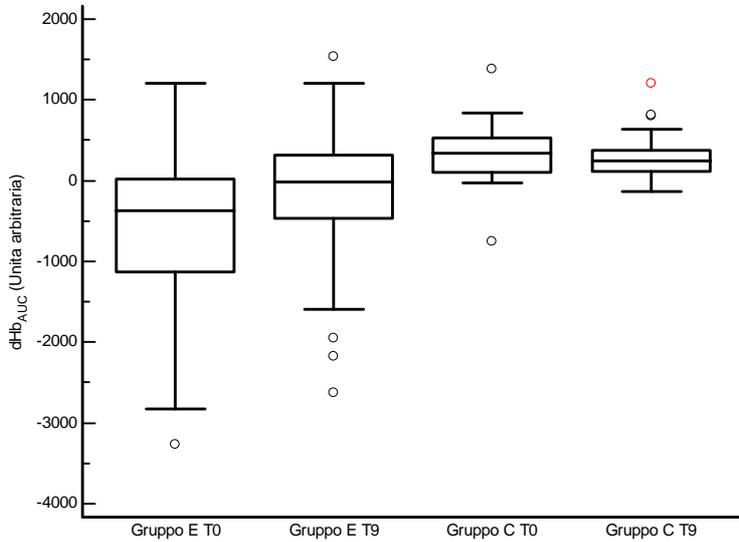
**Figura 6.** Variazioni di emoglobina ossigenata ( $O_2Hb$ ) espresse in termini di area sotto la curva (AUC) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo  $7\pm 2$  mesi (T9).



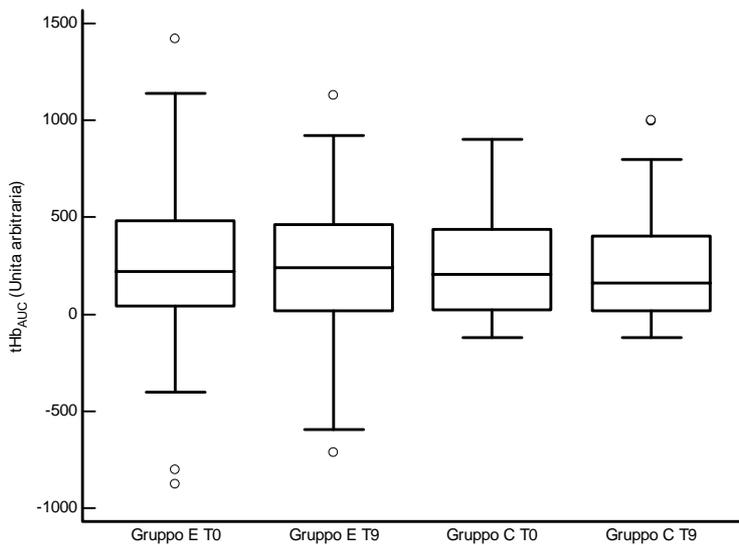
**Figura 7.** Variazioni di emoglobina deossigenata (HHb) espresse in termini di area sotto la curva (AUC) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo  $7\pm 2$  mesi (T9).



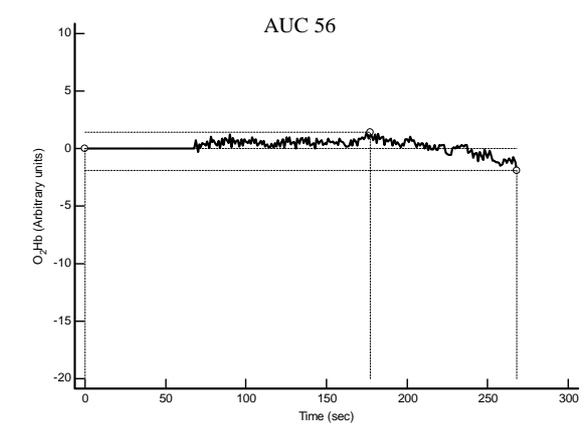
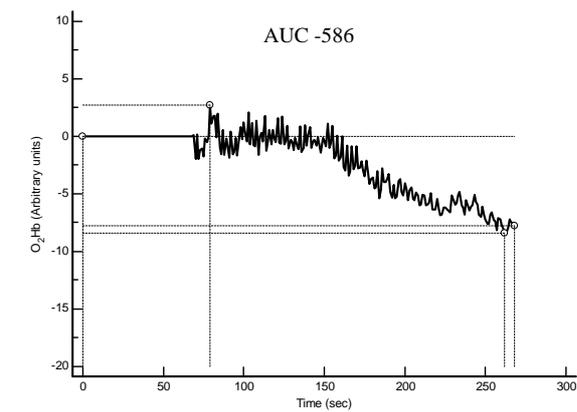
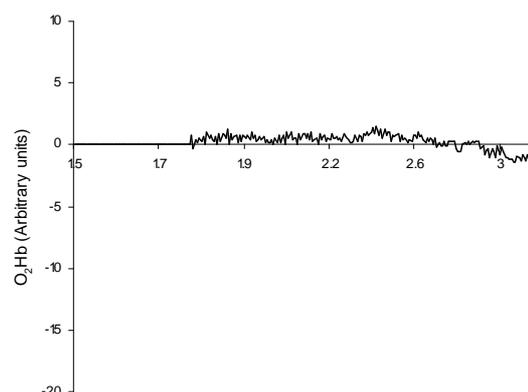
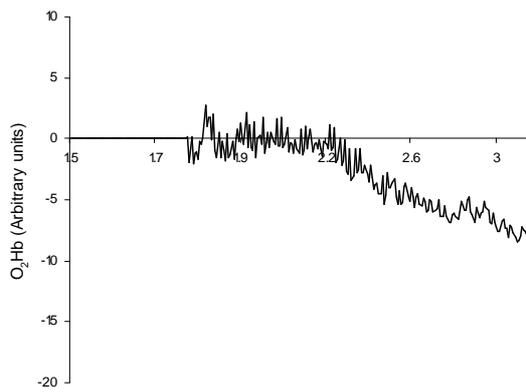
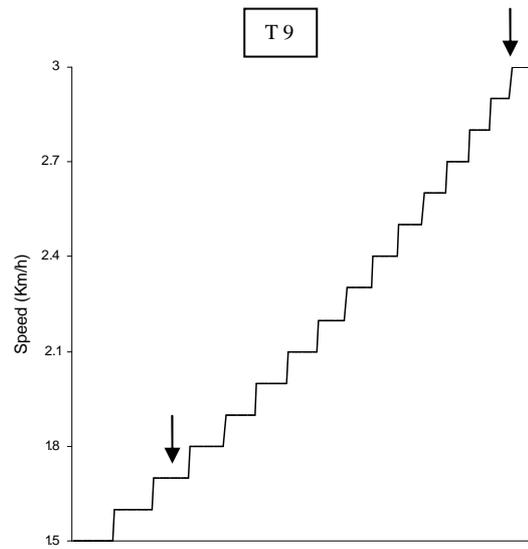
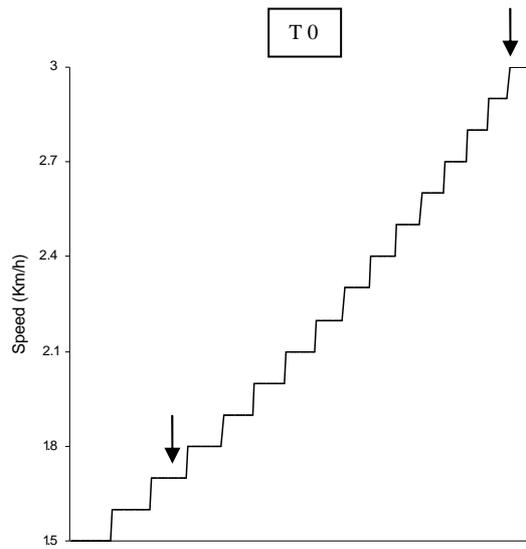
**Figura 8.** Variazioni di emoglobina differenziale (dHb) espresse in termini di area sotto la curva (AUC) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo 7±2 mesi (T9).



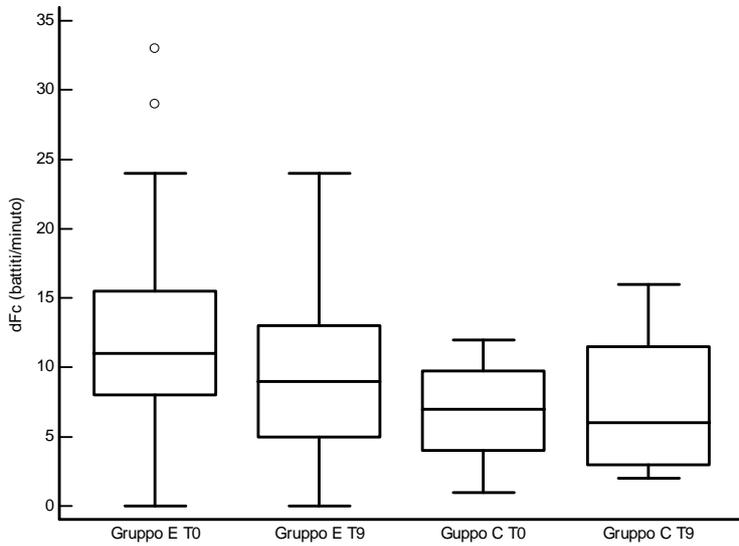
**Figura 9.** Variazioni di emoglobina totale (tHb) espresse in termini di area sotto la curva (AUC) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo 7±2 mesi (T9).



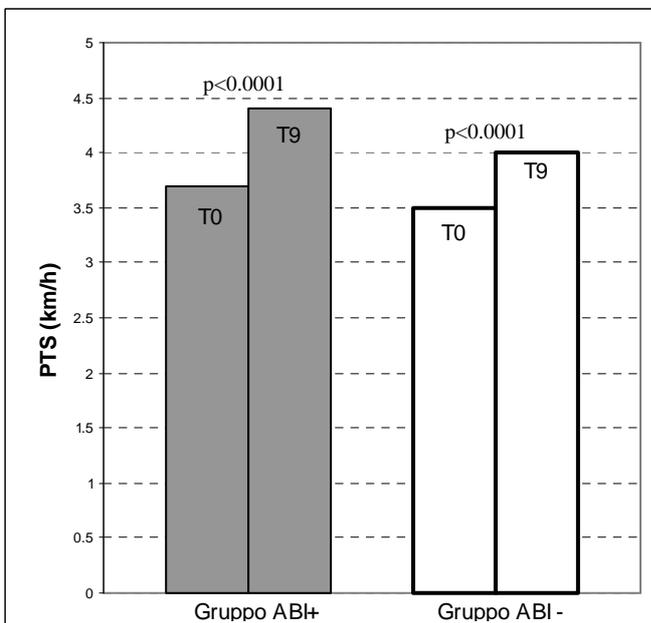
**Figura 10.** Esempio di modificazioni, in termini di minor deossigenazione, indotte dal programma Ti-To in un paziente appartenente al gruppo E in studio.



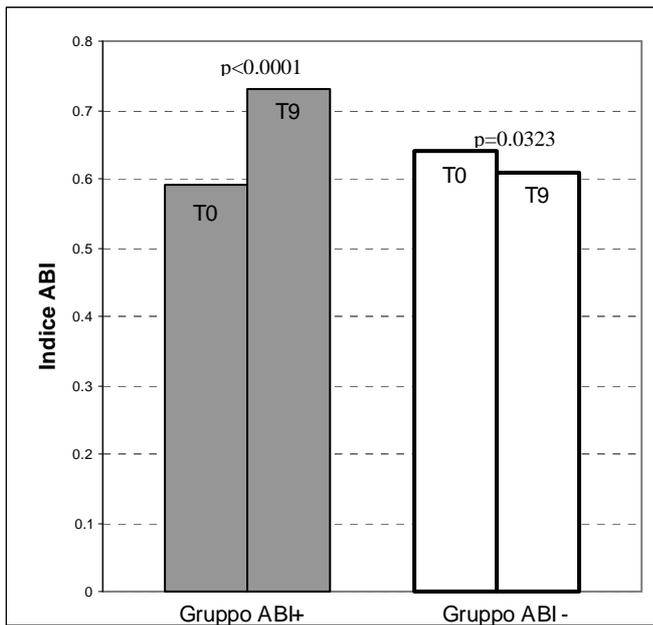
**Figura 11.** Impegno cardiovascolare (dFc) nei due gruppi in studio all'ingresso (T0) e dopo 7±2 mesi (T9).



**Figura 12.** Pain threshold speed (PTS) nei due sottogruppi in studio all'ingresso (T0) e a 7±2 mesi (T9).



**Figura 13.** Indice caviglia-braccio (ABI) nei due sottogruppi in studio all'ingresso (T0) e a 7±2 mesi (T9).



**Figura 14.** Consumo d'ossigeno muscolare a riposo ( $mVO_2$ ) nei due sottogruppi in studio all'ingresso (T0) e a 7±2 mesi (T9).

