

Avaliação da oxigenação tecidual durante o exercício progressivo máximo — efeito da normalização por domínio de intensidade

Autores

Diana Ferreira^{1,2,3} ; Ricardo Minhalma⁴ ; Joana Reis^{4,5} ; João Beckert^{1,3,6}

dianasantosferreira@gmail.com

Resumo

A espectroscopia do infravermelho-próximo (NIRS) permite a avaliação não invasiva da oxigenação tecidual. A normalização do sinal NIRS por domínios de intensidade (DI) permite a comparação destas variáveis independentemente da duração total da prova de esforço e da duração relativa de cada DI de cada sujeito.

Os parâmetros do NIRS apresentam um comportamento com potencial para a determinação dos DI de forma não invasiva. Este estudo tem o objetivo de caracterizar o comportamento das variáveis NIRS em relação aos DI determinados com base nas provas de esforço cardiopulmonares (PECP).

Quarenta e dois atletas realizaram PECP e simultaneamente monitorização da oxigenação tecidual ao nível do músculo vasto lateral com recurso a uma sonda NIRS. Os dados dos gases e das variáveis NIRS (HbO₂, HHb, tHb, TOI) foram sincronizados no tempo. Compararam-se os valores médios do sinal NIRS por DI (ANOVA de medidas repetidas e correção post hoc de Bonferroni), normalizaram-se as variáveis NIRS em relação aos DI, calcularam-se as linhas de tendência linear em cada DI e a interseção das duas retas contíguas foi usada para determinar os pontos de descontinuidade (PD).

Observou-se uma associação estatisticamente significativa entre as passagens de DI moderado para pesado e de pesado para severo para a HHb e TOI (p-value < 0,001). A determinação dos PD mostrou ter um erro médio relativamente baixo em comparação com o LV2 determinado por PECP (LV2 = 76), sobretudo para a variável HHb (erro médio HHb = 5,441; erro médio TOI = 7,424).

¹ Centro de Alto Rendimento do Jamor, Instituto Português do Desporto e Juventude

² Human Performance Department, Sport Lisboa e Benfica

³ NOVA Medical School, Universidade Nova de Lisboa,

⁴ CIPER, Faculdade de Motricidade Humana, Universidade de Lisboa

⁵ Universidade Europeia, Lisboa,

⁶ Clínica CUF Alvalade, José de Mello Saúde, Lisboa

A oximetria muscular permite a determinação dos DI de forma não invasiva e com precisão aceitável. O NIRS tem interesse para a monitorização dos efeitos do treino em atletas e na avaliação de intervenções terapêuticas em doentes.

Palavras-chave: near-infrared spectroscopy; domínios de intensidade; exercício; NIRS; oxigenação tecidual

INTRODUÇÃO

A espectroscopia do infra-vermelho próximo (*near-infrared spectroscopy*, NIRS) é uma técnica não invasiva utilizada na avaliação funcional do metabolismo oxidativo do músculo esquelético^(1,2).

A sonda NIRS é aplicada sobre a pele em relação com o ventre do músculo que se pretende estudar e avalia uma pequena porção de 2 a 6 mm³ de músculo⁽³⁾. O sinal obtido pelo NIRS é o resultado da média ponderada da saturação de oxigénio (O₂) dos grupos heme presentes na hemoglobina (Hb) dos leitos vasculares (artérias pequenas, arteríolas, capilares, vénulas e pequenas veias) e nas moléculas de mioglobina (Mb) das fibras musculares⁽³⁾.

As alterações na saturação de O₂ detetadas pelo NIRS refletem sobretudo as alterações nos níveis de O₂ capilar (Hb) e intracelular (Mb)⁽¹⁾, uma vez que os capilares contribuem com mais de 90% do volume total de sangue no músculo⁽³⁾. Um estudo comparativo entre o sinal de NIRS e de espectroscopia (¹H) por ressonância magnética demonstrou um predomínio da contribuição da Mb para o sinal NIRS no músculo⁽⁴⁾. O NIRS apresenta uma relação sinal-ruído adequada à deteção de alterações tecidulares de oxigenação tanto em repouso como no exercício⁽¹⁾.

Por razões de simplificação e maior congruência com a maioria das publicações referentes ao NIRS e oximetria muscular, passamos a designar como “Hb” o valor obtido da análise conjunta de ambas as moléculas (Hb e Mb).

Com o NIRS é feita uma série temporal de medições do conteúdo de Hb oxigenada e Hb não oxigenada existentes, a cada instante, na porção de tecido muscular avaliada. Estes conteúdos dependem do equilíbrio dinâmico entre o aporte de O₂ aos tecidos e o seu consumo, mas também das condições em que se processa o retorno venoso⁽⁵⁾.

Dos parâmetros medidos pelo NIRS, a alteração tecidual da Hb não oxigenada (HHb) é considerada um *proxy* da extração de O₂ nos capilares⁽⁶⁾. Tanto a Hb oxigenada (HbO₂) como a Hb total (HbO₂+HHb ou tHb) são influenciadas sobretudo pelas alterações do débito vascular no músculo associadas ao exercício⁽⁶⁾. A alteração do valor da HHb relaciona-se com a extração de O₂ nos tecidos durante o exercício, sendo possível inferir qual a alteração da diferença arteriovenosa de O₂ [dif(a-v)O₂] que ocorre. Contudo, o valor absoluto do HHb não deve ser utilizado como um substituto da dif(a-v)O₂, uma vez que não se conhecem as verdadeiras contribuições do débito arterial e venoso⁽⁶⁾. O índice de oxigenação tecidual (*tissue oxygenation index*, TOI) é calculado como a razão entre a HbO₂ e a tHb. Para Spencer *et al.* (2012), o TOI dá uma estimativa fidedigna do equilíbrio dinâmico entre o aporte de O₂ aos tecidos e o seu consumo⁽⁶⁾.

As linhas de orientação para a prescrição de exercício, propostas pela OMS baseiam-se na tolerância do indivíduo ao exercício. Uma vez que a resposta fisiológica aguda ao exercício apresenta comportamentos já bem caracterizados de acordo com os domínios de intensidade (DI) moderado, pesado ou severo, mas que as transições entre DI ocorrem em momentos individualizados, diversas sociedades científicas defendem a prescrição do exercício baseada na determinação individualizada dos DI⁽⁷⁾.

As provas de esforço cardiopulmonar (PECP) com protocolos progressivos são o *gold-standard* para a determinação dos DI⁽⁸⁾. Contudo, as PECP são de difícil acesso para a população em geral pelo seu elevado custo e pela necessidade de equipamentos e pessoal especializados.

As sondas NIRS têm sido apontadas como uma alternativa à PECP na determinação dos DI, tanto mais que atualmente existem no mercado sondas NIRS portáteis e de baixo custo. Estas sondas têm, muitas vezes, como único *output* o valor do TOI⁽¹⁾.

Este trabalho tem como objetivo a caracterização do comportamento das variáveis NIRS em relação aos domínios de intensidade determinados com base nas PECP.

MÉTODO

Quarenta e dois sujeitos (35 do sexo masculino e 7 do sexo feminino) deram o consentimento informado para a participação no estudo. Os procedimentos decorreram em conformidade com os Princípios Éticos na Investigação Médica da Declaração de Helsínquia. Todos os sujeitos eram atletas ou fisicamente ativos, não fumadores e sem hábitos medicamentosos regulares e sem contra-indicações para a participação no estudo, comprovada por consulta médica prévia.

Na tabela 1 apresentamos as características gerais da amostra.

Tabela 1 — Características gerais dos 42 sujeitos. Dados apresentados como média±desvio padrão para as variáveis com distribuição normal, e mediana (mínimo-máximo) nas variáveis sem distribuição normal. Para comparação da média dos grupos por sexo, aplicou-se o teste paramétrico t de Student para amostras independentes (*, significativo para $p\text{-value} < 0,05$) e o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras independentes (†, significativo para $p\text{-value} < 0,05$). IMC – índice de massa corporal; VO₂max – consumo máximo de oxigénio.

	Sexo masculino (n=35)	Sexo feminino (n=7)	<i>p</i> -value
Idade (anos)	32(15-52)	21(17-24)	0,013 [†]
Peso (Kg)	70,71±5,31	54,31±7,52	<0,001*
Estatura (cm)	177,49±5,36	162,86±4,85	<0,001*
IMC (Kg/m ²)	22,46±1,62	20,44±2,23	0,007*
VO ₂ max (L/min)	4,363(3,320-5,165)	2,387(1,797-3,060)	<0,001 [†]
VO ₂ max/Kg (mL/Kg/min)	61,9(46,11-75,13)	44,32(32,67-59,25)	<0,001 [†]

Vinte e cinco sujeitos realizaram prova de esforço máxima até à exaustão em cicloergómetro (SRM, Alemanha) e 17 em passadeira rolante (*h/p/cosmos*[®], Alemanha). Durante a prova, a frequência cardíaca dos sujeitos foi monitorizada por cardiofrequencímetro (*Polar Electro Oy*, Finlândia). A ventilação e os gases ventilatórios foram recolhidos *breath-by-breath* durante toda a prova (*quark B2*, *Cosmed*, Itália e *Metamax 3B*, *Cortex Biophysik*, Alemanha). A oxigenação tecidual foi monitorizada a nível do músculo vasto lateral (*Nirox srl*, *Nimo*, Itália). Todos os dados foram recolhidos de forma contínua e posteriormente processados em médias

móveis de 10 segundos. Os limiares ventilatórios foram determinados com base no comportamento da ventilação, equivalente respiratório do O₂, *V-slope* e equivalente respiratório do CO₂. O VO₂max foi determinado com base no máximo valor médio num período não inferior a 30 segundos⁽⁸⁾.

A prova em cicloergómetro teve um período de repouso de 2 minutos, seguido de 5 minutos de aquecimento a 75 W, e início da prova a 100 W com aumentos sucessivos de 30 W a cada minuto. A prova em passadeira rolante teve um período de repouso de 3 minutos, seguido de 3 minutos de aquecimento a 5 Km/h, e início da prova a 6 Km/h com aumentos sucessivos de 1 Km/h a cada minuto, com inclinação constante de 1% (mimetizando a resistência do ar em corrida no exterior).

Após a determinação dos limiares ventilatórios, os dados dos gases e das variáveis NIRS foram sincronizados no tempo. Para que os acontecimentos a nível muscular (“local”) correspondessem aos fenómenos associados aos gases recolhidos no fim da expiração, introduziu-se um atraso de 20 segundos nos dados ventilatórios, de acordo com Spencer *et al.* (2012), contabilizando o atraso com as trocas gasosas transmembranares, convecção de fluidos e tamponamento de metabolitos, desde o músculo até ao pulmão⁽⁶⁾.

Com as séries temporais do sinal NIRS já sincronizadas, foram-lhes atribuídas as categorias de moderado, pesado e severo, correspondentes aos sucessivos DI na prova progressiva. Recorreu-se à ANOVA de medidas repetidas e correção *post hoc* de Bonferroni para comparação dos valores médios por DI.

Posteriormente, as variáveis NIRS foram normalizadas em relação aos DI. Como os DI têm duração diferente, os valores do sinal NIRS de cada sujeito foram distribuídos de acordo com a duração máxima registada, em cada DI. As séries mais curtas assim distribuídas, originaram intervalos de dados omissos que foram repostos por interpolação linear. Um processo semelhante foi também descrito por Ferreira *et al.* (2007)⁽⁹⁾.

Este procedimento permite a comparação de todos os sujeitos independentemente da duração total da prova de esforço e da duração relativa de cada DI. Após este processo, os limiares ventilatórios ocorrem no mesmo ponto das abcissas para todos os sujeitos (Figura 1).



Figura 1 — representação gráfica da metodologia de normalização ao domínio de intensidade para dois sujeitos A e B. As séries temporais (1) são “esticadas” para que todos os sujeitos tenham domínios de intensidade com a extensão idêntica à da maior série recolhida (2) e os dados omissos são repostos por interpolação linear (3). Após este processo, os limiares ventilatórios ocorrem no mesmo ponto das abcissas para todos os sujeitos. LV1_A, primeiro limiar ventilatório do sujeito A; LV2_A, segundo limiar ventilatório do sujeito A; LV1_B, primeiro limiar ventilatório do sujeito B; LV2_B, segundo limiar ventilatório do sujeito B.

Esta normalização facilita a descrição do comportamento dos sinais NIRS por DI e permite determinação das taxas de variação do sinal NIRS por DI. Tem a vantagem complementar de ponderar a contribuição de cada participante apesar de diferenças inter-individuais na duração de cada prova. No entanto, a eventual determinação das taxas de variação do sinal pela unidade de tempo apenas podem ser calculadas nas séries originais, antes da normalização e apenas são aplicáveis para cada participante individualmente.

Após normalização de cada série de dados NIRS, foram calculadas as linhas de tendência linear (reta dos mínimos dos quadrados das diferenças) para os diferentes domínios de intensidade (Microsoft® Excel for Mac, versão 16.29.1). Esta abordagem já demonstrou ser eficaz quando comparada com outros modelos⁽⁶⁾.

Determinaram-se as coordenadas para a interseção das retas e registaram-se os valores correspondentes ao eixo das abcissas para cada uma.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da concentração de HHb no músculo por DI são mais elevados no DI severo que no pesado e mais elevado no DI pesado que no moderado ($p < 0,001$), registando-se um efeito de interação significativo ($F_{1,2}; 50,2=67,53$, $p < 0,001$, $\eta^2_p=0,622$). Não existiram diferenças na HHb entre as provas realizadas em cicloergómetro e passadeira rolante ($F_{1,2}; 47,9=1,41$, $p=0,246$, $\eta^2_p=0,034$). A TOI registou uma diminuição no valor médio com o aumento da intensidade do exercício ($p < 0,001$), com interação significativa ($F_{1,3}; 53,4=21,08$, $p < 0,001$, $\eta^2_p=0,442$), também sem diferenças registadas entre os ergómetros utilizados ($F_{1,3}; 52,0=0,130$, $p=0,785$, $\eta^2_p=0,003$).

A concentração de tHb aumentou ($p < 0,001$), registando-se um efeito de interação significativo ($F_{1,3}; 52,1=21,08$, $p < 0,001$, $\eta^2_p=0,340$). Neste caso, o protocolo escolhido já apresenta diferenças significativas quanto à alteração do tHb ($F_{1,3}; 51,7=5,367$, $p=0,017$, $\eta^2_p=0,118$).

Pelo contrário, os valores médios da HbO₂ não apresentaram alterações com a mudança de DI ($F_{1,3}; 52,7=0,421$, $p=0,569$, $\eta^2_p=0,01$), sem que o tipo de ergómetro utilizado apresentasse influência no resultado ($F_{1,3}; 51,5=1,81$, $p=0,182$, $\eta^2_p=0,043$).

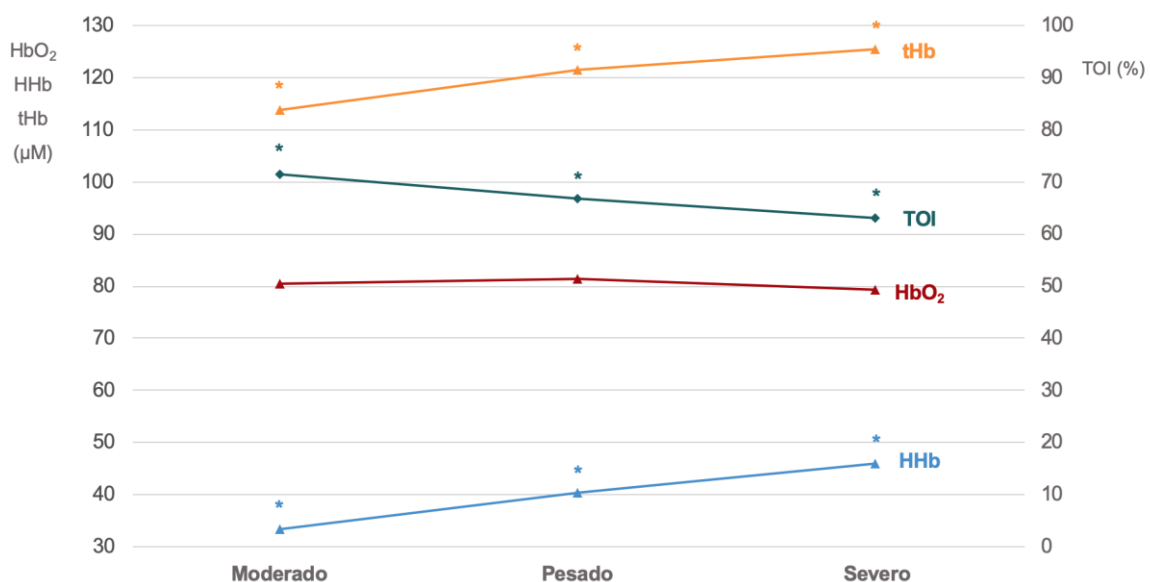


Figura 2 — Gráfico da interação das variáveis NIRS nos domínios de intensidade. HbO₂ (µM), HHb* (µM), tHb* (µM), TOI (%)*. *p-value>0,05

Estes resultados estão de acordo com a literatura e suportam a nossa escolha da HHb e da TOI como variáveis de interesse⁽⁶⁾.

A interseção das duas retas de tendência do sinal NIRS em DI sucessivos identifica a ocorrência de alteração de comportamento do sinal (ponto de descontinuidade, PD) e permite determinar a discrepância entre o comportamento do sinal NIRS e a determinação dos limiares ventilatórios (figura 3).

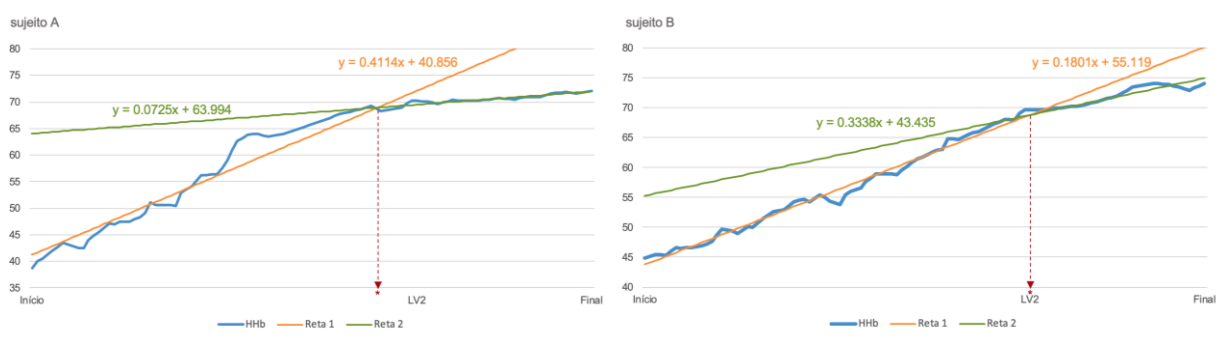


Figura 3 — representação gráfica da HHb de dois sujeitos (A e B). O asterisco a vermelho (*) nas abcissas marca a proposta de LV2 através da análise do HHb.

Os PD foram calculados após a determinação das equações de função polinomial do 1º grau para cada reta:

$$\begin{array}{l}
 \text{reta 1} \text{ — } y_1 = m_1x + b_1 \\
 \text{reta 2} \text{ — } y_2 = m_2x + b_2
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{reta 1} \\ \text{reta 2} \end{array}} \right\} \text{PD=x: } y_1 = y_2$$

Uma vez que as variáveis estão normalizadas aos DI, os sujeitos cujas retas se intersectam fora do eixo das abcissas correspondente aos DI, foram excluídos da análise (3 sujeitos para a HHb e 4 sujeitos para o TOI). Os valores médios para m e b das retas de tendência linear para a HHb e TOI encontram-se na tabela 2:

Constata-se que os valores de dispersão dos parâmetros m e b , das retas de tendência, são da mesma ordem de grandeza dos respetivos valores médios, o que indica uma acentuada individualização destes parâmetros.

Tabela 2 — Valores de m e b das retas $y=mx+b$ de tendência linear para a determinação dos PD para as variáveis HHb e TOI. R^2 — coeficiente de determinação.

	HHb	TOI
m_1	$0,187 \pm 0,150$	$-0,113 \pm 0,145$
b_1	$30,276 \pm 12,879$	$73,585 \pm 8,257$
m_2	$0,154 \pm 0,146$	$-0,129 \pm 0,130$
b_2	$32,136 \pm 15,688$	$75,109 \pm 12,436$
R^2_1	$0,866 \pm 0,123$	$0,721 \pm 0,247$
R^2_2	$0,776 \pm 0,246$	$0,779 \pm 0,271$

A estimativa do segundo limiar baseado no comportamento da HHb e da TOI com NIRS, corresponde ao valor no PD das retas de tendência no DI pesado e severo, para cada um dos participantes não excluídos.

As diferenças entre o valor normalizado (76) da determinação do LV2 pela análise de gases e as estimativas baseadas no NIRS foram de $5,441 \pm 9,500$ para Dif HHb e de $7,424 \pm 7,724$ para Dif TOI. Os valores Dif para cada participante não excluído são representados na figura 4.

O erro médio na determinação do segundo limiar é baixo, correspondendo a uma relação “sinal-ruído” aceitável, inferior a 10% em ambos os casos (erro de 7,1% na determinação baseada na HHb e 9,7% na baseada na TOI), Estes resultados sugerem que a análise dos limiares ventilatórios por NIRS é uma boa aproximação à determinação do VT2 por análise de gases.

O cálculo do erro de previsão do LV2 foi efetuado em relação a um valor normalizado de 76. O valor de LV2 calculado para a normalização foi de 76. Os valores de PD foram então comparados ao valor normalizado para LV2, para as variáveis HHb (Dif HHb) e TOI (Dif TOI), tendo-se calculado a sua diferença (figura 4). O Dif HHb foi de $5,441 \pm 9,500$ e o Dif TOI foi de $7,424 \pm 7,724$.

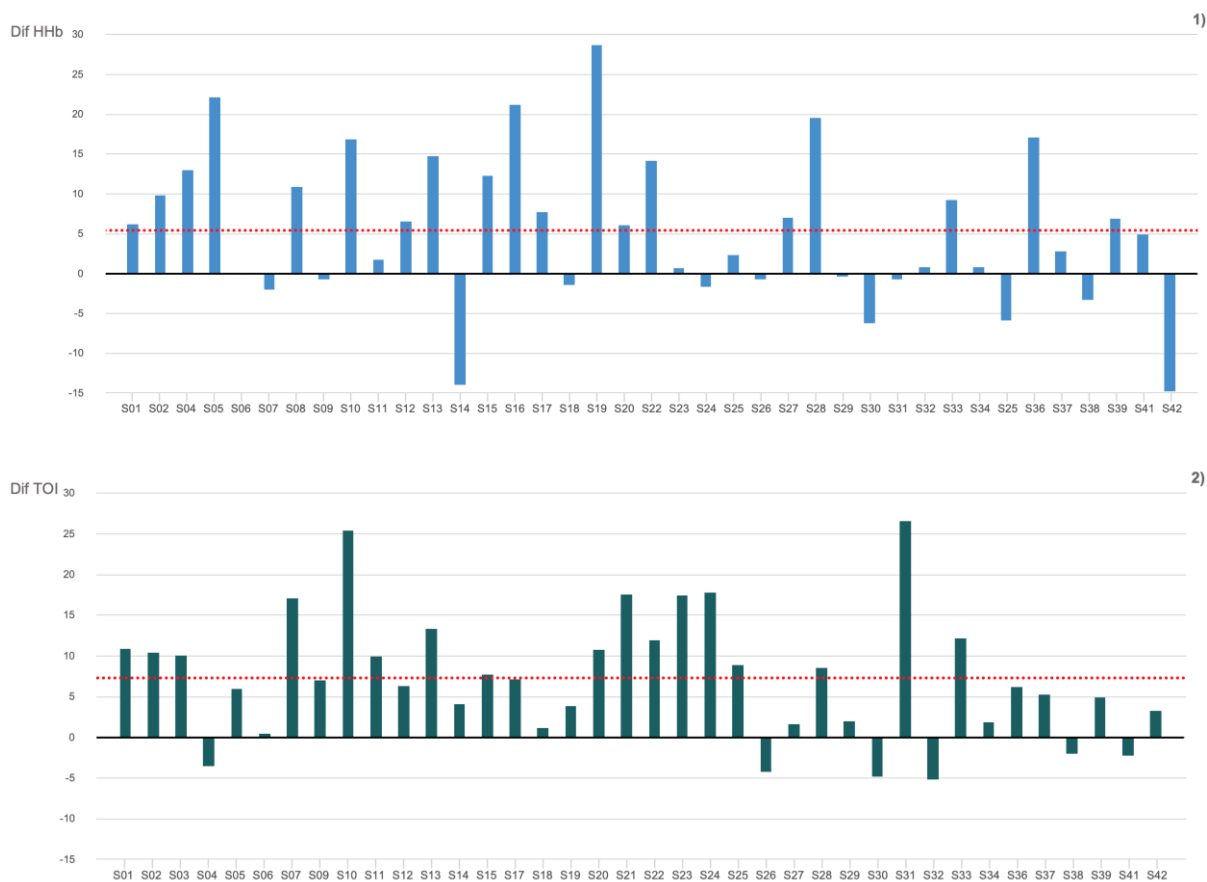


Figura 4 — Gráficos dos valores das diferenças entre o PD e o LV2 para o HHb (Dif HHb, 1) e o TOI (Dif TOI, 2) para todos os sujeitos. A linha tracejada a vermelho indica a média das diferenças.

A utilização de protocolos de prova progressiva em ergómetros diferentes constitui uma das limitações deste trabalho. As diferenças biomecânicas da corrida (por ex., o comprimento e frequência da passada) e as diferenças antropométricas dos sujeitos (por ex., peso corporal, comprimento dos membros) afetam não só o padrão de recrutamento muscular, a potência desenvolvida e a resposta cardiovascular local, como também a variabilidade na oxigenação tecidual entre os sujeitos⁽¹⁰⁾. Estes fatores ajudam a explicar a variabilidade encontrada no sinal NIRS.

A influência das alterações do débito muscular no sinal da HbO₂ é atenuada no cálculo do TOI, e justifica a utilização do parâmetro de saturação tecidual nos aparelhos NIRS portáteis. No entanto, o erro de previsão dos limiares é inferior quando se utiliza o HHb. Assim, o desenvolvimento dos aparelhos de NIRS portáteis deverá envolver a incorporação da análise do HHb.

Esta tecnologia tem um enorme potencial para a monitorização de atletas e até mesmo doentes. A correta interpretação do sinal NIRS com base nos fenómenos fisiopatológicos subjacentes, permite a avaliação não invasiva do metabolismo oxidativo, a avaliação de intervenções terapêuticas ou de reabilitação e a monitorização de síndromes clínicas⁽³⁾.

CONCLUSÃO

O NIRS demonstrou uma boa capacidade na determinação do VT2 em provas progressivas máximas de forma não invasiva.

Esta tecnologia tem um enorme potencial na monitorização do treino de atletas e na avaliação de intervenções clínicas.

REFERÊNCIAS

1. Perrey S. & Ferrari M., Muscle oximetry in sports science: a systematic review. *Sports Med* (2018) 48:597-616
2. Bellotti C., et al., Determination of maximal lactate steady state in healthy adults: Can NIRS help? *Medicine and Science in Sports & Exercise* (2013) 45(6):1208-1216
3. Grassi B. & Quaresima V., Near-infrared spectroscopy and skeletal muscle oxidative function in vivo in health and disease: a review from an exercise physiology perspective. *Journal of Biomedical Optics* (2016) 21(9):091313-1-091313-20
4. Bendahan D. et al. Comparative NMR and NIRS analysis of oxygen-dependent metabolism in exercising finger flexor muscles. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (2017) 313(6):R740-R753
5. Beckert J., Identificação da relação dinâmica entre a resposta fisiológica à hipoxia e o desempenho desportivo de atletas de alto rendimento (2017) NOVA Medical School — Universidade Nova de Lisboa, Portugal [tese de doutoramento]
6. Spencer M. et al., Characterizing the profile of muscle deoxygenation during ramp incremental exercise in young men. *Eur J Appl Physiol* (2012) 112:3349-3360
7. Mezzani A., et al. Aerobic Exercise Intensity Assessment and Prescription in Cardiac Rehabilitation: a joint position statement of the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Canadian Association of Cardiac Rehabilitation. *American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and European Society of Cardiology* (2012) 32:327-350
8. Wasserman K., et al. *Principles of Exercise Testing and Interpretation*. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2012
9. Ferreira L., et al. Dynamics of noninvasively estimated microvascular O₂ extraction during ramp exercise. *Journal of Applied Physiology* (2007) 103(6):1999-2004
10. Rissanen A. et al., Alveolar gas exchange and tissue oxygenation during incremental treadmill exercise, and their associations with blood O₂ carrying capacity. *Frontiers in Physiology* (2012) 3:1-11