

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Biomediche

Corso di Laurea Triennale in Scienze Motorie

Tesi di Laurea

**MISURAZIONE NON INVASIVA DEI PARAMETRI FISIologici
DURANTE L'IMMERSIONE IN APNEA**

Relatore: Prof. Bosco Gerardo

Correlatore: Dott. Tommaso Antonio Giacon

Laureando: Sonzogni Federico

N° di matricola: 1225987

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

1) ABSTRACT	3
2) INTRODUZIONE	4
CAPITOLO 1: AMBIENTE STRAORDINARIO	4
1.1 L'ambiente acquatico.....	4
1.2 Proprietà dell'acqua	5
1.2.1 <i>Densità</i>	5
1.2.2 <i>Pressione</i>	6
1.2.3 <i>Temperatura</i>	12
1.2.4 <i>Fenomeni ottici</i>	13
CAPITOLO 2: FISILOGIA DELL'IMMERSIONE .	15
2.1 Diving reflex.....	15
2.2 Blood shift.....	19
CAPITOLO 3: FISIPATOLOGIA DELL'IMMERSIONE	20
3.1 Barotraumi	21
3.2 Perdita di coscienza	24
3.3 Edema polmonare da immersione (IPE).....	26
3.4 Patologie da decompressione.....	27
3.5 Narcosi da azoto.....	28

CAPITOLO 4: TIPOLOGIE DI IMMERSIONE	29
4.1 Immersione parziale del corpo.....	29
4.2 Immersione con utilizzo di un respiratore ausiliario	30
4.3 Immersione in apnea.....	31
CAPITOLO 5: MONITORAGGIO FISIOLÓGICO IN AMBIENTE SUBACQUEO	34
CAPITOLO 6: MONITORAGGIO SUBACQUEO NON INVASIVO	36
6.1 Funzionamento della NIRS.....	38
6.2 Campi di applicazione	42
3) SCOPO DELLO STUDIO	47
4) MATERIALI E METODI	48
4.1 Disegno sperimentale.....	48
4.2 Soggetti	50
4.3 Materiali	52
4.4 Approccio tecnico	53
4.5 Procedure e misurazioni specifiche	55
5) RISULTATI.....	57
6) DISCUSSIONE.....	64
7) CONCLUSIONI	67
8) BIBLIOGRAFIA.....	68

1) ABSTRACT

L'ambiente acquatico pone diverse sfide per l'organismo umano, ed è noto che durante l'immersione intervengono numerosi meccanismi di adattamento fisiologico, ad oggi ancora oggetto di studio. La ricerca sulla prestazione sportiva porta ai limiti le capacità del fisico umano, esponendo i subacquei in generale a dei rischi connessi alla loro attività, pertanto il monitoraggio delle funzioni fisiologiche e vitali è fondamentale. Gli studi sperimentali hanno dimostrato che non sempre le reazioni fisiopatologiche oggettivate nell'uomo corrispondono a quello che ci si aspetterebbe secondo le leggi fisiche e chimiche, prima fra tutte la variazione dei valori di ossigeno, anidride carbonica e saturazione dell'emoglobina, che rivestono una enorme importanza nel gruppo dei principali meccanismi di compenso ai cambiamenti di pressione che si verificano in ambiente acquatico.

L'esperimento oggetto di questa tesi, parte del progetto Breath-Hold Diving: Mechanism of Hypoxemia and Decompression Stress finanziato con un grant di Office of Naval Research (ONR), American Navy USA, ha come scopo quello di comparare i dati registrati a diverse profondità (15 m e 42 m) dal nuovo algoritmo auto-calibrato applicato al dispositivo Continuous-Wave Near Infrared Spectroscopy (CW-NIRS), con quelli dei prelievi di sangue arterioso, attuale gold standard per la misurazione delle pressioni parziali dei gas nel sangue, per indagare le variazioni della saturazione arteriosa e della pressione di ossigeno in apneisti d'élite..

Il dispositivo CW-NIRS permette di valutare in modo non invasivo la variazione dei livelli di saturazione dell'emoglobina a livello di un tessuto target, in questo caso la corteccia encefalica.

La validazione di questo metodo di monitoraggio, una volta affinata la tecnica, potrebbe andare a sostituire manovre cruente sul soggetto e permettere un monitoraggio costante dell'atleta per aumentare il livello di prestazione e diminuire i rischi connessi ad uno sport di questo tipo.

2) INTRODUZIONE

CAPITOLO 1: AMBIENTE STRAORDINARIO

1.1 L'ambiente acquatico

Le origini delle esplorazioni dell'ambiente acquatico trovano fondamenta nell'antichità e coinvolgono la cultura di molti paesi (esempio le pescatrici Ama giapponesi e coreane) che hanno tramandato nel corso dei secoli alcune tecniche di immersione.

L'apnea è stata la prima forma di immersione praticata con lo scopo di cacciare pesce, raccogliere conchiglie, oggetti preziosi o utili quali corallo, perle e spugne.

Il primo record di apnea registrato non aveva valenza sportiva, ma militare. Nel 1913 il pescatore di spugne greco Haggi Satti è riuscito a recuperare l'ancora dispersa sul fondale di 70/80 metri della nave militare italiana Regina Margherita.

Hanno avuto inizio solo successivamente una serie di battaglie per il record ufficiale di profondità con atleti del calibro di Enzo Maiorca e Jacques Mayol.

La vera esplorazione dell'ambiente subacqueo è però avvenuta per rispondere a necessità belliche con l'invenzione del self-contained underwater breathing apparatus (SCUBA).

Nel 1942, durante l'occupazione tedesca della Francia, Jacques-Yves Cousteau ed Emile Gagnan inventarono il primo set SCUBA a circuito aperto.

Poi, grazie alle scoperte avvenute nel corso degli anni da parte di scienziati come Dalton, Charles, Boyle, Mariotte, Archimede, Torricelli si sono potuti comprendere, secondo principi fisici e anatomici gli adattamenti cardiaci, circolatori, polmonari che si riscontrano durante un'immersione (blood shift, diving reflex etc). Lo studio di tali adattamenti ha aumentato le conoscenze della fisiologia subacquea e ha ridotto il rischio di sviluppare patologie annesse garantendo una maggiore sicurezza in chi decide di avventurarsi in questo straordinario ambiente.

1.2 Proprietà dell'acqua

Per poter ridurre i rischi a cui l'individuo va incontro durante l'immersione in profondità è indispensabile comprendere le principali proprietà fisiche dell'acqua, ed esse sono:

- Densità
- Pressione
- Temperatura
- Fenomeni ottici

1.2.1 Densità

La densità è definita come la quantità di materia presente in un metro cubo di sostanza ed è espressa come il rapporto tra la massa e il volume della sostanza.

La formula della densità è la seguente:

$$d = \frac{m}{v}$$

Dove:

- d = densità
- m = massa
- v = volume

La densità si esprime in Kg/m³ oppure in g/cm³.

La legge di Archimede afferma che ogni corpo immerso in un fluido riceve una forza verticale diretta dal basso verso l'alto pari al peso del fluido spostato.

Il galleggiamento di un corpo dipende dalla sua densità e dal fatto che questa sia minore o maggiore di quella dell'acqua dolce (1 g/cm³). In accordo con quanto detto precedentemente un corpo più denso dell'acqua affonda, mentre uno con una densità minore galleggia. Inoltre è utile tener presente che è più facile galleggiare

in mare in quanto la densità dell'acqua, avendo una salinità maggiore rispetto a quella dolce ha una densità maggiore ($1,029 \text{ g/cm}^3$) ¹.

Inoltre la densità influisce anche sul costo energetico dei movimenti in acqua, riducendo l'efficienza della macchina umana ¹.

La densità complessiva di un subacqueo dipende dai materiali che indossa, dalla sua densità tissutale, dal volume e dalla densità dei gas presenti nelle cavità corporee, come: polmoni, stomaco e altri visceri ².

1.2.2 Pressione

La pressione è data dal rapporto fra la forza esercitata ortogonalmente ad una superficie e la sua area.

La formula della pressione è la seguente:

$$P = \frac{F}{A}$$

Dove:

- P = pressione;
- F = forza;
- A = area.

A livello del mare la pressione della colonna d'aria sul nostro corpo è di 1 ATM o 760 mmHg o ancora 1013 kPa. Questa unità di misura viene approssimata in ambito ingegneristico ad 1 atmosfera tecnica assoluta (ATA). Essendo l'acqua più densa dell'aria, la colonna d'acqua necessaria ad esercitare 1 ATA è di 10m.

In ambiente subacqueo, l'aumento di pressione è di 1 ATA ogni 10 m di profondità, che comporta una variazione molto più rapida e consistente rispetto all'ambiente aereo, in quanto un corpo immerso a 10 m deve sopportare una pressione doppia rispetto al normale.

Piccole variazioni di pressione hanno effetti sui sistemi biologici, come ad esempio sui cambiamenti nell'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno ³ e sui gas presenti nel corpo.

Le leggi dei gas associate all'immersione sono:

Legge di Dalton:

la pressione totale esercitata da una miscela di gas è uguale alla somma delle pressioni parziali di ogni singolo gas contenuto nella miscela stessa ⁴.

Questa legge spiega come la pressione parziale dell'ossigeno (PaO₂), la pressione parziale dell'anidride carbonica (PaCO₂) e la pressione parziale dell'azoto (pN) influiscano sulla pressione totale esercitata su un corpo a livello del mare.

Durante un'immersione la pressione parziale dei singoli gas aumenta con la profondità, e l'apneista si trova a dover affrontare fenomeni di iperossia (aumento della PaO₂) e di ipercapnia (aumento della PaCO₂), con relativo stato di benessere, nonostante il consumo di ossigeno dovuto all'apnea e all'esercizio fisico ⁵.

La formula utilizzata per determinare la pressione parziale dell'ossigeno è:

$$PpO_2 = FiO_2 \times P$$

Dove:

- PpO₂ = pressione parziale di O₂;
- FiO₂ = frazione di O₂ inspirata; Indica la percentuale di ossigeno presente nella miscela di gas che si sta respirando, nel caso di aria FiO₂ = 0,21
- P = pressione ambientale.

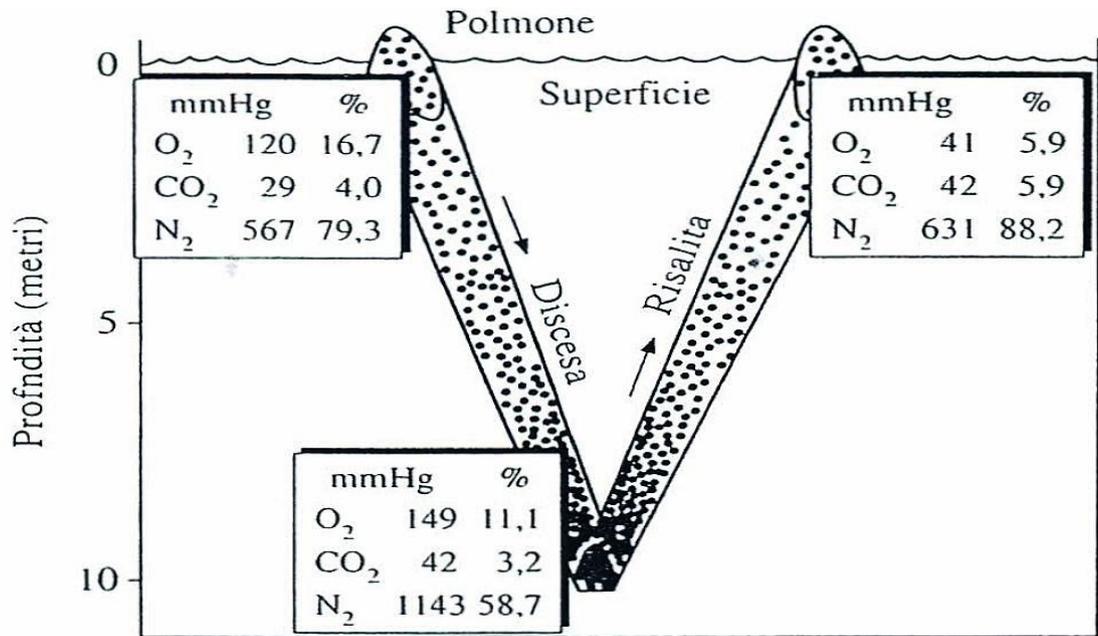


Figura 1. Variazioni della pressione parziale dei gas durante un immersione, in funzione della legge di Dalton. Tratto da (Schiavon, 2002.)

Legge di Henry:

A temperatura costante, la quantità di gas che va in soluzione in un liquido è direttamente proporzionale alla pressione parziale del gas stesso ⁶.

Tale legge spiega come all' aumentare della pressione durante una discesa in profondità, con conseguente aumento delle pressioni parziali dell'ossigeno e dell'anidride carbonica tali gas tendano a sciogliersi nel sangue. Durante la risalita o decompressione, diminuisce la pressione parziale dei gas e avviene il fenomeno inverso, ovvero il ritorno allo stato gassoso.

La formula della legge è la seguente:

$$C = P \times k$$

Dove:

- C = concentrazione di un gas disciolto in una soluzione,
- K = costante della legge di Henry, tipica per ciascun gas,
- P = pressione parziale del gas.

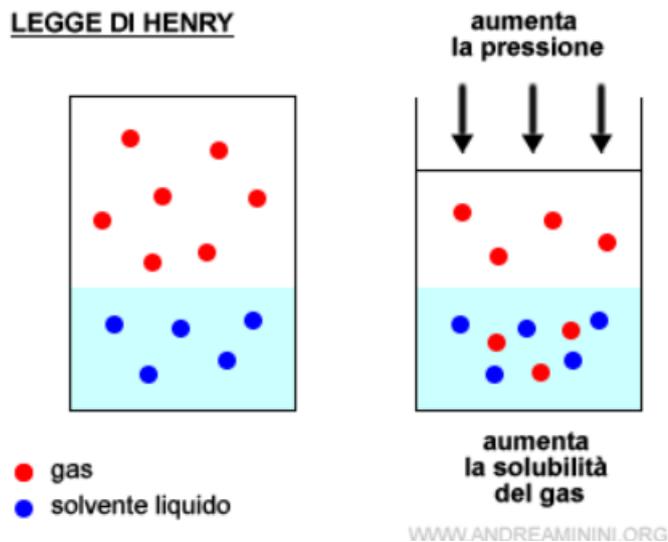


Figura 2. Schema esplicativo della legge di Henry. Tratto da <https://www.andreaminini.org/chimica/soluzioni/legge-di-henry>

Questa legge sta alla base della malattia da decompressione e della formazione di bolle durante la risalita.

La pressione parziale dell'azoto aumenta con la profondità e il gas si discioglie in soluzione (sangue), passando dallo stato gassoso a quello liquido. Inoltre l'azoto essendo più liposolubile rispetto all'O₂ tende a disciogliersi più facilmente, soprattutto in tessuti a forte composizioni lipidica, quali il sistema nervoso centrale o l'adipe.

Il fenomeno inverso avviene durante la fase di risalita, l'azoto esce dalla soluzione ritornando in forma gassosa e addensandosi creare delle microbolle che possono ostacolare il regolare flusso ematico.

Legge di Boyle e Mariotte:

tale legge afferma che a temperatura costante (legge isoterma), il volume di una determinata quantità di gas è inversamente proporzionale alla pressione ambientale⁷.

La formula della Legge di Boyle e Mariotte è la seguente:

$$P \times V = k$$

Dove:

- P = pressione ambientale,
- V = volume del gas;
- k = costante.

Come precedentemente spiegato, ogni 10 m di profondità in acqua un subacqueo è esposto a una pressione aggiuntiva di 1 ATA rispetto al livello del mare e questa influisce sul volume dei gas contenuti nelle cavità corporee come polmoni, seni paranasali e orecchio medio.

L'esempio classico ed utilizzato per spiegare tale legge è quello del palloncino che passa da una profondità di 0m ad una di 10m. A 10m (1 ATA) la pressione esercitata sulla sua superficie raddoppia, mentre il suo volume dimezza (1/2).

Scendendo ancora di 10m (arrivando a 20m o 2 ATA) la pressione esercitata sulla sua superficie triplica e il volume è viene ridotto ad un terzo rispetto a quello che aveva in superficie.

Tale fenomeno continua durante la discesa e in fase di risalita avviene il fenomeno inverso, ovvero al diminuire della pressione (da 2 ATA ad 1 ATA) il volume aumenta tornando al valore base.

PROFONDITA'	ATA	VOL. ARIA
0 m	1	1
10m	2	1/2
20m	3	1/3
30m	4	1/4
40m	5	1/5



Figura 3. Schema esplicativo legge di Boyle e Mariotte. Tratta da <https://www.subrarinantes.it/legge-boyle-mariotte/>

Legge di Gay-Lussac:

o legge isocora afferma che a volume costante, la pressione di una data quantità di gas è direttamente proporzionale alla sua temperatura assoluta.

In termini matematici la legge si può scrivere come:

$$P_1 : T_1 = P_2 : T_2$$

Dove:

- P_1 = pressione del gas alla temperatura T_1
- T_1 = temperatura assoluta del gas
- P_2 = pressione del gas alla temperatura T_2
- T_2 = temperatura assoluta del gas

Legge di Charles:

o legge isobara e afferma che, a pressione costante, il volume di una data quantità di gas è direttamente proporzionale alla sua temperatura assoluta.

In termini matematici tale legge si può scrivere come:

$$V_1 : T_1 = V_2 : T_2$$

Dove:

- V_1 = volume del gas alla temperatura T_1
- T_1 = temperatura assoluta del gas
- V_2 = volume del gas alla temperatura T_2
- T_2 = temperatura assoluta del gas

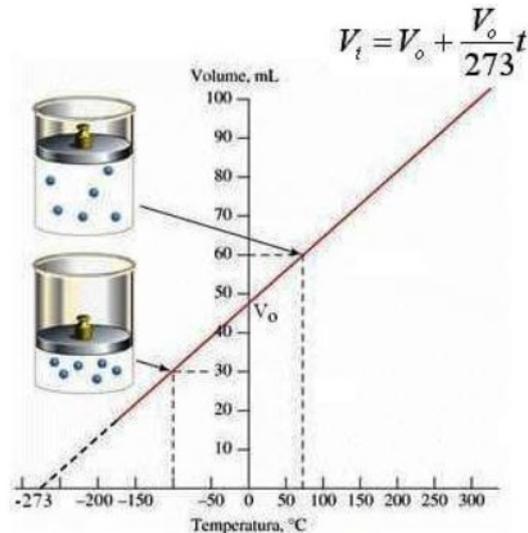
Viene anche detta prima legge di Gay-Lussac, il quale riprendendo la legge di Charles riuscì a dimostrare che esiste una relazione matematica tra il volume del gas e la sua temperatura in gradi Celsius:

$$V_t = V_0 (1 + \alpha t)$$

Dove:

- V_t = volume del gas ad una certa temperatura (C°)
- V_0 = volume del gas alla temperatura di $0 C^\circ$
- α = costante che vale $1/273$

Mantenendo costante la pressione del gas, ogni aumento di temperatura di 1 C° corrisponde un incremento di volume pari a 1/273 del volume occupato alla temperatura di 0 C° (figura 4).



Rappresentazione grafica della legge di Charles: in ascissa è riportata la temperatura in °C ed in ordinata il volume

Figura 4. Rappresentazione grafica della legge di Charles. Tratto da www.google.com/search?q=legge+di+charles

L'equazione dei gas ideali riassume in un'unica formula le leggi dei gas sopracitate e stabilisce che il prodotto tra volume e pressione di un gas perfetto è uguale al prodotto tra il numero di moli, la costante dei gas ideali e la temperatura:

$$pV = nRT$$

1.2.3 Temperatura

La temperatura è la grandezza fisica che fornisce la misura dello stato termico di un corpo e di conseguenza esprime la capacità del corpo di scambiare calore con altri corpi o con l'ambiente.

Tipicamente la dispersione del calore nell'uomo avviene per fenomeni convettivi, conduttivi, evaporativi e di irraggiamento tramite onde elettromagnetiche.

Basta una esposizione per breve tempo a basse temperature per causare grande disagio in quanto subentrano meccanismi di conduzione e convezione, che trasferiscono il calore dal corpo più caldo all'ambiente più freddo.

La termoneutralità in acqua è definita come quella temperatura alla quale non c'è trasferimento di calore tra l'acqua e il corpo umano.

La temperatura dell'acqua gioca un ruolo chiave nel trasferimento di calore ed è conveniente, quando ci si immerge in acqua fredda, indossare una protezione adeguata atta a ridurre la dispersione di calore e allo stesso modo, è necessario un raffreddamento attivo per le immersioni in acque più calde ¹.

1.2.4 Fenomeni ottici

I fenomeni ottici sono eventi visibili dovuti all'interazione tra luce e materia.

Quando un raggio luminoso passa dall'aria dentro l'acqua con una certa inclinazione, esso viene deviato e forma un angolo con la perpendicolare nel punto di incidenza, definito come "angolo di rifrazione".

Dal momento che l'indice di rifrazione dell'acqua è $\frac{4}{3}$ di quello dell'aria, la distanza percepita di un bersaglio sott'acqua è $\frac{3}{4}$ di quella dell'aria e perciò gli oggetti immersi appaiono circa il 30% più grandi e più vicini ⁸.

Inoltre quando ci si immerge, è difficile mettere a fuoco le immagini, questo a causa dell'indice di rifrazione simile tra la cornea e l'acqua ¹. Risulta quindi necessario l'uso di occhiali o maschera, che contenendo aria, creano due superfici con diversi poteri rifrattivi (acqua vs vetro e vetro vs aria) ⁹.

La legge di Snell (figura 5.) descrive tale fenomeno:

$$n_1 \sin\theta_1 = n_2 \sin\theta_2$$

Dove:

- n_2 = indice di incidenza nel rispettivo mezzo (aria),
- θ_2 = angolo incidente misurato nel rispettivo mezzo (aria),
- n_1 = indice di rifrazione nel rispettivo mezzo (acqua),
- θ_1 = angolo rifratto misurato nel rispettivo mezzo (acqua),

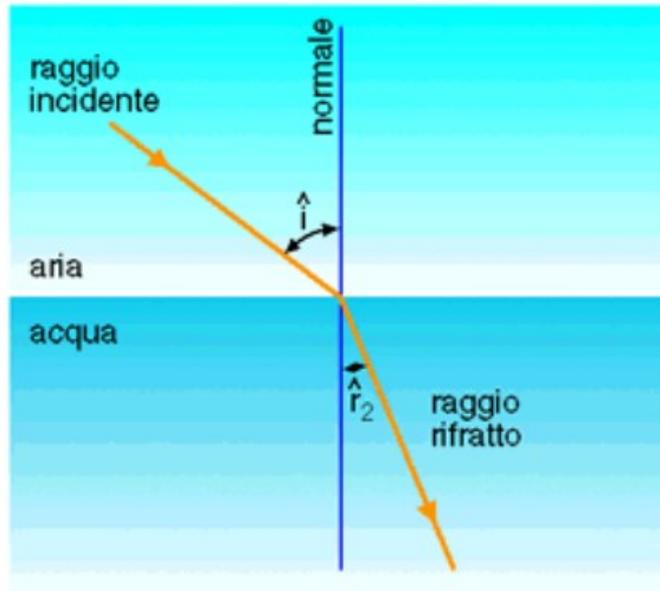


Figura 5. Immagine che spiega la legge di Snell. Tratto da <https://argomentidifisica.wordpress.com/category/esercizi-sulla-rifrazione-angolo-limite/>

Queste alterazioni possono creare problemi nella coordinazione oculo - manuale e nelle abilità motorie del subacqueo (Bosco, Rizzato, Moon, et al., 2018).

Infine la quantità di luce che passa dall'aria all'acqua limita il riconoscimento dei colori. In acqua limpida il range di colori più facile da riconoscere va dal giallo-verde al blu-verde, Invece, il grigio e il nero sono i due colori più difficili da vedere in un ambiente acquatico con illuminazione naturale ¹⁰.

I fenomeni di rifrazione luminosa stanno alla base del funzionamento della spettroscopia a onde continue (CW-NIRS), ma rendono complicate le misurazioni fatte sott'acqua. Tali fenomeni implicano infatti una perdita del segnale perché deviano i raggi luminosi in uscita dal tessuto impedendo al rilevatore di acquisirne l'intensità esatta.

CAPITOLO 2: FISIOLOGIA DELL'IMMERSIONE

L'immersione è un'attività che, a differenza del nuoto o dello snorkeling, prevede che tutto il corpo sia sotto la superficie dell'acqua ed è resa possibile grazie alla capacità dell'uomo di trattenere il respiro sott'acqua.

Infatti le prime immersioni furono svolte in apnea e legate alla necessità di ottenere cibo.

Successivamente furono studiati nuovi strumenti, soprattutto per esigenze di natura bellica, che permettessero di prolungare la permanenza sott'acqua, come il Self-Contained Underwater Breathing Apparatus (SCUBA).

Nel corso degli anni e grazie agli studi si sono messe in luce le modificazioni che l'organismo mette in atto quando interagisce con l'acqua per adattarsi, aumentando la conoscenza di tali fenomeni.

Lo scopo di questo capitolo è esporre le principali modificazioni fisiologiche che hanno luogo in chi pratica immersioni in apnea (breath-hold diving) o subacquee con bombole (SCUBA) a livello cardiaco, circolatorio e polmonare.

2.1 Diving reflex

Il diving reflex o riflesso trigeminale (TR) è una risposta fisiologica innata messa in atto dall'organismo con il fine di ridurre il consumo di ossigeno durante un'immersione ¹¹ e proteggere gli organi vitali come il sistema nervoso e cuore dall'ipossia. È considerato il riflesso più potente conosciuto fino ad ora ¹²¹³

Quando i recettori cutanei del nervo trigemino, posti all'interno delle narici, a livello delle orbite e della fronte vengono stimolati dal contatto della pelle con l'acqua, inviano il segnale al ponte, e da questo, tramite un interneurone ai nuclei motori del nervo vago posti nel bulbo, che mediano la riduzione della frequenza cardiaca ¹⁴.

Anche la temperatura dell'acqua influisce su tale riflesso, che aumenta in modo inversamente proporzionale al diminuire della temperatura dell'acqua ¹².

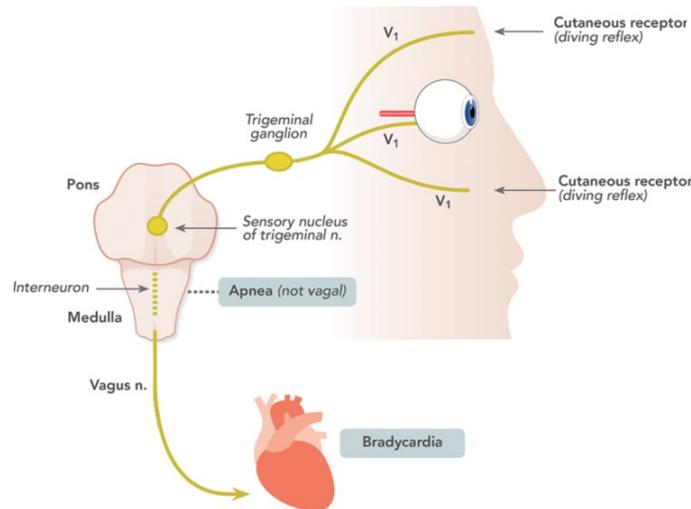


Figura 6. Fenomeno del diving relfex. Tratto da www.google.com/search=diving+reflex

Il diving relfex induce una serie di adattamenti fisiologici cardiovascolari, metabolici, cerebrovascolari e respiratori ¹², quali ¹⁵:

- Bradicardia
- Vasocostrizione periferica
- Aumento della pressione arteriosa
- Contrazione splenica

Bradicardia

Il diretto contatto della faccia con l'acqua provoca negli apneisti un riflesso bradicardizzante, ovvero la riduzione della frequenza del battito cardiaco volto a preservare il consumo di ossigeno per il sostentamento di cuore e cervello ¹⁶.

L'attività parasimpatica del nervo vago, stimolato a sua volta dal trigemino, riduce l'attività delle cellule pacemaker del miocardio (nodo seno atriale) e di conseguenza la frequenza cardiaca ¹⁷.

Subito dopo l'immersione della testa in acqua la frequenza cardiaca inizia a diminuire, anche di 40-50 bpm nei primi 30/40 secondi per poi restare relativamente

costante durante tutta l'immersione. Col ritorno in superficie la frequenza dei battiti torna ai livelli basali ¹⁸.

La bradicardia si è vista essere molto variabile tra i soggetti (variazione tra il 15-40%) e in alcuni è diminuita fino a raggiungere i 20 bpm ¹³.

La temperatura dell'acqua influisce sulla frequenza cardiaca in modo inversamente proporzionale durante l'immersione, nello specifico, più l'acqua è fredda maggiore sarà il calo della frequenza cardiaca e viceversa ¹⁷.

Negli apneisti non è raro trovare il fenomeno della dissincronia cardiaca, o conflitto autonomico derivante dalla simultanea attivazione del sistema parasimpatico, che causa bradicardia (legata al diving reflex) e del sistema eccitatorio ortosimpatico (in risposta all'esercizio in acqua o allo shock termico) ¹⁹.

Vasocostrizione periferica

Per controbilanciare l'attività parasimpatica mediata prevalentemente dal nervo vago, il sistema nervoso simpatico provoca una vasocostrizione periferica dei vasi della cute e della muscolatura ²⁰ al fine di garantire e mantenere a livello centrale un adeguato flusso sanguigno ricco di ossigeno per il metabolismo degli organi nobili, tra cui il cervello. Oltretutto lo spostamento di una massa di fluido incompressibile all'interno della cavità toracica, contrasta la tendenza al collasso degli organi contenenti gas, come i polmoni, all'aumentare della profondità.

Tale vasocostrizione “forza” gli organi meno vitali, come la muscolatura, ad utilizzare il metabolismo lattacido, facendo in modo che l'ossigeno venga risparmiato ²¹.

Anche la temperatura dell'acqua influisce sul grado di vasocostrizione. Una bassa temperatura stimola maggiormente il sistema nervoso simpatico che media la riduzione del calibro dei vasi per non disperdere il calore.

Per contrastare la diminuzione della frequenza cardiaca a seguito dell'immersione si aumentano il precarico e postcarico cardiaco tramite la vasocostrizione periferica al fine di mantenere costante la gittata cardiaca.

Il precarico è la forza richiesta per produrre l'allungamento delle cellule miocardiche ed indica il carico imposto al miocita prima della sua contrazione (misurato tramite il volume telediastolico) mentre il postcarico è la tensione ventricolare durante la sistole, data dalla somma di tutte le resistenze che si oppongono allo svuotamento. Il postcarico aumenta in caso di vasocostrizione periferica.

Aumento della pressione sanguigna

In seguito alla riduzione della frequenza cardiaca e alla vasocostrizione periferica mediata dai sistemi parasimpatico e simpatico, il sangue è centralizzato all'interno del mediastino e incrementa la pressione sanguigna centrale ²².

La pressione sanguigna non aumenta eccessivamente nei primi tre minuti, ma avviene in concomitanza dell'attività dei chemocettori arteriosi, attivati dalla riduzione della saturazione arteriosa ²³.

Alcuni studi hanno osservato che la pressione sanguigna aumenta al diminuire della frequenza cardiaca, suggerendo che l'attività baroriflessa giochi un ruolo chiave nello sviluppo della bradicardia, come lo gioca l'ipossia e la conseguente attività baroriflessa durante le fasi finali dell'apnea ¹⁶.

Contrazione splenica

Un altro fattore che contribuisce al prolungamento del tempo in immersione è il ruolo della milza.

La milza è un organo localizzato caudalmente all'emidiaframma sinistro, che tra le sue funzioni annovera quella di serbatoio o riserva dinamica per gli eritrociti, capace di espellerli ed immetterli nel flusso sanguigno ¹⁹ aumentando l'ematocrito. Ciò avviene in risposta a situazioni stressanti come possono essere l'esercizio fisico o l'ipossia ²⁴.

Si è stimato che la milza possa contenere dai 200 ai 500 ml di sangue ²⁴ e che in seguito alla sua contrazione (con una diminuzione del suo volume tra il 18 e il 35%) l'ematocrito aumenti del 2-6% ¹⁹.

La milza dunque può mettere in circolo ulteriori eritrociti per il trasporto di ossigeno ai tessuti, che può essere utilizzato durante l'immersione.

2.2 Blood shift

Parallelamente ai cambiamenti fisiologici appena descritti, con l'aumentare della profondità di immersione si verifica un altro meccanismo, definito blood shift.

In seguito alla vasocostrizione periferica vi è una redistribuzione del sangue dalla periferia verso il mediastino e il cervello ²⁵ garantendo a tali organi un apporto costante di ossigeno.

Questo fenomeno avviene anche in soggetti con la testa fuori dall'acqua ²⁶.

Secondo la legge di Boyle e Mariotte all'aumento della pressione lo spazio aereo (volume) degli alveoli si riduce, consentendo ai capillari che li circondano di ospitare un volume maggiore di sangue. Grazie a questo spostamento di fluidi, per definizione incompressibili, i polmoni resistono alla compressione evitando di collassare completamente all'aumentare della pressione barometrica, come invece era stato ipotizzato in passato ²³²⁷.

Questo richiamo di liquidi nel mediastino provoca una sovradistensione dell'atrio destro, che stimola particolari recettori di volume presenti sulle cellule miocardiche, promuovendo la secrezione di peptide natriuretico atriale (ANP), responsabile di un aumento della diuresi a livello renale.

Il ritorno venoso a livello polmonare è schematizzato nella figura successiva:

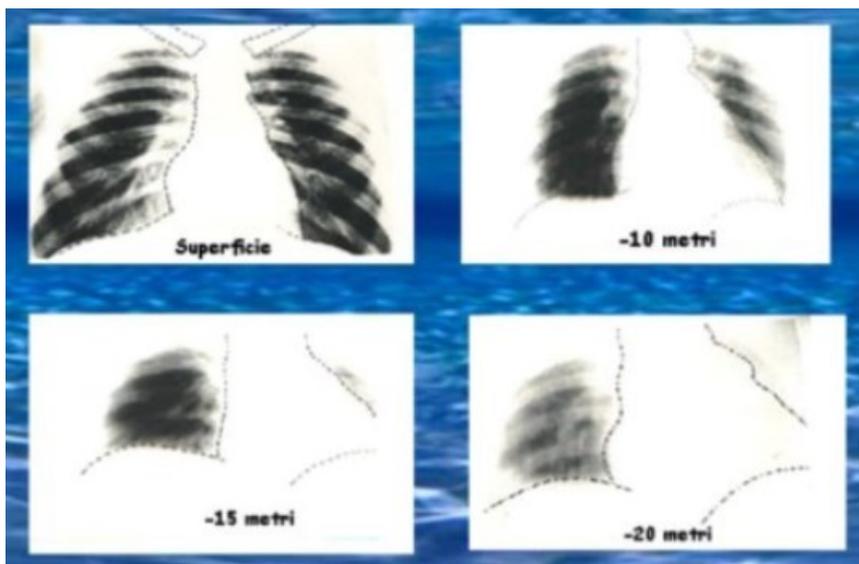


Figura 7. Fenomeno del blood shift. L'aria (colore nero) subisce una progressiva compressione e discioglimento nel circolo sanguigno, con un concomitante aumento della quota ematica (colore bianco) e delle dimensioni del mediastino. Tratto da www.apneamagazine.com

CAPITOLO 3: FISIPATOLOGIA DELL'IMMERSIONE

L'interazione uomo-acqua implica che, una volta portati all'estremo i meccanismi di adattamento fisiologico dell'organismo all'ambiente acquatico, in presenza di un ambiente eccessivamente estemo (profondità elevata, temperatura, pressione), subentri il rischio di esposizione a patologie più o meno gravi, che costituiscono il principale rischio di chi pratica questo sport.

Le complicanze più frequenti sono: l'annegamento, indotto dall'inalazione di acqua e con conseguente asfissia e la sincope, definita come la perdita transitoria di coscienza, solitamente causata dall'ipossia ¹.

Le cause dell'annegamento sono molteplici e non tutte sono legate all'ambiente subacqueo: tra le cause più importanti vi sono il barotrauma da immersione e l'edema polmonare da immersione (IPE) ¹.

Le patologie più complesse derivano dal fenomeno della decompressione, ovvero la formazione di bolle gassose di azoto all'interno del sangue o dei tessuti in seguito alla riduzione della pressione ambientale ¹.

Ricapitolando, i principali eventi avversi che si possono verificare sono:

- Barotraumi;
- Perdita di conoscenza;
- Edema polmonare da immersione (IPE);
- Patologie da decompressione;
- Narcosi da azoto;

3.1 Barotraumi

I barotraumi sono dei traumi dovuti ad una variazione improvvisa della pressione ambientale durante un'immersione in acqua e possono causare danni ai tessuti a seguito dei cambiamenti di volume (aumento o diminuzione) dell'aria presente nelle cavità corporee ¹, come polmoni, seni paranasali, orecchio medio e tratto gastrointestinale ²⁸.

Secondo la legge di Boyle i cambiamenti di volume sono inversamente proporzionali alla pressione; quindi durante la discesa, all'aumentare della pressione il gas sarà compresso e viceversa ¹.

I barotraumi possono verificarsi sia durante la discesa, quando la pressione dell'acqua aumenta con la profondità e si riduce il volume del gas (barotrauma da discesa, solitamente all'orecchio) sia durante la risalita, quando il volume del gas si espande in seguito alla diminuzione di pressione (barotrauma da risalita, solitamente polmonare). Anche se questi tipi di barotrauma agiscono sugli stessi siti la patologia che ne deriva cambia ¹.

Vi sono diversi barotraumi, classificati in base all'organo colpito ^{1,28}:

- **Barotrauma polmonare:**

è la manifestazione più grave e preoccupante in tutti i tipi di immersione e può essere causa di embolia arteriosa (AGE).

Tale complicazione può verificarsi sia nella fase di discesa che in quella di ascesa. Durante la fase di discesa, l'aumento di pressione riduce il volume

polmonare fino al suo limite, con rischio di collasso che può portare a congestione polmonare, edema ed emorragia ¹.

Inoltre una rottura alveolare può potenzialmente permettere il passaggio dei gas contenuti nei sacchi alveolari direttamente nel circolo sanguigno, con possibile formazione di emboli gassosi ²⁸.

Il barotrauma polmonare da decompressione avviene quando il gas è intrappolato nelle vie aeree con impossibilità di uscire ¹, Durante la fase di risalita il gas contenuto negli alveoli non può essere scambiato con l'ambiente esterno e il suo aumento di volume può gonfiare l'alveolo fino a causarne la rottura. Nel 3% dei casi un barotrauma polmonare può evolvere verso lo pneumotorace ²⁸.

Le condizioni predisponenti per il barotrauma polmonare sono: asma, abitudine al fumo, enfisema, fibrosi polmonare, broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO).

Si manifesta spesso con un dolore puntorio a livello del torace, tosse, e nel peggiore dei casi con perdita di conoscenza dovuta a un embolo gassoso che raggiunge il circolo cerebrale. Nel caso di pneumotorace iperteso provoca nel soggetto sintomi quali: dispnea ingravescente, turgore giugulare e collasso cardiocircolatorio ²⁸.

- **Barotrauma facciale:**

avviene in seguito all'occlusione meccanica della rinofaringe, che causa una differenza di pressione tra la maschera indossata dal soggetto ed il volto. In questo modo i tessuti molli periorbitali sono spinti contro la maschera causando edema e sanguinamento.

Per prevenire tale fenomeno è importante utilizzare una corretta compensazione durante la discesa in profondità ¹.

Tale compensazione è una delle manovre più difficili da eseguire durante le apnee ad elevate profondità, per la scarsa disponibilità di aria nel cavo orale e nasale.

Molti apneisti da record infatti utilizzano occhialini e tappanaso perché il loro volume ridotto previene o limita questo problema.

- **Barotrauma gastrointestinale:**

causato dall' aumento di volume del gas all'interno del tratto gastrointestinale durante la fase di risalita. Tale aumento di volume porta a sintomi quali: crampi, dolore, distensione e gonfiore ²⁸.

Un corretto apporto di liquidi e di cibo prima dell'immersione potrebbe prevenire tale fenomeno ²⁹.

- **Barotrauma dei seni paranasali:**

la mancata compensazione tra l'ambiente esterno e interno dei seni paranasali crea una pressione negativa in questi ultimi. La rottura dei vasi causa dolore durante la fase di discesa ed epistassi durante la fase di risalita quando la pressione all'interno dei seni paranasali supera quella esterna.

Inoltre la persistenza di sangue all'interno dei seni paranasali potrebbe portare ad una sinusite batterica ²⁸. Spesso è causato da fenomeni infiammatori mucosali, comuni nelle riniti allergiche o nei soggetti che hanno sinusite cronica.

- **Barotrauma dell'orecchio medio:**

si verifica quando la pressione tra orecchio interno e pressione ambientale non è equilibrata e la membrana timpanica viene spinta verso l'interno, causando dolore all'orecchio. Tale barotrauma avviene solitamente durante la discesa ma è possibile che una ipercompensazione porti ad un trauma inverso, uno scoppio verso l'esterno durante la fase di risalita. All'aumentare della pressione vi è un maggior rischio che la membrana timpanica si rompa e che l'entrata di acqua nell'orecchio medio porti disfunzioni vestibolare causando vertigini acute.

Per ridurre il rischio di tale barotrauma gli apneisti si allenano costantemente nell'utilizzo di alcune specifiche manovre di compensazione, simili a quella di Valsalva, che permettono di ristabilire l'equilibrio

pressorio tramite la tuba di Eustachio tra la pressione interna e quella esterna²⁸.

In caso di infiammazione tubarica (otiti, rinofaringiti) spesso è difficile eseguire la compensazione.

In caso di dolore è doveroso interrompere la discesa, risalire di qualche metro ed eseguire nuovamente una manovra di compensazione.

- **Barotrauma dell'orecchio interno:**

può avvenire durante la fase di discesa quando il soggetto non riesce a compensare la pressione dell'aria nell'orecchio medio con la pressione ambientale esterna. Si genera quindi una differenza di pressione tra l'orecchio medio e quello interno che porta alla rottura della finestra ovale con conseguente danno all'orecchio interno.

I sintomi avvertiti sono: dolore, senso di nausea, tinnito, perdita dell'udito nel corrispettivo orecchio; il coinvolgimento vestibolare provoca vomito e nausea.

Se non trattati tinnito e sordità possono diventare cronici ²⁸.

- **Barotrauma dentale:**

può avvenire durante la fase di ascesa quando il volume del gas presente negli spazi artificiali dei denti (capsule, canali delle radici dentali) aumenta. Questo porta a rottura del dente e la sua ridotta capacità di rimodellamento.

3.2 Perdita di coscienza

Con il termine “blackout” o “ipossia d'ascesa” si fa riferimento alla perdita di conoscenza cui va incontro un apneista quando la pressione parziale di ossigeno è inferiore ad una certa soglia, circa di 20-30 mmHg. Tali valori sono estremamente proibitivi, considerando che la PaO₂ si aggira intorno ad 80-100 mmHg ²⁷.

L'ipossia è la scarsa disponibilità di ossigeno nei tessuti, tale stato in ambiente subacqueo è causato dal consumo di ossigeno derivato dal lungo tempo di sospensione del respiro che si somma alla riduzione della pressione ambientale che

agisce sulla cassa toracica e sui gas in essa contenuti; durante la fase di risalita al diminuire della pressione ambientale vi è una concomitante riduzione della pressione dei gas a livello alveolare, che potrebbe invertire il flusso dell'ossigeno dai vasi alle vie aeree³⁰ riducendo il quantitativo di ossigeno per gli organi e tessuti.

La perdita di conoscenza è una reazione protettiva messa in atto dal cervello, in caso di ridotto apporto di ossigeno, fondamentale per il suo metabolismo, per salvaguardare sé stesso ed evitare danni.

In tale stato di incoscienza, i vari organi e la muscolatura, tranne quella del miocardio, evitano di consumare ossigeno lasciandolo disponibile per il cervello²³

In base alla severità dell'ipossia un apneista può andare incontro a perdita di conoscenza (loss of conscience LOC) oppure a perdita del controllo motorio (loss of motor control – LMC).

In caso di LMC il soggetto non arriva alla perdita di conoscenza ma potrebbe manifestare: contrazioni involontarie degli arti, spasmi, stati di confusione e difficoltà nel parlare³¹.

La perdita di coscienza può verificarsi negli apneisti anche in caso di un'iperventilazione effettuata prima dell'immersione. Tale metodica prevede di compiere delle respirazioni profonde e controllate per ridurre l'anidride carbonica (stato di ipocapnia) presente nei polmoni e aumentare le scorte di ossigeno.

Durante l'immersione l'O₂ viene consumato per garantire il metabolismo cellulare, portando ad uno stato di ipossia. Il trigger che promuove la respirazione non è ipossico ma è ipercapnico. L'iperventilazione ritarda l'accumulo di CO₂, quindi l'apneista va incontro ad ipossia prima di avere il trigger respiratorio (figura 8).

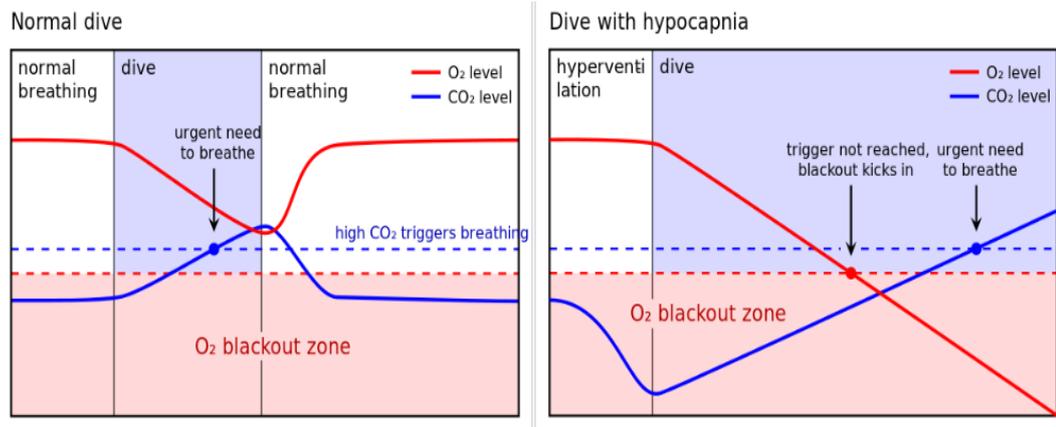


Figura 8. Pericolo dell'iperventilazione prima dell'immersione in apnea. Tratto da https://en.wikipedia.org/wiki/Freediving_blackout

L'iperventilazione è quindi sconsigliata, gli apneisti esperti usano altre tecniche per massimizzare il volume d'aria introdotto ³¹.

3.3 Edema polmonare da immersione (IPE)

L'edema polmonare da immersione è una malattia multifattoriale data dalla combinazione di diversi fattori che portano ad un infiltrato di liquido negli alveoli polmonari ¹⁶³²

I fattori che contribuiscono all'IPE sono ³³:

- Aumento della differenza di pressione tra alveoli e capillari con passaggio di liquido nelle vie aeree
- Aumento del volume sanguigno nel torace
- Vasocostrizione eccessiva dei vasi polmonari
- Danno capillare indotto dall'aumento della pressione idrostatica

Questa condizione patologica può accompagnarsi a sintomi quali dispnea, tosse, emottisi ³³ ma anche a ipossiemia infiltrato polmonare bilaterale ¹

Inoltre tale patologia sembra manifestarsi maggiormente in seguito ad immersioni in acqua con una bassa temperatura; il freddo provoca una maggiore

vasocostrizione rispetto all'acqua calda, aumentando il flusso venoso a livello del torace e la pressione dei vasi alveolari provocando stress ai capillari ³².

3.4 Patologie da decompressione

La patologia da decompressione o decompression illness (DCI) racchiude in sé una pletora di manifestazioni patologiche legate alla presenza di bolle nel flusso sanguigno o nei tessuti dopo o durante la fase di decompressione (risalita verso la superficie) ³⁴ prevalentemente a causa di un accumulo e della ridotta eliminazione dell'azoto ²⁷.

L'accumulo di azoto è dovuto al susseguirsi di ripetute immersioni, quando l'intervallo di tempo trascorso in superficie tra un'immersione e l'altra non è sufficiente a eliminare l'eccesso di gas inerte presente nell'organismo.

Con l'aumento della pressione ambientale i gas presenti nel polmone diminuiscono di volume, si comprimono, generando un gradiente pressorio maggiore tra gli alveoli e il flusso ematico capillare, con conseguente passaggio e dissoluzione dei gas dalle vie aeree al circolo sanguigno e successivamente ai tessuti, fino alla saturazione ³⁵.

La patologia da decompressione si manifesta prevalentemente tramite due meccanismi fisiopatologici:

- malattia da decompressione (DCS o MDD): malattia causata dalla formazione di bolle gassose di azoto all'interno dei tessuti quando questo gas non viene eliminato.

Essendo l'azoto più liposolubile dell'ossigeno tende a disciogliersi più facilmente nei tessuti all'aumentare della profondità. Durante o successivamente alla fase di decompressione (risalita), con l'aumento del proprio volume l'azoto tende a ritornare in fase gassosa e aggregandosi a formare delle microbolle ³⁵.

Le DCS vengono classificate in:

- ❖ Tipo 1: caratterizzate da dolore muscolare, manifestazioni cutanee e sintomatologia soggettiva.

- ❖ Tipo 2: caratterizzate da formicolio, parestesie, intorpidimento in concomitanza di debolezza muscolare e deficit mentali e motori ¹.
- embolia gassosa arteriosa (arterial gas embolism - AGE): malattia che si presenta successivamente ad un barotrauma polmonare (dovuto ad una rapida variazione della pressione ambientale) che provoca danno e rottura degli alveoli, con riversamento di gas nella circolazione arteriosa ³⁵ causando la formazione di emboli gassosi che ostruendo i vasi impediscono il regolare passaggio del flusso ematico ¹

Le cause principali che favoriscono la comparsa dell'AGE sono: la rapida ascesa dell'apneista o una patologia polmonare che blocca all'interno delle vie aeree il gas senza permetterne la fuoriuscita ¹.

I trattamenti utilizzati per contrastare e alleviare i sintomi di tali patologie prevedono di far respirare ai soggetti ossigeno ad una pressione parziale maggiore rispetto a quella normale fin dal primo momento in cui vengono soccorsi (solitamente ossigeno al 100%, che permette di ridurre il volume delle microbolle e di aumentare la velocità di eliminazione del gas inerte dai tessuti e dal circolo sanguigno) e di accedere il prima possibile ad una camera iperbarica (la ricompressione riduce il volume delle bolle di azoto e ne favorisce l'eliminazione. Inoltre permette di ridurre la presenza di edema e la cascata infiammatoria responsabili dell'aggravarsi dell'ischemia) ³⁵. Si tratta quindi di una vera e propria urgenza, per cui ogni subacqueo che si trovi a fare immersioni, in qualsiasi posto nel mondo deve essere consapevole di dove si trova la più vicina camera iperbarica, e di come raggiungerla.

3.5 Narcosi da azoto

La narcosi da azoto è una patologia la cui manifestazione è legata alla profondità e alla tipologia di gas inalato e, nonostante sia stata riscontrata agli albori dell'esplorazione subacquea, risulta ancora di difficile definizione.

Essa consegue all'aumento della pressione parziale dell'azoto nell'organismo durante la discesa che, superata una quota critica identificata con circa 40m (3,2 bar pN₂) provoca nel soggetto sintomi neurocognitivi simili a quelli indotti dalle

sostanze di abuso: euforia, senso di ubriachezza, allucinazioni, percezione distorta, difficoltà di concentrazione, incapacità di eseguire compiti semplici, confusione, perdita di conoscenza ¹ e stati emotivi alterati ²⁸. Il rischio legato a questa manifestazione è che i soggetti compiano degli errori o degli atti inconsulti e vadano incontro a morte per annegamento.

L'entità della narcosi dipende dalla profondità e dal tempo di apnea a quella profondità ¹⁹.

L'azoto è definito gas inerte in quanto non partecipa a nessun processo metabolico e i suoi livelli nel corpo seguono solo la pressione atmosferica: aumenta la pressione parziale con l'aumentare della profondità e salendo in superficie si riduce.

Se il soggetto inizia a sentire gli effetti della narcosi è sufficiente risalire di qualche metro (ridurre la pressione) per diminuire i sintomi ¹. L'utilizzo di miscele di gas con ridotta percentuale di azoto all'interno (esempio Nitrox) riduce la possibilità che si manifesti questa patologia.

CAPITOLO 4: TIPOLOGIE DI IMMERSIONE

Dopo aver spiegato i fenomeni fisiologici e fisiopatologici che avvengono nell'organismo nell'ambiente subacqueo, tale capitolo ha lo scopo di esporre le diverse tipologie di immersione che possono essere svolte in acqua.

Esse sono:

- immersione parziale del corpo
- immersione con utilizzo di un respiratore ausiliario
- immersione in apnea

4.1 Immersione parziale del corpo

Con immersione parziale si intende che una parte percentuale del corpo resta sempre al di sopra della superficie dell'acqua.

La pressione idrostatica esercitata dall'acqua sulla parte del corpo sommersa porta a modificazioni nella dinamica del ritorno venoso, favorendo il ridistribuirsi del flusso sanguigno dalla periferia verso il torace ¹.

L'immersione parziale a diverse temperature viene sfruttata maggiormente in ambito riabilitativo (idrochinesiterapia) e in ambito sportivo (crioterapia).

L'idrochinesiterapia è l'esercizio fisico svolto in acqua calda che sfrutta le proprietà di tale ambiente per ridurre il peso, fornire un effetto miorelassante, volto a favorire il recupero delle funzioni motorie in quei soggetti che hanno subito un infortunio.

La crioterapia è l'immersione parziale del corpo in acqua fredda, utilizzata soprattutto dagli sportivi per facilitare il recupero dopo un allenamento. La vasocostrizione indotta dalla bassa temperatura riduce l'infiammazione, il metabolismo e promuove la biogenesi mitocondriale ³⁶.

4.2 Immersione con utilizzo di un respiratore ausiliario

Per allungare i tempi di permanenza in immersione e raggiungere profondità sempre maggiori sono stati utilizzati dispositivi che permettessero di farlo in assoluta sicurezza, quali i Self-Contained Underwater Breathing Apparatus (SCUBA).

Tali sistemi sono classificati in ³⁷:

- Circuito aperto: il gas espirato viene rilasciato direttamente nell'ambiente; un grande volume di gas inerte viene esalato nell'ambiente e una grande quantità di ossigeno non viene riutilizzata.

Tali dispositivi vengono utilizzati prevalentemente a scopo ricreativo ma con l'utilizzo di specifiche accortezze anche a scopo professionale.

- Circuito chiuso: il gas espirato viene eliminato, lavato dall'anidride carbonica, arricchito di ossigeno, così da poter essere nuovamente utilizzato.

Tale dispositivo è più complesso del precedente, richiede un numero maggiore di ore di allenamento e un costante monitoraggio del gas nel sistema. Viene utilizzato prevalentemente a scopo militare (in quanto tale dispositivo non emettendo bolle verso la superficie riduce la possibilità di

essere avvistati) o professionale fino ad una profondità di 9m (12 in ambito militare).

Le bombole utilizzate possono contenere diverse tipologie di gas, quali:

- Aria: la miscela più comune e sicura negli sport di immersione (21% O₂ e 78% azoto).

Tuttavia, a profondità superiori ai 30m, l'eccesso di azoto nel circolo sanguigno può portare a patologie quali: narcosi da azoto e DCS.

- Nitrox: miscela di gas dove si aumenta la percentuale di ossigeno (dal 21% al 32-36%) e si diminuisce quella dell'azoto.

Si usa tale miscela per ridurre il rischio di narcosi di azoto e DCS scendendo ad elevate profondità.

- Trimix: miscela di gas composta da elio (30%), ossigeno (20%) e nitrogeno (50%). Le percentuali possono essere variate a seconda della profondità che si vuole raggiungere.

Respirare tale miscela riduce le resistenze respiratorie, permettendo di respirare con maggiore facilità ad elevate profondità. Inoltre diminuisce il rischio di narcosi da azoto e di tossicità dell'ossigeno.

4.3 Immersione in apnea

L'apnea o breath hold diving (BHD), fulcro di questo esperimento e di questa tesi, è un'attività insita nell'uomo e prevede di trattenere il respiro volontariamente, per tutta la durata dell'immersione, con o senza l'uso di equipaggiamento. In tale attività, le modificazioni fisiologiche nell'organismo sono influenzate dal tempo di sospensione del respiro e dalla profondità raggiunta ¹

I primi esperimenti riguardanti l'apnea si legano all'esperienza di campioni quali Enzo Maiorca, Jacques Mayol e le pescatrici Ama ³⁸.

Infatti molti popoli di pescatori sono sopravvissuti grazie all'utilizzo di affinate tecniche di apnea.

Fino ad alcuni anni fa si ipotizzava che la massima profondità raggiungibile fosse data dal rapporto tra la capacità polmonare totale (CPT) e il volume residuo (VR). Con l'aumento della profondità i polmoni verrebbero sempre più compressi e il volume si avvicinerebbe a quello residuo, con il rischio di una potenziale rottura polmonare vascolare (si ipotizzava che la massima profondità raggiungibile fosse di 30 – 35 m)¹.

Tali ipotesi furono smentite con l'avvento dell'apnea sportiva e si aprirono le porte verso nuove sfide e record di profondità svolti in apnea.

Competizioni in apnea

Attualmente sono due le organizzazioni internazionali che regolamentano su scala mondiale le competizioni agonistiche svolte in apnea:

1. Association Internationale pour le Développement de l'Apnée (AIDA) - www.aidainternational.org
2. Confédération Mondiale des Activités Subaquatiques (CMAS) – www.cmas.org

Le competizioni sono classificate in base al tipo immersione e all'equipaggiamento utilizzato durante la fase di discesa e quella di risalita; esse sono:

- Apnea statica o static apnea: tale disciplina, svolta in piscina, prevede che l'atleta sia immerso con tutto il corpo sotto la superficie dell'acqua e che vi resista il più a lungo possibile mentre trattiene il respiro ²⁷.
- Apnea dinamica: in tale disciplina l'atleta tenta di percorrere la maggiore distanza “orizzontale” possibile trattenendo il respiro e con la faccia sott'acqua.

In caso l'atleta faccia utilizzo di pinne si parlerà di “apnea dinamica con attrezzi (DYN)”, in caso contrario si parlerà di “apnea dinamica senza attrezzi (DNF)”²⁷.

- Apnea in assetto costante: l'atleta scende e risale dalla profondità prefissata seguendo un cavo guida senza alterazioni dell'assetto.
Per compiere tale attività l'atleta può nuotare oppure utilizzare le pinne ²⁷.
- Apnea in assetto variabile: l'atleta si fa trainare da una slitta, agganciata ad un cavo verticale, durante la discesa e risale con le proprie forze ²⁷
- Apnea in assetto variabile assoluto (apnea no-limits): l'atleta viene trainato da una slitta durante la fase di discesa, giunto alla profondità target, risale in superficie utilizzando un galleggiante. Inoltre la performance viene effettuata con i piedi rivolti verso il fondale ²⁷.
- Apnea in immersione libera: l'atleta scende e risale dalla profondità prefissata senza utilizzare equipaggiamenti, utilizzando le braccia per trainarsi lungo il cavo guida ²⁷.

Record attuali (www.aidainternational.org):

- Il polacco Malina Mateusz e il greco Panagiotakis Giorgos: 300 m di profondità nella specialità di apnea dinamica con uso di pinne.
- Il polacco Malina Mateusz: 250 m di profondità nella specialità di apnea dinamica senza l'uso di pinne.
- Il francese Mifsud Stéphane: tempo di 11.35 min nella specialità di apnea statica.
- L'austriaco Nitsch Herbert: 214 m di profondità nella specialità di apnea no limits
- Il tunisino Boudhiaf Walid: 150 m di profondità nella specialità di apnea con assetto variabile.
- Il russo Molchanov Alexey: 130 m di profondità nella specialità di apnea con assetto costante; 125 m di profondità nella specialità di apnea in immersione libera.
- Il neozelandese Trubridge William: 102 m di profondità nella specialità di apnea con assetto costante senza pinne.

- La polacca Solich-Talanda Magdalena: 207 m di profondità nella specialità di apnea dinamica senza l'uso di pinne; 277 m di profondità nella specialità di apnea dinamica con uso di pinne.

CAPITOLO 5: MONITORAGGIO FISIOLOGICO IN AMBIENTE SUBACQUEO

Il fatto stesso che le attività di apnea e SCUBA si svolgano in ambiente acquatico rende estremamente difficile lo studio della variazione dei parametri fisiologici in risposta al tempo di immersione e alla profondità della stessa.

Numerosi sono stati gli esperimenti che hanno permesso di indagare le risposte fisiologiche all'immersione tramite l'utilizzo di dispositivi diagnostici scafandrati per resistere alla pressione. Tuttavia, spesso le misurazioni vengono effettuate alla riemersione del soggetto, come ad esempio l'esecuzione di ecografie polmonari che mostrano inibizione tissutale, probabilmente imputabile ad edema polmonare³⁹ o le ecografie cardiache che mostrano la presenza di microbolle, ovvero emboli gassosi, in particolare nel circolo venoso⁴⁰.

Attualmente il gold standard per l'analisi della pressione parziale dei gas durante l'attività subacquea è rappresentato dall'emogasanalisi arteriosa ottenuta in profondità. Questa pionieristica tecnica è stata proposta dal gruppo di Padova del Professor Bosco e ha permesso di dimostrare come in profondità la pressione di ossigeno aumenti per poi diminuire durante la risalita⁴¹.

Essa consiste nell'inserimento di un catetere nell'arteria radiale del braccio non dominante (figura 9) dei soggetti, così da ottenere i reali valori delle pressioni parziali dei gas e valutarne i cambiamenti alle diverse profondità.



Figura 9. Immagine del circuito del catetere arterioso per ottenere l'emogas in profondità. Tratto da Bosco et al, 2018.

Durante il primo esperimento effettuato con tale metodica si è osservato un incremento della pressione parziale arteriosa di ossigeno (PaO_2) all'aumentare della profondità, con relativo stato di iperossia alla massima profondità (-40m). Si è osservato inoltre uno stato di ipossia al termine dei tuffi, dovuto alla riduzione della PaO_2 con il diminuire della profondità.

Sorprendentemente, non si è osservato un incremento della PaO_2 in tutti i soggetti. Due dei sei soggetti arruolati per lo studio presentavano una PaO_2 ridotta. Per spiegare tale fenomeno si è ipotizzato che vi fosse un mismatch ventilazione/perfusione e uno shunt destro-sinistro intrapolmonare dovuto ad atelettasia causata dalla riduzione del volume polmonare in seguito all'aumento di pressione (Figura 10) ⁴¹.

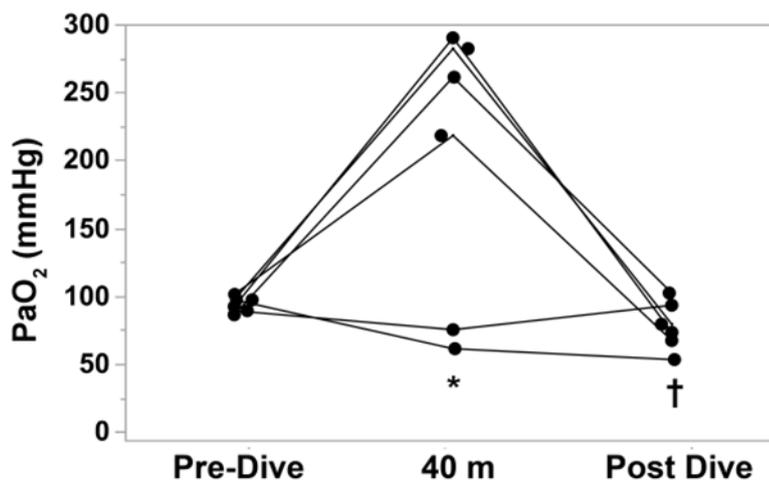


Figura 10. Grafico della variazione della PaO₂ in un'immersione a -40m. Tratto Bosco et al, 2018.

In un altro studio, eseguito sempre con l'utilizzo del catetere arterioso, si è osservato come uno sforzo fisico svolto in acqua provocasse una drastica riduzione dei valori della PaO₂ rispetto alle immersioni che non lo prevedevano. Il maggior consumo di ossigeno provocato dallo sforzo fisico spiegherebbe la riduzione dei valori della PaO₂ e l'insorgere del blackout negli apneisti. I valori minimi registrati mostrano una PaO₂ alla riemersione di 19 mmHg⁴².

La variazione dei livelli di CO₂ risulta invece meno pronunciata, probabilmente per la presenza di sistemi buffer che tamponano queste transitorie variazioni o per il fatto che, essendo molto liposolubile, essa possa disciogliersi nel sangue oppure immagazzinarsi nei tessuti⁴¹. Anche le variazioni del pH risultano poco pronunciate, sempre grazie alla presenza di sistemi tampone.

CAPITOLO 6: MONITORAGGIO SUBACQUEO NON INVASIVO

Metodi invasivi come l'emogasanalisi arteriosa non sono sempre applicabili, specialmente in contesti non sperimentali, per tale motivo sono stati testati con scarso successo dispositivi come i pulsossimetri, le cui funzionalità e praticità sono limitate in ambiente acquatico.

La necessità quindi di introdurre dispositivi di monitoraggio funzionali e non invasivi, utilizzabili in contesti sportivi e ricreativi è molto forte.

A tale proposito, nel progetto “Breath-Hold Diving: Mechanism of Hypoxemia and Decompression Stress”, finanziato con un grant di Office of Naval Research (ONR), American Navy USA, e oggetto di questa tesi, si è convenuto di utilizzare un dispositivo tratto dall’ambiente intensivistico e di sala operatoria.

La spettroscopia nel vicino infrarosso o Continuous Wave – Near Infrared Spectroscopy (CW-NIRS), è una tecnologia che dopo una lunga gestazione sta trovando sempre più impiego in ambito clinico e sperimentale.

Per questo esperimento è stata incorporata in un dispositivo scafandrato, indossabile e non invasivo che sfrutta la spettroscopia a infrarosso a onde continue per il monitoraggio e la registrazione di diversi parametri fisiologici quali:

- cambiamenti emodinamici a livello di microcircolo,
- variazione di ossigenazione tissutale,
- saturazione dell’emoglobina nel sangue arterioso,
- frequenza cardiaca.

L’utilizzo della luce per indagare le proprietà dei tessuti è stato protagonista di numerosi studi volti ad approfondire tale tematica, fino alla comprensione che era possibile utilizzare la luce nello spettro del vicino infrarosso al fine di monitorare la saturazione dell’ossigeno in un tessuto o a livello cerebrale in modo continuativo se non invasivo.

Le misurazioni vengono effettuate posizionando coppie di sorgenti e rilevatori di luce infrarossa sulla zona target. Convenzionalmente vengono utilizzate almeno due differenti lunghezze d’onda al fine di indagare e discriminare l’andamento delle concentrazioni dell’emoglobina ossigenata e deossigenata nel tempo.

Oggi l’impiego della NIRS riguarda svariati ambiti di ricerca tra cui la neurologia clinica, le neuroscienze cognitive e la valutazione dell’ossigenazione cerebrale neonatale.

L'utilizzo di tale strumentazione offre un metodo non invasivo per il monitoraggio in tempo reale di parametri emodinamici in una vasta gamma di scenari clinici, permettendo di valutare lo stato di salute dei soggetti e facilitando l'identificazione del corretto intervento terapeutico ⁴³.

6.1 Funzionamento della NIRS

La spettroscopia nel vicino infrarosso è nata dalla necessità di ampliare le conoscenze su una tecnologia non invasiva ma che permettesse di rilevare gli stessi valori delle misurazioni invasive. La NIRS basa il suo funzionamento sul principio della spettroscopia ad infrarossi. Quando un'onda elettromagnetica con lunghezza d'onda nello spettro dell'infrarosso viene assorbita da una molecola, questa passa dal suo stato di minima energia (definito stato vibrazionale fondamentale) ad uno stato eccitato.

Essendo il tessuto un materiale non trasparente si verificano degli assorbimenti, dovuti alla presenza delle molecole che compongono lo stesso e dove si verificano delle transizioni degli elettroni tra i diversi livelli energetici creando un segnale misurabile.

I principi di funzionamento del dispositivo NIRS si basano su:

ASSORBIMENTO

In fisica, l'assorbimento è la capacità di un materiale di assorbire l'energia associata alla radiazione elettromagnetica che si propaga all'interno di esso.

L'entità dell'assorbimento dipende dalla concentrazione di molecole (cromofori), costituenti il tessuto, dal loro coefficiente di estinzione, e dal diametro del tessuto attraversato.

Il coefficiente di estinzione rappresenta la quantità di luce che una molecola posta in una soluzione unitaria è in grado di assorbire ad una certa lunghezza d'onda. Tale valore differisce tra molecola e molecola (es. la luce visibile (lunghezza d'onda

compresa tra i 450 – 700 nm) non riesce ad attraversare tessuti di diametro superiore al millimetro in quanto viene completamente assorbita durante il suo passaggio) ⁴⁴.

Con le lunghezze d'onda dell'infrarosso (650 – 900 nm) i costituenti elementari della radiazione elettromagnetica (fotoni) sono in grado di penetrare e illuminare in profondità il tessuto ⁴⁴ e le prime molecole che assorbono la luce sono i cromofori complessati a metalli, tra cui la bilirubina, i citocromi, l'ossiemoglobina (HbO₂), la deossiemoglobina (Hb) ⁴⁵.

Queste ultime due presentano diversi gradi di assorbimento in base al loro stato di ossigenazione ⁴³ più precisamente tra i 650 – 1000 nm per la deossiemoglobina e tra i 700 -1150 per l'ossiemoglobina ⁴⁵.

Inoltre, contribuiscono all'assorbimento e alle misurazioni della NIRS cromofori quali: acqua, lipidi. Tali componenti presentano diversi spettri di assorbimento a causa di lunghezze d'onda differenti rispetto a quelle ad infrarosso ⁴⁶

Per quantificare l'entità d'assorbimento (Assorbanza o densità ottica (OD)) della luce si utilizza la legge di Beer-Lambert:

$$A = \log(I_0/I) = \alpha \cdot c \cdot d$$

Dove:

A = Assorbanza o densità ottica (OD)

I₀ = intensità luce entrante

I = intensità luce uscente dal tessuto

α = coefficiente di estinzione

c = concentrazione dei cromofori

d = distanza percorsa dal raggio luminoso nel tessuto

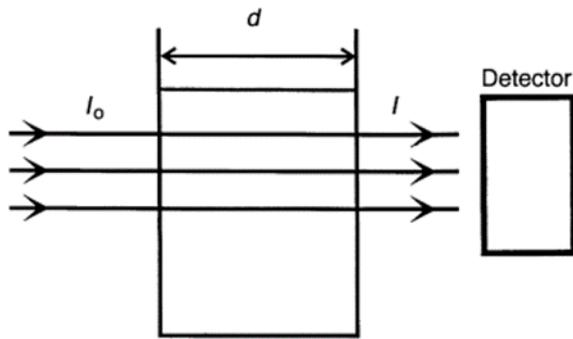


Figura 11. Fenomeno dell'assorbimento. Tratto da Owen-Reece et al, 1999.

I tessuti contengono diversi cromofori e l'attenuazione totale della luce ad una lunghezza d'onda è data dal contributo di tutte le molecole; la formula esposta precedente risulterà quindi:

$$A = [\alpha_1 c_1 + \alpha_2 c_2 + \alpha_3 c_3 + \alpha_4 c_4 + \dots \alpha_n c_n] d$$

SCATTERING

Il fenomeno di scattering o di dispersione è la deviazione del fascio luminoso dalla sua traiettoria in linea retta, dovuto alla presenza di particelle all'interno del tessuto. Tale fenomeno aumenta la distanza percorsa dalla luce e di conseguenza aumenta l'assorbimento di essa da parte del tessuto.⁴⁶

Inoltre lo scattering è 100 volte più probabile rispetto all'assorbimento.⁴⁷

A causa dello scattering i fotoni percorrono una distanza media maggiore rispetto alla distanza geometrica (d), definita lunghezza del percorso differenziale (DP); il fattore di scala che lega d e DP viene definito fattore di lunghezza del percorso differenziale (DPF)⁴⁶

A causa di tale fenomeno di scattering parte del segnale in uscita non viene registrato dal rilevatore (figura 8).

Tenuto conto quindi dell'esistenza di tale fenomeno, non può essere utilizzata la sovra-citata legge di Beer-Lambert poiché non ne tiene conto di tale fenomeno, di

conseguenza il calcolo dell'assorbanza (densità ottica) dei cromofori viene fatto utilizzando la Legge modificata di Beer-Lambert (MBLL):

$$A = \log(I_0/I) = \alpha \cdot c \cdot d \cdot DPF + G$$

I_0 = intensità luce entrante

I = intensità luce uscente dal tessuto

α = coefficiente di estinzione

c = concentrazione dei cromofori

d = distanza percorsa dal raggio luminoso nel tessuto

DPF = fattore di lunghezza del percorso differenziale: parametro che tiene conto della variazione della lunghezza del percorso dei fotoni per effetto dello scattering

G = parametro che tiene conto della perdita dell'intensità dei fotoni a causa dello scattering

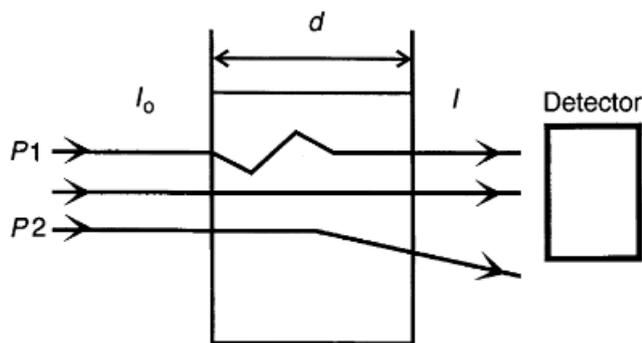


Figura 12. Effetto dello scattering. Tratto Owen-Reece et al, 1999.

6.2 Campi di applicazione

L'applicazione della tecnologia NIRS nello studio della fisiologia umana è aumentato in modo significativo negli ultimi anni, e in diversi ambiti, tra cui: esercizio fisico, ambito clinico, immersioni in apnea.

Tale capitolo vuole esporre i principali utilizzi di tale tecnologia non invasiva nei diversi ambiti:

NIRS e Clinica

In campo clinico insieme ai metodi tradizionali per misurare l'ossigenazione tissutale (emogasanalisi, ossimetria da polso, catetere arterioso polmonare), si sono introdotte nuove tecnologie, come la NIRS nel controllo della salute dei pazienti.

Al giorno d'oggi diverse compagnie, quali Nonin Medical Inc. (Plymouth, MN, USA), Hutchinson Technology Inc. (BioMeasurement Division, Hutchinson; MN, USA), Covidien (Dublin, Ireland) mettono a disposizione tale tecnologia per controllare in modo non invasivo e in tempo reale la saturazione di ossigeno a livello cerebrale e l'ossigenazione tissutale periferica⁴³ al fine di effettuare una migliore diagnosi e valutazione di eventuali danni cerebrali (trauma cerebrale, ipossia)⁴⁸.

La luce del vicino infrarosso riesce ad attraversare i tessuti, tra cui quello osseo, permettendo di monitorare in tempo reale la saturazione dell'emoglobina nel flusso cerebrale (es. durante un intervento cardiaco). Tale parametro è un importante indicatore fisiologico che riflette il bilancio tra la disponibilità e l'utilizzo dell'ossigeno⁴³.

Il continuo monitoraggio di tale parametro permette di valutare la risposta del paziente all'efficacia della terapia (es. dopo somministrazione di un broncodilatatore), prevenire complicazioni post-operatorie, valutandone il grado di ipossia⁴⁹.

Per misurare il grado di ossigenazione tissutale a livello periferico la NIRS solitamente viene applicata sulla cute dell'avambraccio e dell'eminanza tenar della mano:

L'avambraccio offre un ottimo punto di applicazione per la NIRS, garantendo una buona registrazione dei dati anche in caso di movimento da parte dei pazienti; inoltre è una zona predominante di vasocostrizione durante stress circolatori e le risposte vascolari avvengono prima e in modo più intenso in tale sede rispetto alle altre parti del corpo.

A livello della mano vi è una minor differenza inter-individuale, un minor accumulo di grasso sottocutaneo e una ridotta formazione di edema rispetto alle altre parti del corpo, garantendo una misurazione più omogenea da parte della NIRS⁴³.

Infine, la tecnologia NIRS, grazie alla sua non invasività e al fatto di essere facilmente applicabile/indossabile viene utilizzata per monitorare la saturazione di emoglobina anche in neonati e bambini in età pediatrica⁴⁹.

Un esempio pratico è l'utilizzo della NIRS per valutare gli effetti dei farmaci broncodilatatori su soggetti che soffrono di broncopneumopatia ostruttiva cronica (COPD) e come cambia la disponibilità di ossigeno a livello muscolare durante il movimento⁵⁰.

NIRS e Sport

La NIRS è una tecnica ottica non invasiva che permette di monitorare il grado di ossigenazione sia a livello cerebrale che a livello della muscolatura⁵¹. Inoltre permette, grazie alle sue dimensioni ridotte e al fatto di essere indossabile, di ottenere i dati di soggetti (sia sani che fragili) durante la locomozione o durante lo svolgimento degli esercizi.

Ad oggi, i principali indicatori usati per valutare la capacità fisica e l'intensità di allenamento sono⁵²:

- VO₂Max (massimo consumo di ossigeno): rappresenta la capacità che ha l'atleta di utilizzare l'ossigeno inspirato a livello cellulare. Tuttavia, i costi

della strumentazione, l'assenza di un personale qualificato e lo scarso impegno da parte del soggetto per uno sforzo massimo possono limitare l'acquisizione di tale valore.

- Lattato: prodotto del metabolismo degli zuccheri in condizioni di anaerobiosi. La sua misurazione richiede un prelievo di sangue capillare, solitamente effettuato sul lobo dell'orecchio. Inoltre l'atleta deve essere in una condizione di comfort (sulla bike il soggetto è seduto) che permetta di effettuare il prelievo con facilità (sul treadmill, col soggetto in continuo movimento è più complicato bucare il lobo).
- Frequenza cardiaca (FC): il rilevamento di tale dato durante l'allenamento o la competizione permette di osservare come l'atleta reagisce allo sforzo e di impostare l'intensità corretta per le capacità attuali dell'atleta. Tuttavia la sua misurazione può risentire di vari fattori, come: lo stato emotivo, il grado di riposo e di idratazione e le condizioni ambientali (caldo, freddo, umidità, ora del giorno, altitudine).

La NIRS applicata sulla muscolatura permette di rilevare i cambiamenti di concentrazione di emoglobina (Hb), mioglobina (Mg), citocromo ossidasi e del volume sanguigno nei piccoli vasi al variare della tipologia esercizio svolto, permettendo di determinare l'intensità di allenamento.

L'interazione e la combinazione delle variabili dell'allenamento (tipologia di contrazione, velocità del movimento, ripetizioni, serie, recupero) influenzano la performance e il manifestarsi della fatica.

La fatica è un fenomeno complesso attribuibile alla combinazione di fattori neuronali (ridotta stimolazione dei motoneuroni) e fattori muscolari (riduzione di PCr e aumento di ioni H⁺). Inoltre anche l'ischemia localizzata causa fatica muscolare, in quanto vi è una ridotta disponibilità di ossigeno a livello tissutale.

L'utilizzo della NIRS come metodica non invasiva applicata sul muscolo, permette di valutare i cambiamenti di ossigenazione a livello muscolare a seguito di ogni tipologia di esercizio ⁵² aumentando la comprensione di come agiscano le singole variabili di allenamento sulla performance e lo sviluppo della fatica.

Tale tecnologia è stata testata su ciclisti, maratoneti, triatleti al fine di determinarne la soglia anaerobica. Tale soglia (impostata a 4 mmol/litro), rappresenta il punto in cui aumentando ancora l'intensità dello sforzo si ha un accumulo di lattato che riduce la capacità del muscolo di contrarsi e generare tensione. Si è riscontrata una correlazione positiva ($r > 0,90$) tra la soglia anaerobica e la percentuale di saturazione di ossigeno (calcolata dai valori di ossiemoglobina e deossiemoglobina rilevati dalla NIRS) durante un test incrementale.

Questi risultati hanno dimostrato che la NIRS è uno strumento appropriato per determinare in maniera non invasiva l'intensità di allenamento ^{52,53}.

Un altro esempio pratico è l'utilizzo della NIRS su atleti power-lifter, dove venivano misurate le concentrazioni di HbO₂, Hb deossigenata ed Hb totale (HbO₂ + Hb ridotta) durante e successivamente allo svolgimento di 10 ripetizioni di one-arm curl (esercizio comune in chi pratica tale attività) ad una intensità tra il 70-75%.

Si è osservato come le continue contrazioni causassero una restrizione del flusso sanguigno nella muscolatura, con successiva diminuzione della disponibilità di ossigeno a livello tissutale e come questo portasse ad un aumento nella sezione trasversale (ipertrofia) delle fibre ossidative (tipo I) ⁵⁴.

NIRS e Immersione

In ambito subacqueo la tecnologia NIRS è stata applicata inizialmente sui mammiferi marini, come le foche, con lo scopo di rilevare i cambiamenti nella distribuzione sanguigna e della concentrazione di emoglobina durante le loro lunghe immersioni. Si è riscontrato che il riflesso da immersione nei mammiferi marini, a differenza di quello dell'uomo è in parte sotto il controllo volontario dell'animale (15 secondi prima dell'immersione vi è una redistribuzione del volume sanguigno verso gli organi vitali) ⁵⁵.

Successivamente, visti i promettenti risultati di questi esperimenti si è pensato di espandere l'utilizzo anche su oggetti umani. Oltre alla nostra, un solo esperimento è stato eseguito finora da Mcknight et al. Esso ha dimostrato come la tecnologia NIRS può essere uno strumento non invasivo affidabile nelle misurazioni delle

variazioni di ossigenazione cerebrale, emodinamiche e cardiache in risposta alle immersioni a profondità elevate ⁵⁶.

3) SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è quello di verificare e confrontare l'affidabilità del un nuovo algoritmo applicato al sistema non invasivo Continuous-Wave Near Infrared Spectroscopy (CW-NIRS) per il rilevamento della saturazione arteriosa di ossigeno (SpO_2) alle diverse profondità (15m e 42m) con il vero valore della saturazione arteriosa (SaO_2) ricavato tramite prelievo arterioso (emogasanalisi).

4) MATERIALI E METODI

4.1 Disegno sperimentale

Il protocollo sperimentale del progetto “Breath-Hold Diving: Mechanism of Hypoxemia and Decompression Stress”, finanziato da un grant di Office of Naval Research (ONR), American Navy USA, è stato approvato dal Comitato Etico del Dipartimento di Scienze Biomediche dell’ Università di Padova (n° HEC-DSB/03-18).

Tutti i soggetti hanno firmato il consenso per fare parte di questo studio.

Gli esperimenti sono stati svolti nell’arco di due anni (dal 1 giugno 2020 al 31 maggio 2022), nel centro “Y-40 THE DEEP JOY” di Montegrotto Terme (Padova, Italia). Questa struttura ospita la terza piscina più profonda al mondo, organizzata su diversi livelli fino a toccare i 42,5 m di profondità. L’acqua della piscina è di origine termale e mantiene la temperatura di 31 C°.

Nel progetto sono stati coinvolti 12 apneisti ben allenati, ai quali è stata posizionata una cannula arteriosa nell’arteria radiale dell’arto non dominante prima di effettuare le immersioni.

Successivamente è stato chiesto agli apneisti di effettuare delle immersioni di riscaldamento a 5m, 10m e a 25m prima di effettuare due tuffi alle profondità richieste (15m e 42m) (figura 13).

I campioni di sangue sono stati prelevati tramite il catetere arterioso in diversi momenti dell’esperimento:

- I. immediatamente prima dell’immersione in profondità, con la testa immersa sotto la superficie dell’acqua;
- II. sul fondo;
- III. in superficie, prima della rottura dell’apnea con la faccia sotto la superficie dell’acqua.

I prelievi arteriosi sono stati effettuati da due medici: uno posto in superficie e l'altro sul fondo, equipaggiato con attrezzatura SCUBA. Inoltre i soggetti sono stati accompagnati durante l'immersione da un istruttore, che li assisteva in caso di emergenza.

Le analisi ematiche sono state effettuate sul posto tramite un emogasanalizzatore e i principali valori arteriosi facevano riferimento a:

- pH
- pressione parziale di O₂ e CO₂
- lattato
- saturazione arteriosa di ossigeno (SaO₂)

Il dispositivo CW-NIRS è stato indossato dai soggetti precedentemente al riscaldamento e ha registrato le variazioni dell'ossigenazione cerebrale, il volume ematico cerebrale, la frequenza cardiaca e la saturazione arteriosa di ossigeno (SpO₂) durante le immersioni.

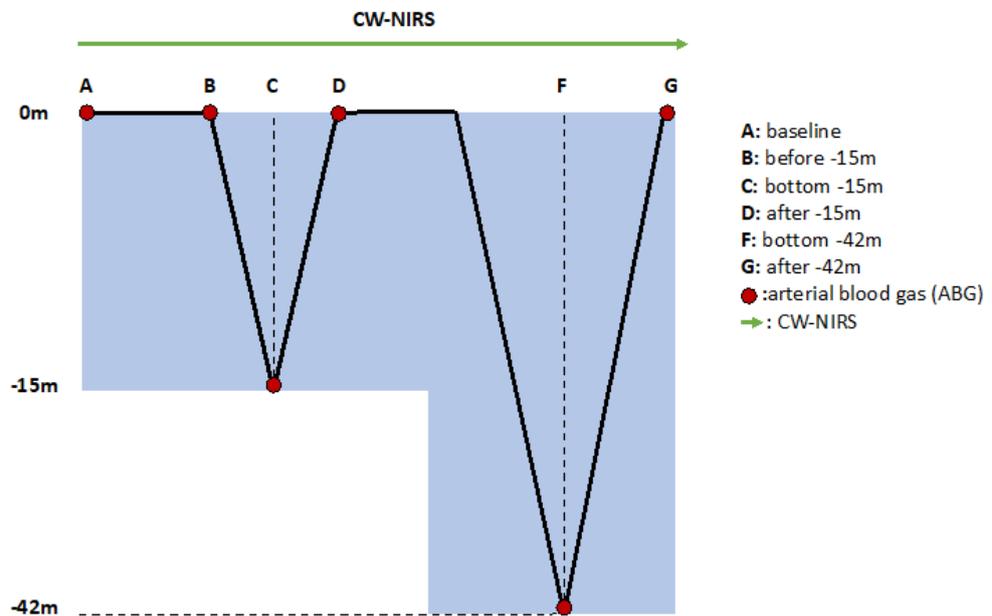


Figura 13. Rappresentazione schematica del disegno sperimentale con i momenti e le profondità dei prelievi e il profilo di immersione.

4.2 Soggetti

Lo studio è stato effettuato su dodici apneisti ben allenati, reputati idonei all'esperimento dopo aver effettuato un'anamnesi completa riguardo le condizioni di salute (tabella 1) e aver raccolto i loro principali parametri antropometrici e la pressione arteriosa a riposo (tabella 2).

Età inferiore ai 18 anni
Gravidanza attiva
Assenza di disturbi cardiovascolari gravi
Assenza di disturbi renali gravi
Assenza di disturbi metabolici gravi
Non idoneità alla pratica degli sport acquatici
Vasculopatie

Tabella 1: criteri di esclusione per la selezione dei soggetti

Soggetto	Genere	Età	Peso (Kg)	Altezza (m)	BMI (Kg/m ²)	Patologie croniche	Pressione sistolica/diastolica (mmHg)
1	M	60	87	1,78	27,5	No	110 / 70
2	F	29	65	1,70	22,5	Ovaio policistico	110 / 70
3	M	64	78	1,71	26,7	Ipertrofia Prostatica	120 / 80
4	M	53	72	1,75	23,5	Psoriasi	120 / 80
5	M	57	80	1,80	24,7	No	130 / 80
6	M	44	78	1,81	23,8	No	125 / 80
7	F	53	65	1,71	22,2	No	110 / 60
8	M	47	89	1,85	26,0	No	120 / 80
9	M	49	91	1,80	28,1	No	115 / 70
10	M	42	84	1,79	26,2	No	120 / 80
11	M	62	70	1,73	23,4	ipertensione	120 / 80
12	M	53	83	1,84	24,5	No	120 / 80
MEDIA	10/12 M	51,1	78,5	1,77	24,9		118,3 / 75,8
DS		9,78	8,89	0,05	1,94		6,15 / 6,69

Tabella 2; sono indicati i valori medi e deviazione standard (DS) per età, peso (Kg), altezza (m), indice di massa corporea (BMI, Kg/m²), pressione sistolica e diastolica (mmHg). Sono inoltre riportati il genere dei soggetti e le eventuali patologie croniche.

4.3 Materiali

La spettroscopia a infrarossi a onda continua (CW-NIRS) è stata eseguita utilizzando un dispositivo PortaSoft prodotto da Artinis, Elst NL appositamente modificato e scafandrato per resistere ad una profondità di circa 1000msw.

Il dispositivo CW-NIRS si compone di:

- un diodo, posto sulla cute nella regione di interesse (per questo esperimento è stato posto a livello della corteccia prefrontale, sopra l'arcata sopracciliare) che emette una luce continua ad intensità costante in una "regione spettrale" o lunghezza d'onda compresa tra i 650 e i 1000 nm che penetra nei tessuti sottostanti,
- un rilevatore, posto pochi centimetri dalla fonte luminosa (2-3 cm) che rileva l'intensità della luce in uscita dopo il suo percorso. La distanza ottimale fonte di luce - rilevatore dipende dall'intensità della luce emessa dal diodo, dalla lunghezza d'onda e dall'età del soggetto,
- una fibra ottica, che trasporta la luce al diodo (input) e riceve i dati dal rilevatore (output) ⁴⁷.

La luce emessa dal diodo ad una certa lunghezza d'onda, nel suo passaggio attraverso i tessuti risente di diversi fenomeni, i quali influiscono sull'intensità rilevata in uscita, ed essi sono ⁴⁵⁴⁶:

- fenomeni di assorbimento
- fenomeni di scattering

I diversi valori dell'intensità della luce in uscita dai tessuti, registrati da un rilevatore posto pochi millimetri dal diodo forniscono i cambiamenti relativi della concentrazione di:

- ossiemoglobina (ΔHbO);
- deossiemoglobina (ΔHHb).

Le variazioni di tali parametri forniscono misure dei cambiamenti del volume sanguigno a livello cerebrale e dell'ossigenazione tissutale, nonché le misurazioni

di: frequenza cardiaca, frequenza respiratoria e saturazione arteriosa di ossigeno (SpO₂).

L'elaborazione del segnale dei dati misurati dalla NIRS avviene in quattro fasi:

1. assumendo costante il rapporto del percorso medio dei fotoni tra 760 nm e 840nm, è stata utilizzata la formula della legge modificata di Beer-Lambert (mBLL) per il calcolo dei cambiamenti di concentrazione di ΔHbO e ΔHHb ;
2. tramite una piattaforma di programmazione per l'analisi dei dati e lo sviluppo di algoritmi (MATLAB), è stato applicato un filtro zero-phase butterworth a 0,5Hz alle concentrazioni di HbO e HHb per rimuovere le interferenze delle basse frequenze;
3. dallo spettrogramma, generato con il metodo sopra citato, tramite la funzione tfridge di MATLAB, è stata ricavata la variazione della frequenza cardiaca (FC) nel tempo;
4. utilizzando la formula $\text{SpO}_2 = \Delta(\text{HbO}(\text{FC})) / (\Delta(\text{HbO}(\text{FC})) + \Delta(\text{Hb}(\text{FC})))$ è stata calcolata la saturazione arteriosa di ossigeno (SpO₂) alla corrispondente frequenza cardiaca (FC).

Infine i valori di SpO₂ sono stati confrontati con quelli della saturazione arteriosa (SaO₂) ottenuti dai prelievi.

Il corpo del dispositivo, connesso via cavo al diodo, è stato agganciato con una cintura attorno al bacino dei soggetti mentre la testa del sensore è stata inserita sotto la cuffia, in corrispondenza della corteccia prefrontale.

4.4 Approccio tecnico

Per questo studio sono stati reclutati 12 soggetti (10 maschi e 2 femmine) sani, ben allenati alla pratica di apnea ed immersione, di età compresa tra i 29 e i 62 anni.

Quattordici giorni prima delle prove è stato organizzato un meeting al fine di esporre a tutti i soggetti il protocollo di ricerca e ottenerne il loro consenso scritto.

Il giorno dell'esperimento, i soggetti sono stati subito sottoposti a screening medico per il controllo dei parametri fisiologici, quali: pressione arteriosa, frequenza

cardiaca, temperatura corporea e pulsossimetria. Inoltre è stato effettuato il test di Allen per la verifica del flusso arterioso a livello delle mani.

Terminata la fase di screening, i membri del team di ricerca (specialisti in medicina d'urgenza o in anestesia) previa anestesia locale, hanno inserito una cannula arteriosa nell'arteria radiale del braccio non dominante dei soggetti. Una volta fissato alla pelle con l'aiuto di una fascia adesiva, il catetere arterioso è stato collegato a un circuito di connettori di tipo Luer Lock al fine di evitare perdite. Ai soggetti è stato spiegato cosa fare in caso di disconnessione da parte della strumentazione e prevenire il sanguinamento.

Al termine dell'esperimento, il catetere arterioso è stato rimosso e il sito di inoculo è stato monitorato per i giorni successivi.

Step 1. Immersione a -15m

Il riscaldamento era standardizzato e prevedeva tre immersioni a differenti profondità: 5m, 10m e 25m. Successivamente, i soggetti hanno effettuato un numero di ventilazioni al minuto target (8-9), con rapporto inspirazione-espiazione 1:2. L'ultimo atto inspiratorio doveva raggiungere la capacità polmonare totale (TLC).

Completata tale fase i soggetti dovevano immergersi e raggiungere la profondità di 15m.

Un istruttore ha accompagnato i soggetti durante tutte le fasi dell'immersione, per garantire sicurezza ed eventuale assistenza in caso di emergenza.

I soggetti hanno effettuato, inoltre, un'ecografia toracica prima, alla massima profondità e dopo l'immersione per verificare la presenza o meno di atelettasie o edema polmonare interstiziale (IPE)

I prelievi di sangue arterioso sono stati effettuati da due medici:

- i. immediatamente prima dell'immersione, con la faccia sotto la superficie dell'acqua

- ii. alla profondità di - 15m
- iii. al termine della risalita, immediatamente prima del ripristino della ventilazione e con la faccia ancora sotto la superficie dell'acqua

Step 2. Immersione a - 42m

Le stesse procedure appena descritte sono state eseguite anche per l'immersione a -42m.

Al fine di avere un tempo sufficiente per ottenere i campioni di sangue alla massima profondità, i soggetti hanno utilizzato una slitta legata al cavo guida.

Inoltre, i soggetti sono stati continuamente monitorati per le 24 ore successive, al fine di individuare precocemente eventuali segni o sintomi della malattia da decompressione (DCI)

4.5 Procedure e misurazioni specifiche

L'emogasanalisi è stata eseguita in loco con un emogasanalizzatore (Start Profile Prime+, Nova Biomedical, Milano, Italia) che ha permesso di ottenere come valori di principale interesse il pH, le pressioni parziali di O₂, CO₂ e il lattato.

Tutti i campioni sono stati analizzati entro pochi minuti dal prelievo. Parte del sangue contenuto nella cannula è stato scartato onde evitare di ottenere valori falsati. Al termine del prelievo è stato eseguito un lavaggio del carattere con soluzione fisiologica.

Le misurazioni con il sistema CW-NIRS sono state effettuate con un sistema di logging indossabile a 3 canali personalizzato. I subacquei sono stati dotati del dispositivo prima dell'immersione fino al completamento di questa. I dati sono stati controllati in tempo reale in collaborazione con la St.Andrews University (UK) per valutarne la conformità e la correttezza.

Le analisi definitive richiederanno una calibrazione dello strumento al termine della raccolta totale dei dati.

I dati NIRS sono stati registrati costantemente durante le immersioni. Al termine dei tuffi di ogni soggetto i dati sono stati scaricati dal dispositivo nel computer. Successivamente il dispositivo è stato resettato, sanificato ed applicato al soggetto successivo.

Tutti i dati raccolti sono stati successivamente inviati per l'elaborazione ai nostri collaboratori e co-investitors del progetto della St. Andrews University, UK.

Infine il dispositivo stesso è stato inviato alla casa produttrice Artinis Medical System, Elst, Olanda per la calibrazione.

5) RISULTATI

I dodici soggetti hanno completato i tuffi senza mostrare sintomi di blackout e senza complicazioni legate al posizionamento del catetere arterioso.

Uno solo dei soggetti ha presentato un problema di compensazione alla prima immersione a -15m che si è risolto in autonomia. Inoltre due analisi NIRS sono state totalmente escluse dall'esperimento e ripetute per la scarsa qualità dei dati ottenuti.

Soggetto	Durata immersione -15m (secondi)	Durata immersione -42m (secondi)
1	116	109
2	42	91
3	63	66
4	112	110
5	100	58
6	77	157
7	70	179
8	63	110
9	66	114
10	/	181
11	135	136
12	119	145
MEDIA e DS	87,55 ± 29,95	121,33 ± 39,76

Tabella 3: durata delle immersioni (secondi) dei singoli soggetti a -15m e -42m con media e deviazione standard del tempo alle due profondità.

I risultati dell'emogasanalisi sono riassunti nei grafici della figura successiva (figura 14):

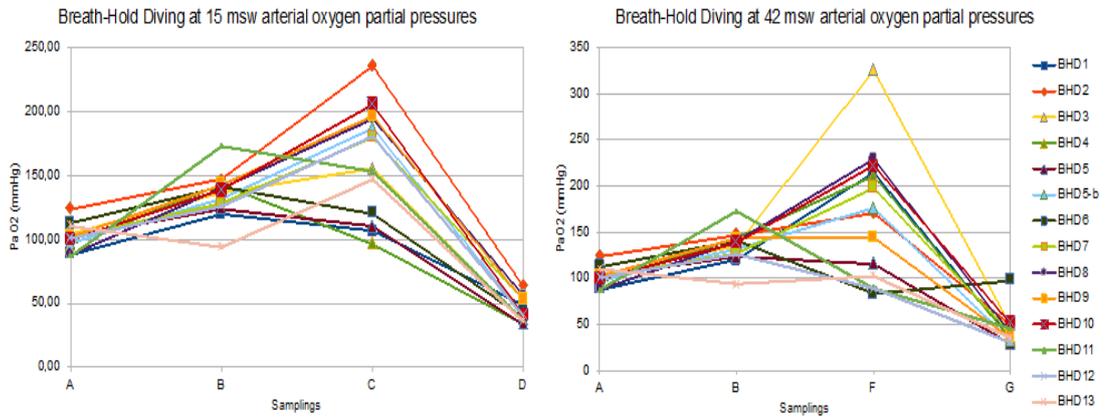


Figura 14. Risultati dell'emogasanalisi dei soggetti alla profondità di -15m e -42m

Come nei precedenti esperimenti ⁴¹ la curva di PaO₂ raggiunge il picco massimo sul fondo per raggiungere livelli critici in risalita. Il valore massimo di PaO₂ raggiunto a -15m è di 235,6 mmHg mentre a -42m è stato di 325,4 mmHg.

I valori minimi alla risalita dalle stesse quote sono stati rispettivamente: 33,3 e 29,1 mmHg.

Analogamente a quanto riscontrato anche in precedenza una quota di soggetti non risponde a questo pattern di aumento della PaO₂ in maniera concorde con l'aumento della pressione ambientale. Ulteriori dati che possono spiegare questo tipo di comportamento verranno estrapolati dal confronto soggetto per soggetto con i dati NIRS e soprattutto con le ecografie polmonari che potrebbero rilevare anomalie soggettive.

Nel complesso quindi i valori emogasanalitici confermano di essere il gold standard, e ancora una volta viene confermato per la terza campagna sperimentale questo pattern emogasanalitico.

Risultati NIRS:

Il confronto tra i risultati ottenuti utilizzando l'algoritmo a regolazione continua della lunghezza d'onda in base alla profondità e quelli a lunghezza d'onda fissa sono riportati nella figura successiva (figura 15).

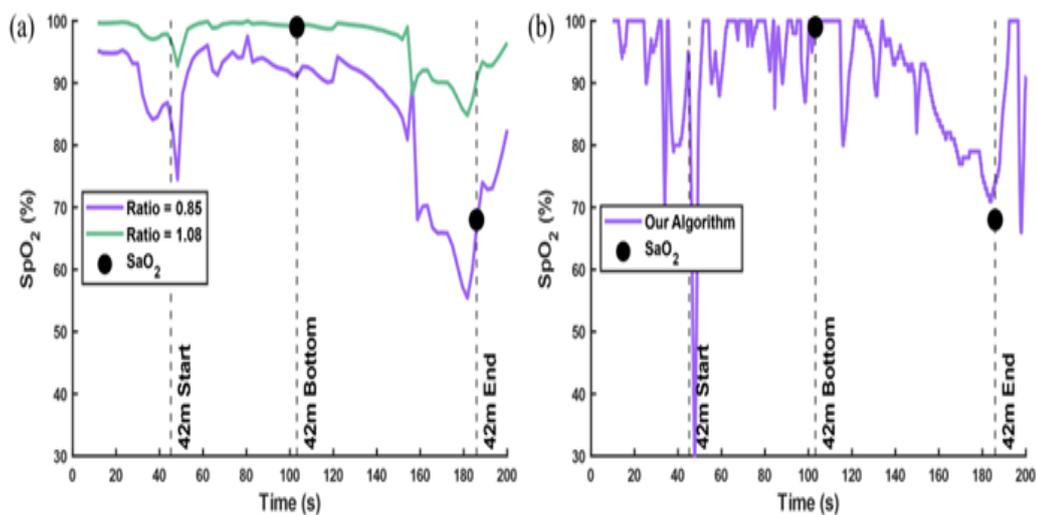


Figura 15.

Si è assunta l'omogeneità tissutale e si è assunto di conoscere il valore della lunghezza media percorsa dai fotoni (L). Con queste assunzioni la legge di Beer-Lambert modificata (mBLL) è stata applicata alla NIRS per il calcolo della saturazione arteriosa di ossigeno (SpO_2). L'algoritmo utilizzato (a destra nella figura 14) ha consentito di estrarre il valore di SpO_2 sapendo che L varia con il coefficiente di assorbimento, e ha permesso quindi di identificare le variazioni della saturazione arteriosa nel tempo.

Il grafico di sinistra della figura 14 mostra invece l'andamento nel tempo della SpO_2 calcolata con un pulsossimetro e assumendo costante il rapporto dei valori di L tra due le lunghezze d'onda del valore di 760 e 840 nm. I due valori ottenuti sono 0,85 (in viola) e 1,08 (in verde).

Con rapporto pari a 0,85 il valore calcolato della SpO₂ non era accurato ad una profondità di -42m. Con rapporto 1,08 invece, nella fase finale dell'immersione, il valore estratto della SpO₂ non ha riportato con precisione il decremento della saturazione.

L'utilizzo dell'algoritmo con l'adattamento della lunghezza d'onda L (a destra nella figura 14) in profondità permette di raggiungere una precisione di misurazione molto superiore ad un algoritmo a lunghezza d'onda fissa.

Durante la calibrazione del dispositivo solitamente i soggetti sani, tramite sospensione volontaria del respiro, raggiungono una SpO₂ >80%. Tuttavia le variazioni molto più sostanziali che avvengono con l'immersione a quote come -42m non vengono correttamente interpretate da tale calibrazione. Di conseguenza analizzando invece i campioni emogasanalitici è stato possibile impostare un algoritmo che mantenesse un'ottima precisione nella misurazione di...? anche sul fondo. Il nuovo algoritmo, infatti, ha permesso di registrare in maniera precisa il variare del valore della SaO₂.

Risultati NIRS:

1. I risultati NIRS mostrano dei pattern molto simili a quelli degli emogas arteriosi.
2. I risultati intersoggettivi sono sovrapponibili confermando che il pattern generale è simile (figura 17).
3. Si è riscontrato un livello di ossigenazione tissutale cerebrale massimo nel punto di massima profondità e minimo in risalita.
4. La quantità di deossigenazione cerebrale è maggiore nelle immersioni più profonde.
5. La riduzione della saturazione di ossigeno cerebrale durante la risalita avveniva in concomitanza con il declino della saturazione arteriosa di ossigeno (SpO₂).

6. La frequenza cardiaca ha subito un calo dopo l'inizio dell'immersione e mentre i soggetti erano alla massima profondità.
7. L'aumento della frequenza cardiaca, in concomitanza del declino della SpO2 e dell'ossigenazione cerebrale durante la fase di risalita, suggeriva un aumento del ritorno venoso durante l'espansione polmonare.

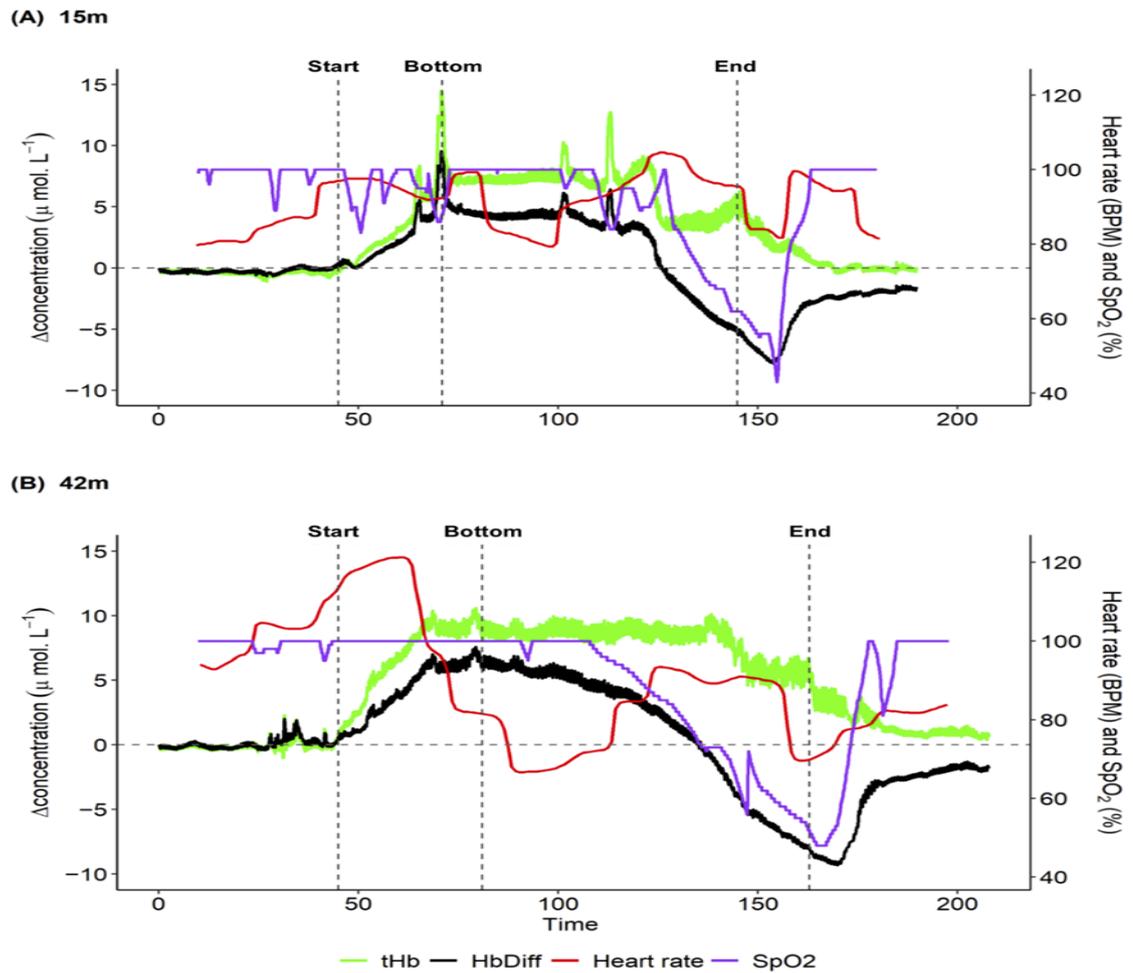


Figura 16. Grafico che riassume i dati dell'emogasanalisi alle profondità di -15m e -42m.

Numerose curve presentano degli artefatti non del tutto filtrabili a livello degli algoritmi di Matlab. Questo è dovuto anche dal fatto che il nuovo algoritmo, utilizzando poche lunghezze d'onda, non riesce ad indentificare i picchi di sistole e diastole che si traduce in una scarsa rilevazione del segnale.

La metodica quindi risulta efficace ma non ancora completamente affidabile.

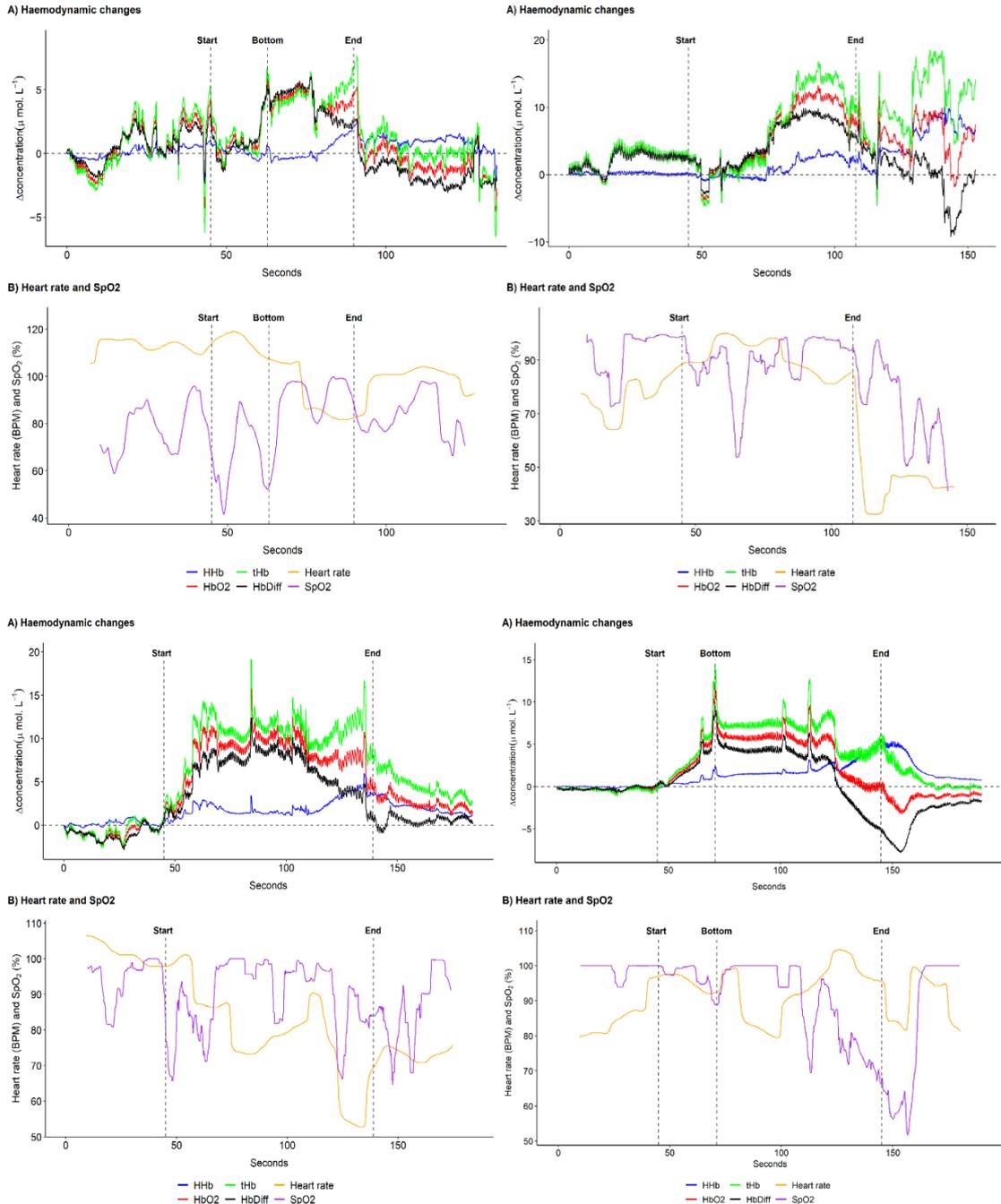


Figura 17. Confronto misurazioni NIRS durante l'immersione a -15m. Qui vengono riportate le curve di quattro soggetti, che mostrano un pattern sovrapponibile, avvalorando quindi la ripetibilità e l'affidabilità del test.

Con l'inizio del tuffo la concentrazione di ossiemoglobina (HbO_2) nel flusso sanguigno cerebrale aumenta (anche l'ossigenazione cerebrale, misurata come Hbdiff) aumenta. Successivamente riceverà un valore numerico sotto forma di tissue oxygen saturation index- TSI) con la profondità e decresce durante la risalita.

Nelle fasi finali dell'immersione vi è un aumento dell'emoglobina totale (tHb) dovuto all'incremento della deossiemoglobina (HHb). Questo incremento non si verifica in concomitanza degli evidenti cambiamenti di HbO_2 ma dall'aumento del volume sanguigno cerebrale e della riduzione di SpO_2 dato dall'aumento del contributo venoso.

I dati NIRS quindi confermano il pattern ottenuto tramite emogasanalisi arteriosa, e forniscono ulteriori indizi sulla variazione emodinamica e volumetrica a livello cerebrale.

6) DISCUSSIONE

Questo esperimento ha per la prima volta messo a confronto una metodica di monitoraggio invasiva con una non invasiva in ambiente acquatico.

I pattern emogasanalitici si sono confermati il gold standard per ottenere un valore puntuale ed affidabile della PaO₂ durante i tuffi. Si sono inoltre confermati molto simili agli esperimenti precedenti ^{41,42} quindi scientificamente validi. Rimangono ancora da spiegare efficacemente i valori non corrispondenti alla curva attesa in alcuni soggetti, quindi si conferma anche che, non la totalità dei soggetti si uniforma allo stesso comportamento fisiologico.

Tuttavia la CW-NIRS, anche se lievemente ingombrante per i soggetti che effettuano le immersioni, ha il vantaggio di poter monitorare in modo non invasivo i parametri emodinamici di interesse di diversi tessuti target, e nel nostro caso specifico, la corteccia prefrontale. La scelta di monitorare e registrare i cambiamenti dei parametri emodinamici, quali le concentrazioni ossi- e deossiemoglobina, la frequenza cardiaca e il volume sanguigno in tale area è data dal fatto che, essendo l'encefalo un tessuto nobile, è il primo a risentire dell'ipossia.

Tale metodica ha permesso inoltre di monitorare costantemente i soggetti durante tutta la durata dell'immersione, con la possibilità di visualizzare una curva di variazione nel tempo dei parametri d'interesse una volta scaricati i dati sul computer. Tuttavia i tempi di registrazione sono limitati (inferiore ai 40 secondi) e questo può creare difficoltà nell'utilizzo di tale strumentazione durante le immersioni più lunghe.

Inoltre a causa delle proprietà ottiche dell'acqua, che hanno interferito con la rilevazione del segnale, i dati di due soggetti sono stati esclusi perché di bassa qualità.

Si può quindi comprendere come la capacità di misurare simultaneamente le variazioni emodinamiche, la frequenza cardiaca e calcolare l'ossigenazione arteriosa e/o tissutale, renda la CW-NIRS uno strumento con le potenzialità per monitorare in modo continuo soggetti in condizioni naturali ⁵⁶.

I dati restano comunque di difficile interpretazione. Alcune curve dei grafici riportati presentano degli inevitabili e non del tutto filtrabili artefatti, a causa degli algoritmi computerizzati utilizzati con Matlab. Servono quindi algoritmi complessi, per ora in via di perfezionamento a livello sperimentale, per “ripulire” il segnale.

Ciononostante, anche con l'utilizzo della NIRS, si conferma il dato di aumento del flusso sanguigno cerebrale col progressivo aumentare della profondità, come risultato del blood shift e del tentativo fisiologico di mantenere la perfusione degli organi nobili. Il flusso sanguigno cerebrale diminuisce con l'inizio della risalita ritornando al valore pre-immersione due minuti dopo la conclusione del singolo tuffo.

La saturazione arteriosa di ossigeno ha dimostrato pattern simili a quelli del flusso sanguigno, aumentando con la profondità e raggiungendo il valore minimo 10 secondi dopo la conclusione del singolo tuffo.

Altro dato analogo fra le due tipologie di rilevazione si è rivelato la riduzione della frequenza cardiaca a seguito del diving reflex e con l'inizio dell'immersione.

Il battito cardiaco, infatti, subisce una riduzione sia durante tutta la fase di discesa sia alla massima profondità, e la sua riduzione è tanto maggiore quanto maggiore è la profondità (v. fig. 14).

In relazione a ciò si è potuto notare inoltre che con l'inizio della fase di ascesa la frequenza cardiaca andava aumentando in concomitanza ad un declino di SaO₂ e di ossigenazione cerebrale. La contemporanea espansione polmonare poi permette di ipotizzare che alla base di tale aumento di frequenza vi sia anche un incremento del ritorno venoso.

Infine il battito cardiaco diminuisce nuovamente durante la seconda metà della risalita, per poi nuovamente aumentare, dopo la emersione, prima di ritornare ai valori basali, dopo il tuffo.

Si è inoltre riscontrato un aumento della concentrazione di deossiemoglobina (HHb) durante la fase conclusiva della risalita.

Alcune limitazioni di questo studio riguardano la numerosità campionaria, che può essere aumentata, oltre al fatto che l'arruolamento di un maggior numero di soggetti femminili migliorerebbe il controllo per genere.

Un'altra limitazione deriva dal fatto che il lungo processo di elaborazione dei dati rende la NIRS uno strumento poco pratico. Infatti alcuni valori, quali ad esempio la Tissue Oxygen Saturation Index (TSI) non sono ancora disponibili.

7) CONCLUSIONI

Il monitoraggio non invasivo tramite CW-NIRS delle attività subacquee si sta dimostrando promettente e, grazie alle numerose migliorie tecniche, può potenzialmente ampliare la qualità e la quantità dei dati a nostra disposizione.

Tuttavia, il monitoraggio emogas analitico rimane ancora il gold standard per la misurazione dei principali parametri sanguigni, questo per la precisione dimostrata in ripetuti esperimenti.

Si è quindi appurato anche in maniera non invasiva che i livelli di HHb aumentano a livello cerebrale, di pari passo con il calo della SpO₂ al termine del tuffo, e che questa è molto probabilmente la causa diretta del black-out ipossico nell'apneista, dovuta ad un calo della pressione ambientale in risalita.

Si conferma ancora una volta l'effetto bradicardizzante del diving reflex, con frequenze cardiache che raggiungono livelli minimi alle massime profondità.

8) BIBLIOGRAFIA

1. Bosco G, Rizzato A, Moon RE, Camporesi EM. Environmental physiology and diving medicine. *Frontiers in Psychology*. 2018;9(FEB). doi:10.3389/fpsyg.2018.00072
2. Baronti F, Fantechi G, Roncella R, Saletti R. Wireless sensor node for surface seawater density measurements. *Sensors*. 2012;12(3):2954-2968. doi:10.3390/s120302954
3. Reeves RB, Morin RA. Pressure increases oxygen affinity of whole blood and erythrocyte suspensions. *J Appl Physiol (1985)*. 1986;61(2):486-494. doi:10.1152/jappl.1986.61.2.486
4. Dalton J. On the expansion of elastic fluids by heat. *Journal of Natural Philosophy, Chemistry, and the Arts*. 1802;3:130-134.
5. Schiavon M. *L'IPERBARISMO: IMMERSIONE IN APNEA*.
6. Henry W. III. Experiments on the quantity of gases absorbed by water, at different temperatures, and under different pressures. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1803;(93):29-274.
7. Boyle R. *A Defence of the Doctrine Touching the Spring and Weight of the Air: Propos'd by Mr. R. Boyle in His New Physico-Mechanical Experiments, Against the Objections of Franciscus Linus: Wherewith the Objector's Funicular Hypothesis Is Also Examin'd.*; 1662.
8. Ono H, O'Reilly JP, Herman LM. Underwater Distance Distortion within the Manual Work Space. *Human Factors: The Journal of the Human Factors and Ergonomics Society*. 1970;12(5):473-480. doi:10.1177/001872087001200507
9. Kent PR. VISION UNDERWATER. *Optometry and Vision Science*. 1966;43(9):553-565. doi:10.1097/00006324-196609000-00001
10. Kinney JA, Luria SM, Weitzman DO. Visibility of colors underwater. *J Opt Soc Am*. 1967;57(6):802-809. doi:10.1364/josa.57.000802
11. Godek D, Freeman AM. *Physiology, Diving Reflex.*; 2022.
12. Lemaitre F, Chowdhury T, Schaller B. The trigeminocardiac reflex - A comparison with the diving reflex in humans. *Archives of Medical Science*. 2015;11(2):419-426. doi:10.5114/aoms.2015.50974
13. Alboni P, Alboni M, Gianfranchi L. Diving bradycardia: A mechanism of defence against hypoxic damage. *Journal of Cardiovascular Medicine*. 2011;12(6):422-427. doi:10.2459/JCM.0b013e328344bcdc
14. Schaller B. Trigemino-cardiac reflex. A clinical phenomenon or a new physiological entity? *J Neurol*. 2004;251(6):658-665. doi:10.1007/s00415-004-0458-4

15. Andersson JPA, Linér MH, Fredsted A, Schagatay EKA. Cardiovascular and respiratory responses to apneas with and without face immersion in exercising humans. *J Appl Physiol.* 2004;96:1005-1010. doi:10.1152/jappphysiol.01057.2002.-The
16. Lindholm P, Lundgren CE. HIGHLIGHTED TOPIC The Physiology and Pathophysiology of the Hyperbaric and Diving Environments The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. *J Appl Physiol.* 2009;106:284-292. doi:10.1152/jappphysiol.90991.2008.-This
17. Gooden BA. *Mechanism of the Human Diving Response.*
18. Yamaguchi H, Tanaka H, Obara S, et al. *Changes in Cardiac Rhythm in Man during Underwater Submersion and Swimming Studied by ECG Telemetry.* Vol 66. Springer-Verlag; 1993.
19. Patrician A, Dujic Ž, Spajic B, Drvis I, Ainslie PN. Breath-Hold Diving – The Physiology of Diving Deep and Returning. *Frontiers in Physiology.* 2021;12. doi:10.3389/fphys.2021.639377
20. Bain AR, Drvis I, Dujic Z, MacLeod DB, Ainslie PN. Physiology of static breath holding in elite apneists. *Experimental Physiology.* 2018;103(5):635-651. doi:10.1113/EP086269
21. Panneton WM. The mammalian diving response: An enigmatic reflex to preserve life? *Physiology.* 2013;28(5):284-297. doi:10.1152/physiol.00020.2013
22. Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, et al. *Alveolar Gas Composition and Exchange during Deep Breath-Hold Diving and Dry Breath Holds in Elite Divers.;* 1991. www.physiology.org/journal/jappl
23. Ostrowski A, Strzała M, Stanula A, Juskiewicz M, Pilch W, Maszczyk A. Accepted for printing in. *Journal of Human Kinetics.* 2012;32:197-210. doi:10.2478/v10078-012-0036-2197
24. Stewart IB, Mckenzie DC. *The Human Spleen During Physiological Stress.*
25. Bosco G, Rizzato A, Martani L, et al. Arterial blood gas analysis in breath-hold divers at depth. *Frontiers in Physiology.* 2018;9(NOV). doi:10.3389/fphys.2018.01558
26. Pan AW, He J, Kinouchi Y, Yamaguchi H, Miyamoto H. *Blood Flow in the Carotid Artery during Breath-Holding in Relation to Diving Bradycardia.*
27. Fitz-Clarke JR. Breath-hold diving. *Compr Physiol.* 2018;8(2):585-630. doi:10.1002/cphy.c160008
28. Bove AA. Diving medicine. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2014;189(12):1479-1486. doi:10.1164/rccm.201309-1662CI

29. Lynch JH, Deaton TG. Barotrauma with extreme pressures in sport: from scuba to skydiving. *Curr Sports Med Rep.* 13(2):107-112. doi:10.1249/JSR.0000000000000039
30. Mulder E, Schagatay E. Using Underwater Pulse Oximetry in Freediving to Extreme Depths to Study Risk of Hypoxic Blackout and Diving Response Phases. *Frontiers in Physiology.* 2021;12. doi:10.3389/fphys.2021.651128
31. Lindholm P. Loss of motor control and/or loss of consciousness during breath-hold competitions. *International Journal of Sports Medicine.* 2007;28(4):295-299. doi:10.1055/s-2006-924361
32. Koehle MS, Lepawsky M, Mckenzie DC. *Pulmonary Oedema of Immersion.* Vol 35.; 2005.
33. Peacher DF, Martina SD, Otteni CE, Wester TE, Potter JF, Moon RE. Immersion pulmonary edema and comorbidities: Case series and updated review. *Diving and Hyperbaric Medicine.* 2018;48(2):118. doi:10.1249/MSS.0000000000000524
34. Vann RD, Butler FK, Mitchell SJ, Moon RE. Decompression illness. *Lancet.* 2011;377(9760):153-164. doi:10.1016/S0140-6736(10)61085-9
35. Pollock NW, Buteau D. Updates in Decompression Illness. *Emergency Medicine Clinics of North America.* 2017;35(2):301-319. doi:10.1016/j.emc.2016.12.002
36. Hohenauer E, Costello JT, Deliens T, Clarys P, Stoop R, Clijisen R. Partial-body cryotherapy (-135°C) and cold-water immersion (10°C) after muscle damage in females. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports.* 2020;30(3):485-495. doi:10.1111/sms.13593
37. Raymond KA, Cooper JS. *Scuba Diving Physiology.*; 2022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28722867>
38. Qvist J, Hurford WE, Saeng Park Y, et al. *Arterial Blood Gas Tensions during Breath-Hold Diving in the Korean Ama.* www.physiology.org/journal/jappl
39. Lambrechts K, Germonpré P, Charbel B, et al. Ultrasound lung “comets” increase after breath-hold diving. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(4):707-713. doi:10.1007/s00421-010-1697-y
40. Papadopoulou V, Germonpré P, Cosgrove D, et al. Variability in circulating gas emboli after a same scuba diving exposure. *Eur J Appl Physiol.* 2018;118(6):1255-1264. doi:10.1007/s00421-018-3854-7
41. Bosco G, Rizzato A, Martani L, et al. Arterial blood gas analysis in breath-hold divers at depth. *Frontiers in Physiology.* 2018;9(NOV). doi:10.3389/fphys.2018.01558
42. Bosco G, Paganini M, Rizzato A, et al. Arterial blood gases in divers at surface after prolonged breath-hold. *European Journal of Applied Physiology.* 2020;120(2):505-512. doi:10.1007/s00421-019-04296-2

43. Scheeren TWL, Schober P, Schwarte LA. Monitoring tissue oxygenation by near infrared spectroscopy (NIRS): Background and current applications. In: *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. Vol 26. ; 2012:279-287. doi:10.1007/s10877-012-9348-y
44. Owen-Reece H, Smith M, Elwell CE, Goldstone JC. Near infrared spectroscopy. *British Journal of Anaesthesia*. 1999;82(3):418-426. doi:10.1093/bja/82.3.418
45. Murkin JM, Arango M. Near-infrared spectroscopy as an index of brain and tissue oxygenation. *British Journal of Anaesthesia*. 2009;103(SUPPL.1). doi:10.1093/bja/aep299
46. Pellicer A, Bravo M del C. Near-infrared spectroscopy: A methodology-focused review. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2011;16(1):42-49. doi:10.1016/j.siny.2010.05.003
47. Ferrari M, Quaresima V. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *Neuroimage*. 2012;63(2):921-935. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.03.049
48. Zhong W, Ji Z, Sun C. A review of monitoring methods for cerebral blood oxygen saturation. *Healthcare (Switzerland)*. 2021;9(9). doi:10.3390/healthcare9091104
49. Zhong W, Ji Z, Sun C. A review of monitoring methods for cerebral blood oxygen saturation. *Healthcare (Switzerland)*. 2021;9(9). doi:10.3390/healthcare9091104
50. Hamaoka T, McCully KK, Niwayama M, Chance B. The use of muscle near-infrared spectroscopy in sport, health and medical sciences: recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2011;369(1955):4591-4604. doi:10.1098/rsta.2011.0298
51. Tamaki T, Uchiyama S, Tamura T, Nakano S. *Changes in Muscle Oxygenation during Weight-Lifting Exercise*. Vol 68. Springer-Verlag; 1994.
52. Klusiewicz A, Rebis K, Ozimek M, Czaplicki A. The use of muscle near-infrared spectroscopy (NIRS) to assess the aerobic training loads of world-class rowers. *Biology of Sport*. 2021;38(4):713-719. doi:10.5114/biolsport.2021.103571
53. Snyder AC, Parmenter MA. *USING NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY TO DETERMINE MAXIMAL STEADY STATE EXERCISE INTENSITY*. www.nscs-jscr.org
54. Pereira MIR, Gomes PSC, Bhambhani YN. A brief review of the use of near infrared spectroscopy with particular interest in resistance exercise. *Sports Med*. 2007;37(7):615-624. doi:10.2165/00007256-200737070-00005
55. McKnight JC, Bennett KA, Bronkhorst M, et al. Shining new light on mammalian diving physiology using wearable near-infrared spectroscopy. *PLoS Biol*. 2019;17(6):e3000306. doi:10.1371/journal.pbio.3000306
56. McKnight JC, Mulder E, Ruesch A, et al. When the human brain goes diving: Using near-infrared spectroscopy to measure cerebral and systemic cardiovascular responses to deep, breath-hold diving in elite freedivers. *Philosophical*

Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2021;376(1831).
doi:10.1098/rstb.2020.0349