

# Influenza dell'Acqua Minerale Naturale Bicarbonato Calcica Lete<sup>®</sup> sulla Concentrazione di Lattato Ematico in Atleti dopo Esercizio

P. Brancaccio<sup>1\*</sup>, F.M. Limongelli<sup>1</sup>, I. Paolillo<sup>2</sup>, C. Grasso<sup>1</sup>, V. Donnarumma<sup>3</sup> and L. Rastrelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Seconda Università di Napoli, Servizio di Medicina dello Sport, Via Costantinopoli 16 80138, Napoli, Italia;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Salerno, Via Ponte Don Melillo, 84084 Fisciano, Salerno, Italy;

<sup>3</sup>Laboratorio di diagnostica e ricerca clinica Roecker, Marano di Napoli

\*Corresponding authors, Phone: 0039 815665908. Fax: 0039 815665864, E-mail: [pabranca@libero.it](mailto:pabranca@libero.it)

## **Abstract**

**Scopo:** Condotta su un gruppo di 88 atleti maschi volontari, questo lavoro sperimentale ha esaminato gli effetti dell'idratazione con Acqua Lete<sup>®</sup>, un'acqua minerale naturale bicarbonato-calcica, sulla risposta metabolica all'esercizio lattacido valutando le concentrazioni di lattato e glucosio ematico e l'attività della lattico deidrogenasi serica e dei suoi isoenzimi. **Metodi:** 88 atleti maschi volontari sono stati sottoposti a due prove da sforzo utilizzando un Wingate test modificato: la prima è stata effettuata senza idratazione (Test C), la seconda con idratazione (Test H) seguendo il seguente schema: 44 soggetti (gruppo A) idratati con un'acqua minimamente mineralizzata (Residuo Fisso = 17.5 mg/L) e 44 soggetti (gruppo B) idratati con Acqua Lete<sup>®</sup>. Prima (T0), durante (T1-T5), e dopo l'esercizio (T6-T7) sono stati analizzati i seguenti parametri: temperatura corporea, concentrazione di lattato ematico e glucosio, attività della LDH totale e dei suoi isoenzimi (LDH1- LDH2 LDH3 LDH4 LDH5). **Risultati:** Come atteso, il lattato ematico è aumentato significativamente dopo la sessione di esercizi in entrambi i gruppi: dopo l'idratazione e a seguito riposo (30', T7) il Gruppo B, idratato con Acqua Lete<sup>®</sup> ha mostrato livelli di lattato inferiori rispetto al gruppo A ( $2.2 \pm 0.2$  vs  $2.9 \pm 0.3$  mmol/L;  $p < 0.001$ ). L'attività dell'isoenzima LDH5 è diminuita nel siero di atleti del Gruppo B del 0,9% rispetto al Gruppo A. **Conclusioni:** Tutti gli atleti idratati con Acqua Lete<sup>®</sup> hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli di lattatemia con una variazione del pattern isoenzimatico della LDH dopo esercizio. L'assunzione di Acqua Lete<sup>®</sup> negli atleti sottoposti allo studio ha dimostrato migliorare il recupero dopo l'esercizio in maniera significativa.

**Keywords:** Acqua Lete<sup>®</sup> Acqua Minerale, Idratazione, Lattato Ematico, Isoenzimi della LDH.

## **INTRODUZIONE**

L'Acido lattico (La) a pH fisiologico è dissociato per oltre il 99% in anioni La<sup>-</sup> e protoni (H<sup>+</sup>). Durante l'esercizio fisico, le concentrazioni di [La<sup>-</sup>] e di [H<sup>+</sup>] ematico possono innalzarsi, raggiungendo dei picchi significativi (1). Molti ricercatori hanno sostenuto che gli eventuali effetti dannosi del lattato sul muscolo e sulle performance atletiche sono dovuti ad H<sup>+</sup>, piuttosto che a La<sup>-</sup>.

Recentemente molti studi hanno sottolineato le diverse strategie per abbassare i livelli di lattato nel sangue dopo l'attività fisica ottenendo un miglior recupero (2, 3). Un'elevata attività citosolica della LDH è segno di un'alta produzione di  $\text{La}^-$  nel citosol, questo avviene in diverse condizioni, ma soprattutto durante l'attività fisica. La variazione del profilo isoenzimatico della LDH potrebbe avere un ruolo nella risposta muscolare all'allenamento, in particolare l'isoenzima LDH5 sembra coinvolto nella produzione di lattato (4). La produzione di lattato è compensata dalla trasformazione di bicarbonato in anidride carbonica, che si perde attraverso i polmoni durante l'esercizio (5).

Recentemente diversi agenti alcalinizzanti, compreso il bicarbonato di sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), oltre ad acque alcalinizzanti, bevande nutrizionali e acque minerali con contenuti superiori di 600 mg/l di bicarbonato sono stati proposti per i loro effetti potenziali sull'aumento della capacità tampone extracellulare, con miglioramento della resistenza e del recupero (6-9). Acque bicarbonate sono particolarmente indicate, inoltre, nell'ipersecrezione gastrica e nei casi di reflusso gastro-esofageo (10) e durante l'attività fisica per il recupero di liquidi e sali (11).

Acqua Lete<sup>®</sup> con contenuti modesti di sodio e (4.88-5.01 mg/L) e potassio (1.93-2.11 mg/L) e con valori significativi di calcio (311.9-334.1 mg/L) e magnesio (13.93-15.14 mg/L), appartiene al gruppo delle acque bicarbonato-calciche.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare l'incidenza dell'idratazione con Acqua Lete<sup>®</sup>, sulla risposta metabolica all'esercizio lattacido e sui livelli serici di LDH in un gruppo di 88 atleti.

## METODI

### *Partecipanti*

88 atleti amatoriali di sesso maschile, hanno partecipato allo studio volontariamente. I soggetti sono stati reclutati in modo consecutivo e suddivisi in due gruppi ciascuno composto da 44 elementi. Gli atleti, nuotatori o podisti, si hanno eseguito allenamenti di 4-5 ore a settimana. Il protocollo seguito è stato approvato dal Comitato Etico (*Human Ethics Committee*) e ciascun partecipante ha sottoscritto il proprio consenso. Durante l'intero periodo di studio (2 settimane) ciascun atleta ha sospeso le proprie attività di allenamento e l'assunzione di eventuali integratori minerali.

I due gruppi di studio sono qui di seguito descritti:

Gruppo A: età 34.7 anni  $\pm$  7.4 (media  $\pm$  S.D.); altezza 178.5 cm  $\pm$  5.6; peso 79.6 kg  $\pm$  6.9, Indice di Massa Corporea (BMI) 24.6  $\pm$  1.2.

Gruppo B: età 33.7 anni  $\pm$  8.6 (media  $\pm$  S.D.); altezza 174.6 cm  $\pm$  5.4; peso 79.6 kg  $\pm$  9.6, Indice di Massa Corporea (BMI) 25.7  $\pm$  3.4.

### *Protocollo dello Studio*

Entrambi i gruppi sono stati sottoposti a due prove sperimentali, eseguite su ergometro elettricamente frenato (Bycycle SECA Hamburg, Germany) con il seguente protocollo Wingate modificato: cinque serie di 60" ad una velocità media di 80 CPM con recupero di 60" tra le serie. Il carico imposto è stato l'85% del massimale calcolato in una seduta preliminare eseguita una settimana prima del primo test, mediante test incrementale ad esaurimento.

I due test eseguiti sono di seguito descritti:

- Test C di controllo, eseguito in condizioni basali senza idratazione, per entrambi i gruppi.
- Test H, eseguito dopo una settimana di idratazione controllata mediante l'assunzione di 1.5 L/die di acqua minimamente mineralizzata (residuo fisso 14.3 mg/l) somministrata al Gruppo A, e di 1.5 L/die di acqua bicarbonato calcica (Acqua Lete<sup>®</sup>) a medio contenuto minerale (residuo secco >840 mg/l), al Gruppo B. Inoltre gli atleti hanno ricevuto 750 ml di acqua, utilizzando sempre bottiglie appena aperte, un'ora prima dell'esercizio e 250 ml durante i 30 minuti successivi allo sforzo, come raccomandato dal National Athletic Trainer Association (8).

Prima dei test, tutti i soggetti sono stati sottoposti ad anamnesi e visita medica, per accertarne lo stato di buona salute. Per ciascuna sessione di lavoro (Test C e Test H), sono stati determinati i seguenti parametri:

- *A riposo, prima dell'esercizio (T0):*  
Concentrazione ematica di lattato, glucosio, LDH sierica totale e isoenzimi, peso specifico delle urine;
- *Dopo ciascuna sessione di lavoro (T1, T2, T3, T4):*  
Concentrazione ematica del glucosio;
- *Immediatamente dopo l'ultima sessione di lavoro (T5):*  
Concentrazione ematica di lattato e glucosio;
- *5 minuti dopo lo sforzo (T6):*  
Concentrazione ematica di lattato e glucosio;
- *30 minuti dopo lo sforzo (T7):*  
Concentrazione ematica di lattato, glucosio, LDH serica totale e isoenzimi, peso specifico delle urine;

## **MATERIALI**

### ***Concentrazione ematica di lattato***

L'esame è stato eseguito prelevando una goccia di sangue ottenuta mediante puntura del polpastrello, previa asciugatura del sudore con un batuffolo di cotone ed eliminazione della prima goccia di sangue. Il campione è stato raccolto su una strip di La<sup>-</sup> previamente posta all'interno di un calcolatore tarato: il campione si inseriva nello strip per capillarità. La concentrazione di Lattato (mmol/L) veniva quindi misurata sul sangue intero prima e dopo lo sforzo (T0, T5, T6, T7) utilizzando un metodo amperometrico con elettrodo enzimatico (Lactate Pro, Arkray, Kyoto, Japan).

### ***Analisi di LDH ed Isoenzimi***

I campioni di sangue sono stati prelevati da una vena dell'avambraccio da personale esperto. I campioni post-sforzo sono stati prelevati immediatamente dopo la fine dell'esercizio, conservati in ghiaccio e inviati immediatamente al laboratorio di analisi. L'esame degli isoenzimi della lattato deidrogenasi è stato effettuato mediante separazione elettroforetica su siero refrigerato entro le 12 ore successive al prelievo. L'enzima LDH totale è stato analizzato mediante metodo spettrometrico monotest (Pharmacia LKB-vitrospec) a 25°C, considerando normale il seguente valore: LDH= 113-189 U/L. La determinazione isoenzimatica è stata condotta mediante elettroforesi su gel di agarosio e determinata con il metodo Beckman Appraise Densitometer System ed espressa come percentuale dell'attività LDH totale.

### ***Concentrazione ematica del Glucosio***

Il sangue, ottenuto per puntura digitale è stato analizzato utilizzando un apparecchio One Touch Ultra 2 seguendo le indicazioni del produttore (Johnson & Johnson instrument) esprimendo il contenuto di glucosio in mmol/L.

### ***Esame delle urine***

L'urina è stata raccolta in contenitori di polietilene e miscelati con 5 ml/L di una soluzione al 5% di timolo in isopropanolo. Durante il periodo di raccolta, i contenitori ed il loro contenuto sono stati mantenuti a 5 ° C.

### ***Analisi chimica delle acque***

L'acqua minerale bicarbonato calcica, (Acqua Lete<sup>®</sup>; Società Generale delle Acque Minerali, Pratella, CE, Italia), che è stata utilizzata per l'idratazione del gruppo B è stata fornita agli atleti direttamente dal laboratorio di controllo dello stabilimento di imbottigliamento. L'acqua minerale minimamente mineralizzata è tra quelle reperibili facilmente in commercio su tutto il territorio italiano; questa non contiene quantità significative di minerali o elettroliti di alcun genere. Entrambe

le acque sono state analizzate presso i nostri laboratori per la determinazione di 15 parametri chimici caratterizzanti. La maggior parte degli elementi è stata determinata mediante cromatografia ionica (IC) utilizzando uno Dionex, mentre un'aliquota non acidificata è stata utilizzata per la determinazione di pH, conducibilità elettrica, (EC), titolazione dell'alcalinità. I 15 parametri chimici e chimico-fisici determinati in ciascun campione sono riportati in Tabella 1. I metodi analitici utilizzati sono quelli standard di riferimento adottati delle normative italiane (IRSA - CNR methods 1994).

### ***Analisi Statistica***

La valutazione statistica dei risultati è stata eseguita utilizzando un pacchetto SPSS per Windows, versione 17.0 (Chicago, IL, USA). Sono stati confrontati i risultati ottenuti per ciascun gruppo durante tutti gli stadi dello studio:

- in test C (senza idratazione) prima e dopo lo sforzo;
- in test H (a seguito di idratazione) prima e dopo lo sforzo;
- I due gruppi tra loro.

Il significato statistico dei due gruppi (A e B) è stato determinato mediante il T Test di Student per campioni indipendenti: i parametri statistici sono stati calcolati e i valori espressi come media  $\pm$  deviazione standard (S.D.).

## **RISULTATI**

Tutti i soggetti si sono sottoposti al protocollo sperimentale descritto precedentemente. Tutti i test sono stati eseguiti ad una temperatura ambientale di  $19.50 \pm 0.53^\circ\text{C}$  con un'umidità del  $58.38 \pm 0.52\%$ .

### ***Concentrazione ematica del lattato***

Come atteso l'esercizio ha consentito l'innescare del meccanismo anaerobico lattacido, producendo i livelli di lattatemia  $[\text{La}^-]$  riportati in Tabella 2. In dettaglio, nel test eseguito senza idratazione (Test C), entrambi i gruppi hanno mostrato simili livelli iniziali di  $[\text{La}^-]$ , hanno raggiunto livelli paragonabili all'apice dello sforzo e si sono attestati, dopo 30 minuti di recupero, sulle stesse concentrazioni ematiche di lattato, con una percentuale di decremento del 44.77 % nel Gruppo A vs 46.26 % nel Gruppo B. In molti studi è stata esaminata la produzione di lattato ematico dopo Wingate test, riportando un picco di concentrazione fra il 3° e l' 8° minuto dopo lo sforzo (12, 13), con un recupero quasi completo entro i 10 minuti seguenti l'esercizio (14). Infatti la breve durata dell'esercizio induce un accumulo ritardato di lattato. Nel nostro studio, il protocollo modificato di Wingate test ha maggiore durata, per cui l'accumulo di lattato comincia durante l'esercizio raggiungendo un picco al termine dello stesso. Dopo idratazione (Test H) i valori di lattatemia registrati all'apice dello sforzo (T5) sono risultati aumentati del 10.4 % nel Gruppo A e del 44.2% nel Gruppo B, rispetto a quelli rilevati nel test di controllo (Test C), probabilmente anche in relazione ai diversi livelli di riposo registrati nei due gruppi (Tabella 2). Inoltre comparando le risposte ottenute nei due gruppi dopo idratazione (Figura 1) abbiamo notato che il Gruppo B, pur raggiungendo livelli di picco di lattatemia (T5) più alti rispetto al Gruppo A, ha mostrato un miglior recupero, con un decremento dei livelli di lattato dopo 30 minuti di recupero (T7) del 77.5 % vs 60.8 % del Gruppo A (Tabella 2).

### ***LDH e glucosio***

Ponendo a paragone i due gruppi nel test di controllo (Test C) prima e dopo l'esercizio, (Tabella 3), abbiamo rilevato un pattern isoenzimatico simile. Nel Test H (Tabella 4), l'isoenzima LDH5 risulta significativamente diminuito dopo esercizio con una percentuale maggiore nel Gruppo B ( $4.0 \pm 0.7\%$  vs  $6.2 \pm 0.9\%$ ,  $p < 0.05$ ) rispetto al Gruppo A. I livelli di glucosio ematico hanno dimostrato una riduzione progressiva nel corso dell'esercizio in entrambi i gruppi, sia durante il Test C che durante il Test H (Tabella 5).

### ***Densità Urinaria***

Quando i gruppi sono stati testati senza idratazione, è stato osservato un lieve ma significativo aumento della gravità urinaria dopo l'esercizio (gruppo A:  $1020 \pm 4.7$  g / L a riposo vs  $1022 \pm 4.4$  g / L dopo l'esercizio fisico,  $p = <0.001$ ; Gruppo B:  $1018 \pm 6.5$  g / L a riposo vs  $1019 \pm 5.5$  g / L dopo l'esercizio fisico,  $p = ns$ ). Dopo idratazione acuta, oltre all'attesa diminuzione della densità urinaria dovuta all'idratazione, si è riscontrato un livello più basso di densità urinaria per il gruppo B idratato con Acqua Lete A ( $1008.1 \pm 6.3$  g / L vs  $1014.6 \pm 5.1$  g / L,  $p = <0.001$ ), significativo di una migliore idratazione (Figura 2).

## DISCUSSIONE

Molti studi hanno applicato il Wingate Test (15, 16) ed il Wingate Test modificato (17), per valutare la risposta fisiologica all'esercizio anaerobico. Nel presente studio sono state determinate le risposte all'esercizio anaerobico prima e dopo idratazione con un'acqua minerale bicarbonato calcica denominata Acqua Lete<sup>®</sup>, e confrontate con quelle ottenute con idratazione di un'acqua minimamente mineralizzata (residuo secco 14.3 mg/L).

L'importanza del  $[La^-]$  come fonte di energia è ormai nota (18): durante breve sforzo intenso il muscolo produce  $La^-$  velocemente e lo elimina lentamente. Il lattato penetra nel plasma dai fluidi interstiziali del muscolo attivo e dal plasma ai globuli rossi del sangue (RBC), in equilibrio con il plasma, fino al raggiungimento di un valore costante del rapporto RBC/plasma. Il lattato ematico è stato analizzato utilizzando una strumentazione Lactate Pro, che misura il contenuto totale nel sangue per rottura delle RBC, tale metodo è stato dimostrato essere il più robusto per la determinazione di questo analita (19). Nel test senza idratazione (Test C, Figura 1), è stato osservato per entrambi i gruppi un aumento del livello del lattato immediatamente dopo lo sforzo (T5) che rimaneva elevato fino al quinto minuto di riposo per poi tornare a valori più bassi entro i trenta minuti successivi allo sforzo (Tabella 2). Nel secondo test eseguito con l'idratazione degli atleti (Test H, Tabella 2) i gruppi hanno dato risposte diverse. Il Gruppo B, nonostante un maggior valore di lattato alla fine dello sforzo (490% vs 462%,  $p < 0.05$ ), raggiungeva valori molto più bassi del Gruppo A entro i 30 minuti successivi allo sforzo ( $2.2 \pm 0.2$  mmol/L vs  $2.9 \pm 0.3$  mmol/L, rispettivamente;  $p < 0.001$ ).

Lo stato di idratazione è stato ampiamente studiato, determinando il contributo al livello di lattato. Dai risultati riportati in letteratura sembra che il livello di idratazione influenzi il processo anaerobico (20, 21). Infatti, in accordo con i dati di letteratura, per entrambi i gruppi di atleti che sono stati sottoposti al Wingate Test, un miglior stato di idratazione ha condotto ad un recupero migliore dopo l'esercizio, con una diminuzione più evidente di lattato nel Test H rispetto al Test C. Nel presente studio la composizione chimica dell'acqua utilizzata sembra aver ricoperto un ruolo importante sul livello ematico di lattato. Le acque somministrate durante il Test H sono molto diverse tra loro (Tabella 1): l'acqua minimamente mineralizzata è caratterizzata da livelli minimi di calcio e bicarbonato con un residuo di 14.3 mg/l (Tabella 1), l'Acqua Lete<sup>®</sup> caratterizzata da un contenuto modesto di sodio (4.91 mg/L) e potassio (2.10 mg/L) e con un contenuto significativo di bicarbonato (981.1 mg/L), calcio (313.7 mg/L), magnesio (15.12 mg/L) e stronzio (0.15 mg/L) appartiene al gruppo delle acque minerali bicarbonato-calciche.

In accordo con le direttive EEC sulle acque minerali, queste ultime sono di origine sotterranea, protette dalla contaminazione e microbiologicamente pure; presentano una composizione chimica peculiare e costante ed esercitano effetti favorevoli al mantenimento dello stato di salute.

Quando i due gruppi sono stati testati senza idratazione, abbiamo rilevato in entrambi un modesto ma significativo aumento della densità urinaria dopo esercizio (Gruppo A:  $1020 \pm 4.7$  g/L a riposo vs  $1022 \pm 4.4$  g/L dopo esercizio;  $p = <0.001$ ; Gruppo B:  $1018 \pm 6.5$  g/L a riposo vs  $1019 \pm 5.5$  g/L dopo esercizio;  $p = ns$ ): al contrario si è verificata una attesa diminuzione della densità urinaria dopo idratazione, con valori significativamente più bassi nel Gruppo B rispetto al Gruppo A ( $1008.1 \pm$

6.3 g/L vs  $1014.6 \pm 5.1$  g/L;  $p < 0.001$ , Figure 2). Questo dato riflette la migliore idratazione ottenuta nel Gruppo B (Figura 1).

In un recente studio di DP Heil, è stato dimostrato che l'assunzione libera di acqua minerale alcalinizzata, può migliorare lo stato di idratazione di giovani e adulti (22): gli studi relativi agli effetti dell'ingestione di bicarbonati sulla risposta metabolica all'esercizio, sono numerosi ed alcune volte discordanti. In uno studio di Schuback et al. condotto nel 2002 su cavalli da corsa non è stato riportato nessun effetto sulla risposta metabolica all'esercizio di endurance, riconducibile alla somministrazione di bicarbonato (23); Al contrario, altri studi effettuati su atleti hanno dimostrato un miglioramento della performance in maniera dose dipendente (24-26) e probabilmente legata ad un aumento dell'effetto tampone (27, 28). Agenti alcalinizzanti, compreso il bicarbonato di sodio, sono stati proposti come supplementi ergogenici per i loro potenziali effetti sul miglioramento della capacità tampone extracellulare. Infatti, l'aumento di lattatemia comunemente osservato durante l'alcalosi metabolica, risulta da una complessa serie di eventi che modulano l'attività degli enzimi regolatori inducendo una alterazione fra la quota di piruvato prodotta e ossidata (29); l'alcalosi metabolica porta ad un incremento della produzione di lattato e il suo accumulo è dovuto alla assenza di una downregulation della glicogenolisi e alla glicolisi che si verifica quando il pH diminuisce. Nel nostro studio la specificità dell'Acqua Lete<sup>®</sup>, con combinazione di alti contenuti di calcio ed agenti tamponanti, può aver inciso sui livelli di lattatemia, determinando  $[La^-]$  significativamente più basse dopo lo sforzo. Il funzionamento del sistema intracellulare di trasporto del lattato sembra consentire che il lattato prodotto dalla glicolisi e dalla glicogenolisi nel citosol, sia rimosso per ossidazione nei mitocondri delle stesse cellule. La presenza di un sistema shuttles intracellulare per il lattato dà luogo all'ipotesi che la glicolisi e l'ossidazione siano processi strettamente correlati, in cui il lattato, prodotto della prima via metabolica, è il substrato della seconda (30). In seguito alla sua continua produzione nel citosol, ad opera dell'isoenzima LDH5 (M4), il lattato diffonde nella matrice mitocondriale dove l'isoenzima LDH1 (H4) provvede alla sua riconversione in piruvato con la concomitante interconversione dell' NADH e NAD. La valutazione dell'LDH totale e dei suoi isoenzimi, consente quindi di ottenere maggiori informazioni relative al metabolismo muscolare (4). Infatti l'esercizio strenuo induce un significativo aumento di LDH (31) e l'entità dell'incremento dipende dall'intensità e dalla durata dello sforzo (32, 33). Nel nostro studio non è stato riscontrato un incremento dei livelli serici di enzima totale in nessun test, probabilmente per la tipologia e l'intensità dello sforzo proposto: il tempo di esecuzione del prelievo (30 minuti dopo esercizio) e il tipo di esercizio (sottomassimale) non ci hanno consentito di rilevare significativi incrementi del titolo enzimatico (Tabelle 3 e 4). Inoltre comparando il test effettuato con idratazione e quello di controllo è stata riscontrata una variazione del pattern isoenzimatico dopo esercizio, con valori di LDH5 significativamente più bassi in particolare nel Gruppo B ( $4.0 \pm 0.7\%$  vs  $4.6 \pm 0.8\%$ ,  $p < 0.05$ ), con aumento (sebbene non significativo) dei livelli di LDH1 ed LDH2 (Tabella 4)

Il tasso di glucosio ematico in corso di esercizio è stato ampiamente studiato poiché riflette la risposta lattacida allo sforzo (34). Infatti a riposo e durante esercizio di moderata intensità l'adrenalina stimola la glicogenolisi e la produzione di lattato (35). Nello studio riportato, nel Test C l'aumento di lattato ha coinciso con una diminuzione del glucosio ematico: infatti dopo l'esercizio (T5) entrambi i gruppi hanno fatto registrare livelli di glicemia significativamente più bassi rispetto ai basali (T0) (Gruppo A:  $4.1 \pm 0.3$  vs  $4.6 \pm 0.2$  mmol/L,  $p < 0.05$ ; Gruppo B:  $4.6 \pm 0.5$  vs  $5.0 \pm 0.6$  mmol/L,  $p < 0.05$ ). E' riportato che lo stato di idratazione può modificare la risposta ormonale e metabolica all'esercizio, influenzando il metabolismo dei carboidrati (36). Infatti durante l'esercizio di moderata intensità il lattato compete con il glucosio come substrato metabolico e può rappresentare un meccanismo di protezione nei confronti dell'ipoglicemia durante esercizio prolungato. L'incremento nella percentuale di ossidazione del lattato coincide con la diminuzione della percentuale di ossidazione del glucosio ematico, provocando una diminuzione della produzione di glucosio necessaria per mantenere l'omeostasi glicemica (37). Questo risultato, se confermato da ulteriori studi, testimonierebbe la migliore ossidazione del lattato ottenuta nel

Gruppo B è dimostrata dalla variazione del quadro isoenzimatico della LDH ed il mantenimento di una migliore omeostasi glicemica dopo idratazione con acqua bicarbonato-calcica.

## CONCLUSIONI

L'assunzione orale di acqua minerale naturale bicarbonato calcica, Acqua Lete<sup>®</sup>, caratterizzata da un peculiare ed esclusivo chimismo, prima e dopo il Wingate Test è risultata associata ad una migliore ossidazione del lattato, ad una variazione degli isoenzimi della lattico deidrogenasi LDH, ed ad un miglior mantenimento dell'omeostasi fisiologica in atleti. Tutti gli atleti idratati con Acqua Lete<sup>®</sup> hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli di lattatemia con una variazione del pattern isoenzimatico della LDH dopo esercizio. In particolare, l'assunzione Acqua Lete<sup>®</sup> ha dimostrato migliorare il recupero dopo esercizio indicando che questa acqua minerale può rappresentare una preziosa risorsa nutrizionale in grado di influenzare il recupero e l'idratazione degli atleti.

## Bibliografia

- [1] Fitts, R.H. Effects of regular exercise training on skeletal muscle contractile function. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 2003; 82: 320-331
- [2] Neric FB, Beam WC, Brown LE, and Wiersma LDJ (2009) Comparison of swim recovery and muscle stimulation on lactate removal after sprint swimming. *Strength Conitional Research*, 23:2560-2567
- [3] Greenwood JD, Moses GE, Bernardino FM, Gaesser GA, and Weltman A. (2008). Intensity of exercise recovery, blood lactate disappearance, and subsequent swimming performance. *Journal of Sports Sciences*, 26: 29-34.
- [4] Brancaccio, P., Maffulli, N., Buonauro R., and Limongelli, F.M. (2008). Serum enzyme monitoring in sport medicine. *Clinic Journal of Sport Medicine*, 27, 1–18.
- [5] Yunoki, T., Ogant, H., and Yanoi, T. (2003). Relationship between blood lactate concentration and excessive CO<sub>2</sub> expiration during and after ramp exercise. *Adv. Exerc. Sports Physiol*, Vol.9, No.3, .97-103.
- [6] Montain, S.J. (2008). Hydration recommendations for sport 2008. *Current Sports Medicine Report*, 7, 187-192.
- [7] Von Duvillard, S.P., Arciero, P.J., Tietjen-Smith, T., and Alford, K., (2008). Sports drinks, exercise training, and competition. *Current Sports Medicine Report*, 7, 202-208.
- [8] Casa, D.J., Armstrong, L.E., Hillman, S.K., Montain S.J., Reiff, R.V., Rich, B.S.E., Roberts, W.O. and Stone, J.A. (2000). National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid Replacement for Athletes. *Journal of Athletic Training*, 35, 212-224.
- [9] Matson, L. G., and Tran, Z.V. Effects of Sodium Bicarbonate Ingestion on 470 Anaerobic Performance: A Meta-Analytic Review (1993) *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 20, 2-28.
- [10] Petraccia, L., Liberati, G., Masciullo, S.G., Grassi, M., and Fraioli, A. (2006). Water, mineral waters and health. *Clinical nutrition*, 25, 377-385.
- [11] Shirreffs, S.M., Aragón-Vargas, L.F., Keil, M., Love, T.D., and Phillips. S. (2007). Rehydration after exercise in the heat: a comparison of 4 commonly used drinks. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 17, 244-258.
- [12] McLellan, T.M., Kavanagh, M.F., and Jacobs, I. (1990). The effect of hypoxia on performance during 30 s or 45 s of supramaximal exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 60, 155-161.
- [13] Medbø, J.I., and Tabata, I. (1993). Anaerobic energy release in working muscle during 30 s to 3 min of exhausting bicycling. *Journal of Applied Physiology*, 75, 1654-1660.
- [14] Ozturk, M., Ozer, K., and Gokce, E. (1998). Evaluation of blood lactate in young men after wingate anaerobic power test. *Eastern Journal of Medicine*, 3, 13-16.

- [15] Weinstein, Y., Bediz, C., Dotan, R., and Falk B. (1998). Reliability of peak-lactate, heart rate, and plasma volume following the Wingate test. *Medicine & Science in Sport & Exercise*, 30, 1456-
- [16] Bampouras, T.M., and Marrin, K. (2009). Comparison of two anaerobic water polo-specific tests with the Wingate test. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 23, 336-340.
- [17] Rodio, A., Quattrini, F.M., Fattorini, L., Egidi, F., Faiola, F., and Pittiglio, G. (2008). Power output and metabolic response in multiple Wingate test performed with arms. *Medicina dello Sport*, 61, 21-28.
- [18] Gladden, L.B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of Physiology*, 558, 1, 5-30.
- [19] Medbø, J.I., Mamen, A., Holt Olsen, O., and Evertsen, F. (2000). Examination of four different instruments for measuring blood lactate concentration. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 60, 367-380.
- [20] Kenefick, R.W., Mahood, N.V., Mattern, C.O., Kertzer, R., and Quinn, T.J. (2002). Hypohydration adversely affects lactate threshold in endurance athletes. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 16, 38-43.
- [21] Papadopoulos, C., Doyle, J., Rupp, J., Brandon, L., Benardot, D., and Thompson, W. (2008). The effect of the hypohydration on the lactate threshold in a hot and humid environment. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 48, 293-299.
- [22] Heil, D.P. (2010). Acid-base balance and hydration status following consumption 425 of mineral-based alkaline bottled water. *Journal of The International Society of Sport Nutrition*, 13, 7-29.
- [23] Schuback, K., Essen-Gustavsson, B., and Persson, S.G. (2002). Effect of sodium bicarbonate administration on metabolic responses to maximal exercise. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, 539-44.
- [24] Douroudos, I.I., Fatouros, I.G., Gourgoulis, V., Jamurtas, A.Z., Tsitsios, T., Hatzinikolaou, A., Margonis, K., Mavromatidis, K., and Taxildaris, K. (2006). Dose-related effects of prolonged NaHCO<sub>3</sub> ingestion high-intensity exercise. *Medicine & Science in Sport & Exercise*, 38, 1746-53.
- [25] Price M.J., and Simons, C. (2010). The effect of sodium bicarbonate ingestion on high-intensity intermittent running and subsequent performance. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24, 1834-1842.
- [26] Edge, J., Bishop, D. and Goodman C (2000). Effects of chronic NaHCO<sub>3</sub> ingestion during interval training on changes to muscle buffer capacity, metabolism, and short-term endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 101, 918-925.
- [27] Lindh, A.M., Peyrebrune, M.C., Ingham, S.A., Bailey, D.M., and Folland, J.P. (2008). Sodium bicarbonate improves swimming performance. *International Journal Sports Medicine*, 29, 519-523.
- [28] Dalbo, V.J., Roberts, M.D., Hassell, S.E., Moon, J.R., and Kerksick, C.M. (2010) Effects of a mineral antioxidant complex on clinical safety, body water, lactate response, and aerobic performance in response to exhaustive exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 20, 381-392.
- [29] Hollidge-Horvat, M.G., Parolin, M.L., Wong, D., Jones N.L., and Heigenhauser, G.J.F. (2000) Effect of induced metabolic alkalosis on human skeletal muscle metabolism during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 278, E316-E329.
- [30] Dubouchaud, H., Butterfield, G.E., Wolfel, E.E., Bergman, B.C., and Brooks G.A. (2000). Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 278, E571-E579.
- [31] Lippi, G., Schena, F., Salvagno, G.L., Montagnana, M., Gelati, M., Tarperi, C., Banfi, G., and Guidi, G.C., (2008) Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half marathon run. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 68, 667-672.
- [32] Priest, J.B., Oei, T.O., and Moorehead, W.R. (1982). Exercise-induced changes in common laboratory tests. *American Journal of Clinical Pathology*, 77, 285-9.

- [33] Stokke, O. (1982). Clinical chemical changes in physical activity. *Scandinavian Journal of Social Medicine*, 29, 93-101.
- [34] Simoes, H.G., Grubert Campbell, G.S., Kokubun, E., Denadai, B.S., and Baldissera, V. (1999). Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track test. *European Journal of Applied Physiology*, 80, 34-40.
- [35] Stainsby, W.N., Brechue, W.F., and V O'Drobinak, D.M. (1991). Regulation of muscle lactate production. *Medicine & Science in Sport & Exercise*, 23, 907-911.
- [36] Judelson, D.A., Maresh, C.M., Yamamoto, L.M., Farrell, M.J., Armstrong, L.E., Kraemer, W.J., Volek, J.S., Spiering, B.A., Casa, D.J., and Anderson, J.M. (2008). Effect of hydration state on resistance exercise-induced endocrine markers of anabolism, catabolism, and metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 105, 816-824.
- [37] Richter, E.A., Kiens, B., Saltin, B., Christensen, N.J. and Savard, G. (1998). Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. *American Journal of Physiology*, 254, E555-561.

**Tabella 1.** Caratteristiche chimiche delle acque minerali utilizzate nello studio\*

| Parametri                     | Unità di Misura | Acqua Lete      | Acqua Minimamente Mineralizzata |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|
| Conducibilità                 | mS/cm           | 1321.40 ± 46.10 | 17.57 ± 0.91                    |
| pH                            | pH              | 6.14 ± 1.91     | 5.00 ± 0.21                     |
| Residuo Fisso                 | mg/l            | 878.41 ± 25.21  | 14.31 ± 0.68                    |
| CO <sub>2</sub>               | mg/L            | 1890.12 ± 72.51 | 15.22 ± 0.77                    |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | mg/l            | 981.11 ± 33.82  | 3.51 ± 0.15                     |
| Cl <sup>-</sup>               | mg/l            | 8.24 ± 2.22     | 0.41 ± 0.02                     |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | mg/l            | 6.60 ± 0.91     | 1.40 ± 0.08                     |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | mg/l            | 4.14 ± 0.20     | 1.91 ± 0.08                     |
| Na <sup>+</sup>               | mg/l            | 4.91 ± 0.33     | 1.21 ± 0.05                     |
| K <sup>+</sup>                | mg/l            | 2.10 ± 0.08     | 0.32 ± 0.01                     |
| Ca <sup>++</sup>              | mg/l            | 313.70 ± 9.81   | 1.11 ± 0.05                     |
| Mg <sup>++</sup>              | mg/l            | 15.12 ± 3.92    | 0.42 ± 0.03                     |
| Fe                            | mg/l            | 0.02 ± 0.01     | < 0.01                          |
| Sr <sup>++</sup>              | mg/l            | 0.15 ± 0.01     | < 0.1                           |
| Li <sup>+</sup>               | mg/l            | < 0.01          | < 0.01                          |

\*I risultati riportati sono la media ± SD di analisi eseguite in triplicato

**Tabella 2.** Livelli di lattato ematico <sup>\*</sup> misurati durante e dopo esercizio <sup>\*\*\*</sup>

| Test C   | Riposo (T0) |                      | T5   | Δ | T6      | T7                   | Δ*                  |
|----------|-------------|----------------------|------|---|---------|----------------------|---------------------|
| Gruppo A | 1.7±0.4     | 6.7±0.6 <sup>a</sup> | 394% |   | 7.1±0.9 | 3.7±0.7 <sup>b</sup> | 44.77% <sup>c</sup> |
| Gruppo B | 1.7±0.3     | 6.8±0.8 <sup>a</sup> | 400% |   | 6.3±0.8 | 3.7±0.6 <sup>b</sup> | 46.26% <sup>d</sup> |

---

| Test H   | Riposo (T0) |                      | T5   | Δ | T6      | T7                   | Δ*                    |
|----------|-------------|----------------------|------|---|---------|----------------------|-----------------------|
| Gruppo A | 1.6±0.2     | 7.4±0.8 <sup>a</sup> | 462% |   | 6.1±0.7 | 2.9±0.3 <sup>b</sup> | 60.80% <sup>c e</sup> |
| Gruppo B | 2.0±0.5     | 9.8±0.6 <sup>a</sup> | 490% |   | 7.1±0.4 | 2.2±0.2 <sup>b</sup> | 77.55% <sup>c d</sup> |

<sup>\*\*</sup> i valori sono espresso in mmol/L

<sup>\*\*\*</sup> media ±SE, n=88

Δ incremento misurato in (%) rispetto T0

Δ\* decremento misurato in (%) rispetto T5

<sup>a</sup>Significativamente differente rispetto ai valori di riposo, P < 0.05

<sup>b</sup>Significativamente differente rispetto ai valori di riposo, P < 0.001

<sup>c,d</sup> P < 0.001

<sup>e</sup> P < 0.05

Test C: test eseguito senza idratazione

Test H: test eseguito con idratazione

Group A: soggetti idratati con acqua di controllo

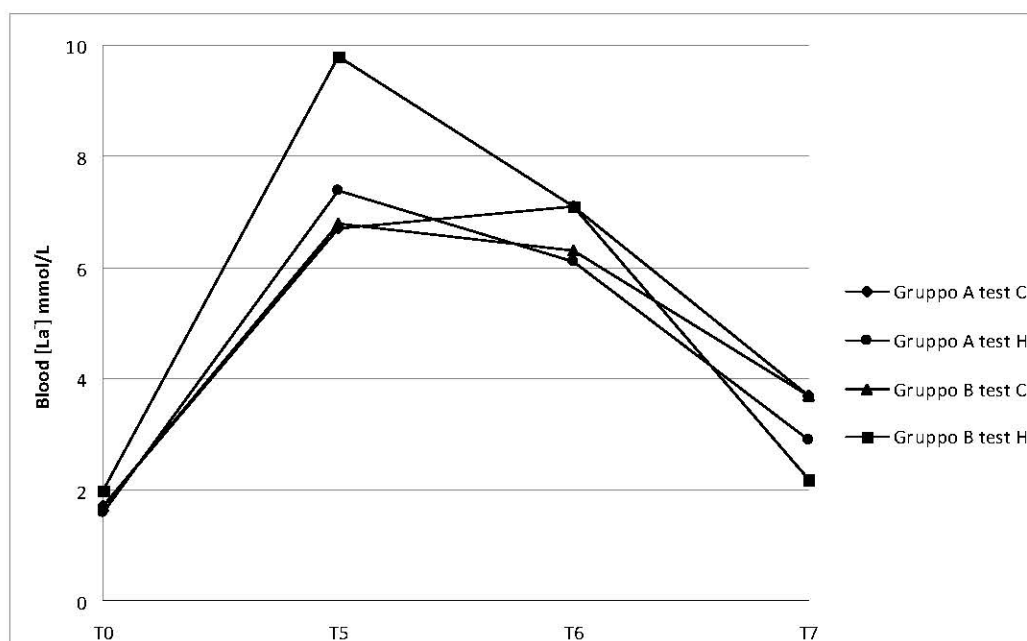
Group B: soggetti idratati con acqua Lete

T5: immediatamente dopo l'esercizio

T6: 5 minuti dopo l'esercizio

T7: 30 minuti dopo l'esercizio

**Figure 1.**  $[La^-]$  rilevate durante esercizio e nel recupero in soggetti non idratati (Test C) e idratati (Test H). Gruppo A (n=44): idratati con acqua minimamente mineralizzata, Gruppo B (n=44) idratati con Acqua Lette.



**Tabella 3.** Livelli enzimatici ( $\pm$  s.d.) rilevati a riposo e dopo esercizio (n=88) in Test C

| Enzyme          | Rest (T0)                  | T7                          |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Gruppo A</b> |                            |                             |
| LDH totale*     | 287.6 $\pm$ 59.6           | 279.7 $\pm$ 64.1            |
| LDH1**          | 25.4 $\pm$ 1.6             | 24.6 $\pm$ 1.78             |
| LDH2**          | 37.3 $\pm$ 0.8             | 36.4 $\pm$ 1.31             |
| LDH3**          | 24.0 $\pm$ 0.7             | 25.9 $\pm$ 1.01             |
| LDH4**          | 7.8 $\pm$ 1.3              | 8.0 $\pm$ 1.26              |
| LDH5**          | 5.5 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup> | 5.1 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup> |
| <b>Gruppo B</b> |                            |                             |
| LDH totale*     | 347.5 $\pm$ 42.0           | 334.7 $\pm$ 53.1            |
| LDH1**          | 26.3 $\pm$ 1.3             | 25.3 $\pm$ 1.8              |
| LDH2**          | 36.2 $\pm$ 0.6             | 35.8 $\pm$ 1.2              |
| LDH3**          | 24.3 $\pm$ 1.8             | 25.9 $\pm$ 0.5              |
| LDH4**          | 7.9 $\pm$ 1.3              | 8.4 $\pm$ 1.4               |
| LDH5**          | 5.3 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup> | 4.6 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>  |

\* I valori sono espressi in U/L

\*\*% LDH totale

<sup>a</sup>Significativamente differente rispetto ai livelli di riposo,  $P < 0.001$

<sup>b</sup>Significativamente differente rispetto ai livelli di riposo,  $P < 0.05$

**Tabella 4.** Livelli enzimatici ( $\pm$  s.d.) rilevati a riposo e dopo esercizio (n=88) in Test H

| Enzyme          | Rest (T0)                  | T7                          |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Gruppo A</b> |                            |                             |
| LDH* totale     | 304.4 $\pm$ 52.4           | 301.2 $\pm$ 51.9            |
| LDH1**          | 25.2 $\pm$ 1.0             | 23.1 $\pm$ 1.9              |
| LDH2**          | 36.6 $\pm$ 1.9             | 38.3 $\pm$ 1.3              |
| LDH3**          | 23.5 $\pm$ 1.5             | 24.8 $\pm$ 0.4              |
| LDH4**          | 8.2 $\pm$ 1.3              | 7.6 $\pm$ 1.3               |
| LDH5**          | 6.5 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 6.2 $\pm$ 0.9 <sup>bc</sup> |
| <b>Group B</b>  |                            |                             |
| LDH* totale     | 340.5 $\pm$ 70.4           | 334.7 $\pm$ 53.1            |
| LDH1**          | 26.8 $\pm$ 1.2             | 27.8 $\pm$ 1.7              |
| LDH2**          | 35.6 $\pm$ 1.9             | 36.3 $\pm$ 0.8              |
| LDH3**          | 24.7 $\pm$ 1.9             | 25.0 $\pm$ 1.4              |
| LDH4**          | 7.5 $\pm$ 1.2              | 6.9 $\pm$ 0.9               |
| LDH5**          | 5.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup> | 4.0 $\pm$ 0.7 <sup>ac</sup> |

\* I valori sono espressi in U/L

\*\*% LDH totale

<sup>a</sup>Significativamente differente rispetto ai livelli di riposo,  $P < 0.001$

<sup>b</sup>Significativamente differente rispetto ai livelli di riposo,  $P < 0.05$

<sup>c</sup>  $P < 0.05$

**Tabella 5.** Livelli di glicemia rilevati\* prima, durante e dopo esercizio\*\*

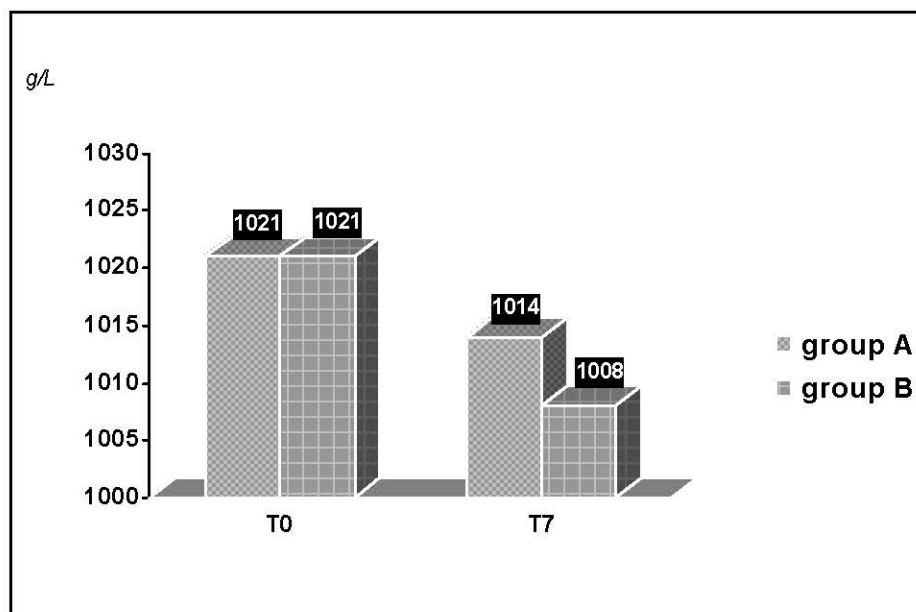
| Test C   | T0      | T1      | T2      | T3      | T4      | T5                   | T6      |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|----------------------|---------|
| Gruppo A | 4.6±0.2 | 4.4±0.3 | 4.6±0.3 | 4.5±0.3 | 4.6±0.3 | 4.1±0.3 <sup>a</sup> | 4.3±0.1 |
| Gruppo B | 5.0±0.6 | 4.8±0.6 | 4.9±0.5 | 5.0±0.5 | 4.7±0.5 | 4.6±0.5 <sup>a</sup> | 4.5±0.4 |
| Test H   | T0      | T1      | T2      | T3      | T4      | T5                   | T6      |
| Gruppo A | 4.8±0.5 | 4.9±0.7 | 4.4±0.3 | 4.6±0.3 | 4.3±0.3 | 4.3±0.4 <sup>a</sup> | 4.3±0.4 |
| Gruppo B | 5.1±0.6 | 4.8±0.4 | 4.6±0.3 | 4.7±0.5 | 4.9±0.6 | 4.6±0.5 <sup>a</sup> | 4.6±0.5 |

\*I valori sono espresso in in mmol/L

\*\*Medie±SE.

<sup>a</sup>Significativamente differente rispetto ai livelli di riposo,  $P < 0.05$ .

**Figure 1.** densità urinaria rilevata nel Test H prima e dopo esercizio



T=: prima dell'esercizio

T7: 30 minuti dopo esercizio

# Influence of Acqua Lete® (Bicarbonate Calcic Natural Mineral Water) Hydration on Blood Lactate After Exercise

P. Brancaccio<sup>\*1</sup>, F.M. Limongelli<sup>1</sup>, I. Paolillo<sup>2</sup>, C. Grasso<sup>1</sup>, V. Donnarumma<sup>3</sup> and L. Rastrelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Seconda Università di Napoli, Servizio di Medicina dello Sport, Via Costantinopoli 16 80138, Napoli, Italy

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, Università di Salerno, Via Ponte Don Melillo, 84084 Fisciano, Salerno, Italy

<sup>3</sup>Laboratorio di Diagnostica e Ricerca Clinica Roecker, Marano di Napoli, Italy

**Abstract: Purpose:** This investigation examined the effects of Acqua Lete® bicarbonate calcic mineral water ingestion on blood lactate, glucose, and serum lactate dehydrogenase.

**Methods:** 88 amateur male athletes underwent two experimental trials with modified Wingate test: the first was carried out without hydration (Test C), the second (Test H) with hydration following this scheme: 44 subjects (Group A) hydrated by a very low mineral content water and 44 subjects (Group B) hydrated by Acqua Lete®. Measures of body temperature, [La<sup>-</sup>], glucose, total LDH and its isoenzyme pattern, were taken before (T0), during (T1-T5), and after exercise (T6-T7).

**Results:** Blood lactate significantly increased after the session of exercises in both groups: after hydration and 30' of resting (T7) Group B returned a level of lactate lower than the Group A ( $2.2 \pm 0.2$  vs  $2.9 \pm 0.3$  mmol/L;  $p < 0.001$ ). In Test H, LDH activities after exercise did not change but serum LDH5 isoenzyme activity decreased by 0.9% in athletes in Group B compared to Group A ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** All the athletes (Group B) hydrated pre-exercise with Acqua Lete® showed a significant decrease in blood lactate levels post-exercise and changes in LDH isoenzymatic pattern compared with athletes hydrated pre-exercise with a low mineral content water.

**Keywords:** Acqua Lete® mineral water, Hydration, Blood glucose, Blood lactate, LDH isoenzymes, Urinary specific gravity.

## INTRODUCTION

Lactic acid (La) at physiological pH is dissociated more than 99% into La<sup>-</sup> anions and protons (H<sup>+</sup>). During exercise and muscle contractions, muscle and blood [La<sup>-</sup>] and [H<sup>+</sup>] can rise to very high levels. Most researchers have argued that any detrimental effects of La on muscle and exercise performance are due to H<sup>+</sup> rather than La<sup>-</sup> [1]. However, some studies have recently identified strategies that may help to lower blood lactate levels during exercise and have a better recovery [2, 3]. High activity of cytosolic LDH is considered to guarantee La<sup>-</sup> formation in the cytosol under virtually all conditions but especially during exercise; total serum LDH and specific isoenzymes activities change with training status of the athlete. Variation in LDH isoenzymes profile might have a role in studying muscle response to training and particularly LDH5 is the isoenzyme involved in lactate production [4]. Lactate production is compensated by the displacement of bicarbonate into carbon dioxide, which is lost through the lungs during exercise more rapidly than it is produced by cell respiration [5]. Alkalinizing agents including sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>), mineral-based alkaline bottled water, nutritional drinks and mineral waters

containing more than 600 mg/L of bicarbonate, have been proposed for their potential effects on providing enhanced extracellular buffer capacity, leading to the elevated proton efflux from the contracting musculature [6-8] and elevated plasma HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> can improve exercise endurance in humans [9]. According to current EEC directives mineral waters, are of underground origin, protected from contamination, and microbiologically wholesome; present a peculiar and constant chemical composition, and have favorable effects on health; they must be bottled at source into safe and checked containers. Acqua Lete® mineral water shows calcium concentrations of 314 mg/L, magnesium levels of 15 mg/L and bicarbonate levels of 981 mg/L, implying very high calcium and bicarbonate mineral water. The Acqua Lete® exhibits other peculiarities, notably high levels of carbon dioxide, and low contents of sodium and potassium. Bicarbonate waters may neutralize acid secretion, accelerate gastric emptying, and provoke the release of gastric peptides (like gastrin and endorphins). They are indicated in hydrochloric-peptic hypersecretion and gastro-esophageal reflux disease [10]. During physical activity they restore liquids and salts, facilitate nitrogen waste clearance and counterbalance metabolic acidosis, which is typical of the effort syndrome of the sportsman [11].

The aim of this study was to investigate the effectiveness of a hydration strategy prior to exercise involving the ingestion of Acqua Lete® mineral water on blood lactate

\*Address correspondence to this author at the Seconda Università di Napoli, Servizio di Medicina dello Sport, Via Costantinopoli 16 80138, Napoli, Italy; Tel: 0039 815665908; Fax: 0039 815665864; E-mail: pabranca@libero.it

concentration and serum levels of LDH in 88 amateur athletes.

## METHODS

### Participants

All testing procedures were approved by the institution's Human Research Ethics committee. Eighty-eight male amateur athletes volunteered to participate in the study. All potential participants attended a familiarization session where details of the test protocol and their time commitment were described. All participants were advised that they were free to withdraw from testing at any time without any adverse consequences. Upon completion of the consent form participants were randomly selected into one of two groups of 44 subjects:

Group A : aged  $34.7 \pm 7.4$  (mean  $\pm$  S.D.); height  $178.5 \pm 5.6$ ; weight  $79.6 \pm 6.9$ , and Body Mass Index (BMI)  $24.6 \pm 1.2$ .

Group B : aged  $33.7 \pm 8.6$  (mean  $\pm$  S.D.); height  $174.6 \pm 5.4$ ; weight  $79.6 \pm 9.6$ , and Body mass Index (BMI)  $25.7 \pm 3.4$ .

### Study Design

Both groups underwent two experimental trials, performed on an electrically braked ergometer (Bycycle SECA Hamburg, Germany) with a modified repeated Wingate protocol: five bouts of cycling of 60" with a mean speed of 80 RPM and 60" of recovery between the sessions. The workload was 85% of their maximal workload calculated in a preliminary session a week before the first Test, with an incremental cycle test until exhaustion. Before the test all the athletes complete a 2 minutes of warm up on treadmill, with a speed of 4 Km/hr without grade.

The two Tests were:

- Test C of control, in basal conditions and without hydration the day of trial, for both groups.
- Test H, after one week of controlled hydration with 1.5 L/die of a very low mineral content water (dry residues 14.3 mg/l) in Group A and 1.5 L/die of a bicarbonate calcic water (Acqua Lete®) with a medium mineral content (dry residues >840 mg/l), in Group B. Moreover, athletes received 750 ml of water using freshly opened bottles one hour before the exercise and 250 ml of water in the following 30 minutes after effort, as recommended by National Athletic Trainer Association [8].

Before testing, all participants received a physical examination including medical history. In each session of work (Test C and Test H), was detected:

- *At rest before the exercise (T0):* blood concentration of lactate, glucose, total serum LDH and its isoenzymes, urinary specific gravity;
- *During exercise, after each bouts of cycling (T1, after 1 minute cycling; T2, after 2 minutes cycling; T3, after 3 minutes cycling; T4, after 4 minutes cycling):* blood glucose;
- *immediately after the last session of exercise (T5, after 5 minutes cycling):* blood glucose and blood lactate;

- *5 minute after exercise (T6):* blood glucose and blood lactate;
- *30 minutes after exercise (T7):* blood concentration of lactate, glucose, total serum LDH and its isoenzymes, urinary specific gravity;

### Testing Procedures

#### Blood Lactate Concentration

We have taken a drop of blood by pricking the fingertip after cleaning the sweat with cotton wool and wipe off the first drop of blood. Samples have been collected by inserting a La<sup>+</sup> strip into a calculator-sized instrument and then touching the strip with a drop of blood: the sample is drawn into the strip by capillary action. Lactate concentration (mmol/L) have been measured on whole blood before and after exercise (T0, T5, T6, T7) using an amperometric method with an enzymatic electrode (Lactate Pro, Arkay, Kyoto, Japan).

#### LDH and Isoenzymes Analysis

Blood samples were taken from a forearm vein by a trained nurse. The post-exercise blood samples were taken immediately after the cycling. The blood samples were put in ice bath and sent to the laboratory for analysis. The relative value of each lactic dehydrogenase isoenzyme (iso LDH) was measured by electrophoretic separation on a cool serum within 12 hours after blood sample was taken. LDH enzymes were analyzed with a spectrometric monostest method, (Pharmacia LKB-vitrospec) at 25°C of temperature, taking into consideration the following values as normal: LDH= 113 - 189 U/L. Isoenzymatic evaluation was performed by agarose-gel electrophoresis and determined by Beckman Appraise Densitometer System method and expressed as a percentage of the total LDH activity.

#### Blood Glucose

Blood was collected by fingertip and blood glucose concentration (mmol/L) was measured using a One Touch Ultra 2 glucometer per the manufacturer's instructions Johnson & Johnson instrument.

#### Urinary Specific Gravity

The urine was collected in polyethylene containers and mixed with 5 ml/L of a 5% solution of thymol in isopropanol to preserve the urine. During the collection period, the containers and their contents were maintained at 5°C. Urine samples were tested for the presence of blood and infection. Nitrite-positive and hematuria samples were discarded. Urinary specific gravity was recorded by Bayern Ketostix

#### Water Analysis

The bicarbonate-rich mineral water Acqua Lete (Acqua Lete®; Società Generale delle Acque Minerali, Pratella, CE, Italy), was consumed by the experimental Group B and shipped directly to the testing lab from its bottling facility. The very low mineral content water used for Group A is commonly available throughout Italy; contains no significant minerals or electrolytes whatsoever. Very low mineral content and Acqua Lete waters were also analyzed for 15 chemical parameters in our laboratory. Most of the elements were analyzed by ion chromatography (IC) using a Dionex

instrument, while a non-acidified aliquot was used to determine pH, electrical conductivity (EC), to titrate alkalinity. The 15 chemical and chemical-physical variables measured on each sample are listed in Table 1. Analytical methods are not further discussed here since they represent standard methods fixed by Italian regulations (IRSA - CNR methods 1994).

**Table 1. Chemical Characteristics of Mineral Waters Used in the Study\***

| Parameter                        | Measurement Unit | Acqua Lete      | Very Low Mineral Content |
|----------------------------------|------------------|-----------------|--------------------------|
| Conductivity                     | mS/cm            | 1321.40 ± 46.10 | 17.57 ± 0.91             |
| pH                               | pH               | 6.14 ± 0.11     | 5.00 ± 0.09              |
| Fixed residue                    | mg/l             | 878.41 ± 25.21  | 14.31 ± 0.68             |
| CO <sub>2</sub>                  | mg/L             | 1890.12 ± 72.51 | 15.22 ± 0.77             |
| (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) | mg/l             | 981.11 ± 33.82  | 3.51 ± 0.15              |
| Cl <sup>-</sup>                  | mg/l             | 8.24 ± 2.22     | 0.41 ± 0.02              |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>    | mg/l             | 6.60 ± 0.91     | 1.40 ± 0.08              |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>     | mg/l             | 4.14 ± 0.20     | 1.91 ± 0.08              |
| Na <sup>+</sup>                  | mg/l             | 4.91 ± 0.33     | 1.21 ± 0.05              |
| K <sup>+</sup>                   | mg/l             | 2.10 ± 0.08     | 0.32 ± 0.01              |
| Ca <sup>++</sup>                 | mg/l             | 313.70 ± 9.81   | 1.11 ± 0.05              |
| Mg <sup>++</sup>                 | mg/l             | 15.12 ± 3.92    | 0.42 ± 0.03              |
| Fe                               | mg/l             | 0.02 ± 0.01     | < 0.01                   |
| Sr <sup>++</sup>                 | mg/l             | 0.15 ± 0.01     | < 0.1                    |
| Li <sup>+</sup>                  | mg/l             | < 0.01          | < 0.01                   |

\*Each result represents the mean ± SD of three analysis for each water.

## Statistical Analysis

Statistical analysis was performed by SPSS statistical package for Windows, release 17.0 (Chicago, IL, USA). We compared the data collected in each group at every step of work:

- in test C (without hydration) before and after exercises;
- in the test H (with hydration) before and after exercises;
- the two groups to each other.

Statistical significance between Group A and Group B was evaluated by Student's T Test for independent samples: descriptive statistics were calculated, and values reported are mean ± standard deviation. Statistical significance within Group A and Group B, comparing Test C and Test H, was evaluated by Student's T Test for paired samples: descriptive statistics were calculated, and values are reported as mean ± standard deviation. Differences were considered statistically significant when  $p < 0.05$ .

## RESULTS

All the subjects underwent the protocol previously described. Tests were performed at an environmental

temperature of  $19.50 \pm 0.53^\circ\text{C}$  with a wetness of  $58.38 \pm 0.52\%$ .

## Blood Lactate

Table 2 identifies the lactate levels produced by participants under each test condition. In detail, without hydration (Test C), both groups started with the same mean values of  $[\text{La}^-]$  reached similar levels at peak of exercise and showed after 30 minutes resting the same blood lactate concentration, with a rate of decrease of 44.77 % in Group A vs 46.26 % in Group B. Some studies evaluate blood lactate after Wingate test, reporting a peak of blood lactate concentration between the 3<sup>rd</sup> and the 8<sup>th</sup> minute after effort [12, 13], with an almost complete recovery within the 10 minutes after the test [14]. In fact the shortness of exercise provides a delayed onset of lactate: in our study the modified Wingate test is longer than usual and therefore the lactate accumulation begins during exercise, reaching a peak at the end of it. Comparing Test C and Test H, we saw that after hydration, peak lactate values at T5 were increased by 10.4 % in Group A and of 44.2% in Group B probably for the higher rest levels detected in this Group in the Test H (Table 2). Moreover, comparing the response of two groups after hydration (Fig. 1), we found that Group B, despite reaching higher peak levels of lactate at the end of exercise (T5), when compared to Group A, showed a better blood lactate removal, with a decrease over the 30 minutes recovery period (T7) of 77.5 % vs 60.8 % (Table 2).

## LDH and Glucose

Comparing the groups in Test C before and after exercise (Table 3), we found almost the same isoenzymatic pattern. In Test H, (Table 4) LDH5 decreased significantly after exercise ( $4.0 \pm 0.7\%$  vs  $6.2 \pm 0.9\%$ ,  $p < 0.05$ ). Blood glucose showed a progressive decrease of its levels during the exercise in both groups during Test C and Test H (Table 5).

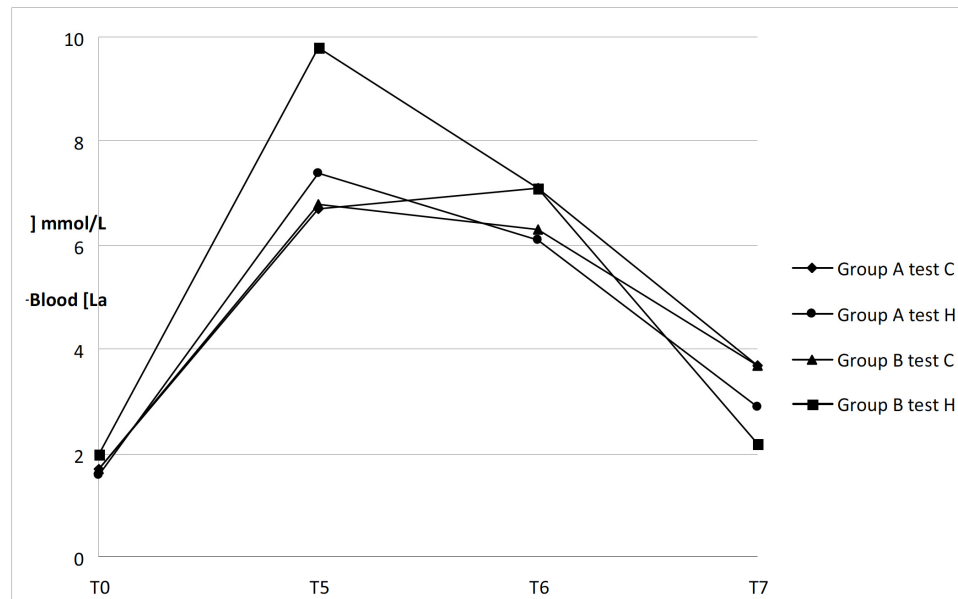
## Urinary Specific Gravity

When the groups were tested without hydration, we found in both group a slight but significant increase of urine gravity after exercise (Group A:  $1020 \pm 4.7$  g/L at rest vs  $1022 \pm 4.4$  g/L after exercise;  $p < 0.001$ ; Group B:  $1018 \pm 6.5$  g/L at rest vs  $1019 \pm 5.5$  g/L after exercise;  $p = \text{ns}$ ): conversely we expected the decreasing of urinary specific gravity after acute hydration, but we found that group B reached after exercise a significantly lower level than group A ( $1008.1 \pm 6.3$  g/L vs  $1014.6 \pm 5.1$  g/L;  $p < 0.001$ ), reflecting a better hydrated condition (Fig. 2).

## DISCUSSION

Many studies have used Wingate Test [15, 16] and modified Wingate Test [17], to evaluate physiological responses to anaerobic exercise. In our study we evaluate the response to anaerobic exercise before and after hydration with a bicarbonate-calcic mineral water, named Acqua Lete, compared to very low mineral content water (dry residues 14.3 mg/L).

The importance of  $[\text{La}^-]$  as a carbohydrate fuel source is now underscored [18]: in short term exhaustion exercise, muscle produces  $\text{La}^-$  quickly, while its clearance is slow. Lactate enters the plasma from interstitial fluid of active



**Fig. (1).** Differences between not hydrated (Test C) and hydrated athletes (Test H) in terms of the [La<sup>-</sup>] response to exercise and recovery. Group A (n=44) hydrated by a very low mineral content, Group B (n=44) hydrated by Acqua Lete mineral water.

**Table 2.** Blood Lactate Levels\* During and After Session Exercise\*\*

| Test C  | Rest (T0) | T5                   | Δ    | T6      | T7                   | Δ*                    |
|---------|-----------|----------------------|------|---------|----------------------|-----------------------|
| Group A | 1.7±0.4   | 6.7±0.6 <sup>a</sup> | 394% | 7.1±0.9 | 3.7±0.7 <sup>b</sup> | 44.77% <sup>c</sup>   |
| Group B | 1.7±0.3   | 6.8±0.8 <sup>a</sup> | 400% | 6.3±0.8 | 3.7±0.6 <sup>b</sup> | 46.26% <sup>d</sup>   |
| Test H  | Rest (T0) | T5                   | Δ    | T6      | T7                   | Δ*                    |
| Group A | 1.6±0.2   | 7.4±0.8 <sup>a</sup> | 462% | 6.1±0.7 | 2.9±0.3 <sup>b</sup> | 60.80% <sup>c e</sup> |
| Group B | 2.0±0.5   | 9.8±0.6 <sup>a</sup> | 490% | 7.1±0.4 | 2.2±0.2 <sup>b</sup> | 77.55% <sup>c d</sup> |

Group A: Control water.

Group B: Lete Water.

\*Values are expressed in mmol/L.

\*\*Mean±SE, n=88.

Δ rate of increase measured in percentage (%) respect T0.

Δ\* rate of decrease measured in percentage (%) respect T5.

<sup>a</sup>Significantly different from resting values, P < 0.05.

<sup>b</sup>Significantly different from resting values, P < 0.001.

<sup>c,d</sup> P < 0.001.

<sup>e</sup> P < 0.05.

Test C: test performed without hydration.

Test H: test performed with hydration.

Group A: subjects hydrated with control water.

Group B: subject hydrated with Lete water.

T5: immediately after exercise.

T6: 5 minutes after exercise.

T7: 30 minutes after exercise.

muscle and from the plasma into the red blood cells (RBC), which are in equilibrium with plasma, so that RBC/plasma ratio is almost constant. The tool we used for blood lactate evaluation was Lactate Pro, which measures lactate in whole blood lysing RBC, and has been found to be a reliable instrument for lactate detection [19]. In Test C, without hydration (Fig. 1), we found in both groups an increase of lactate levels immediately after exercise (T5) remaining elevated until the 5<sup>th</sup> minute and returning at lower values 30 minutes after exercise (Table 2). In the second test with hydration (Test H, Table 2) the groups showed different responses: the Group B, despite reaching a higher increase of lactate at the end of exercise (490% vs 462%, p<0.05), had

significantly lower values after 30 minutes, than the Group A (2.2±0.2 mmol/L vs 2.9±0.3 mmol/L, respectively; p<0.001). Hydration status has been widely studied, detecting its incidence on lactate threshold, showing that, low levels of hydration; change the trigger of anaerobic metabolism [20, 21]. In fact, according with literature, the better hydration status improved the recovery after exercise in both groups of athletes, with a rate of decrease of lactate higher in test H respect the test C.

Besides in our study the mineral ion composition of water seems to have had an effect on blood lactate: the water administered during the second trial were very different (Table 1), the very low mineral content water had low levels

of calcium and bicarbonate and a dry residues of 27 mg/l (Table 1), the Acqua Lete mineral water with significant contents of bicarbonate (981.1 mg/L), calcium (313.7 mg/L) and magnesium (15.12 mg/L), belongs to the group of the bicarbonate-calcics and exhibits other interesting peculiarities, notably high levels of carbon dioxide (1890.12 mg/L), interesting amount of  $\text{Sr}^{++}$  (0.15 mg/L) and low contents of sodium (4.91 mg/L) and potassium (2.10 mg/L).

**Table 3. Enzyme activities ( $\pm$  s.d.) at each testing stage (n=88) in Test C**

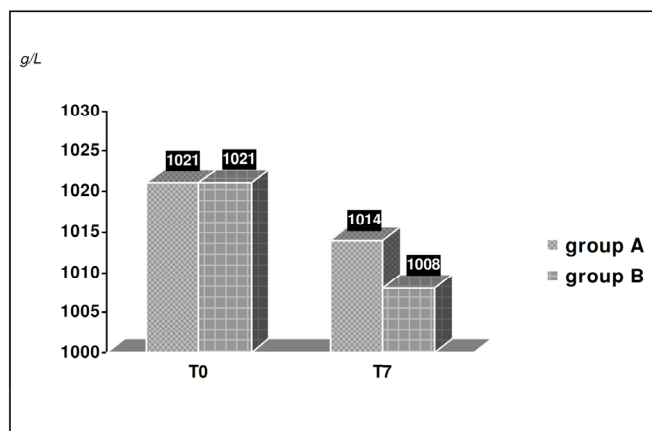
| Enzyme           | Rest (T0)                  | T7                          |
|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Group A</b>   |                            |                             |
| Serum total LDH* | 287.6 $\pm$ 59.6           | 279.7 $\pm$ 64.1            |
| LDH1**           | 25.4 $\pm$ 1.6             | 24.6 $\pm$ 1.78             |
| LDH2**           | 37.3 $\pm$ 0.8             | 36.4 $\pm$ 1.31             |
| LDH3**           | 24.0 $\pm$ 0.7             | 25.9 $\pm$ 1.01             |
| LDH4**           | 7.8 $\pm$ 1.3              | 8.0 $\pm$ 1.26              |
| LDH5**           | 5.5 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup> | 5.1 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup> |
| <b>Group B</b>   |                            |                             |
| Serum total LDH* | 347.5 $\pm$ 42.0           | 334.7 $\pm$ 53.1            |
| LDH1**           | 26.3 $\pm$ 1.3             | 25.3 $\pm$ 1.8              |
| LDH2**           | 36.2 $\pm$ 0.6             | 35.8 $\pm$ 1.2              |
| LDH3**           | 24.3 $\pm$ 1.8             | 25.9 $\pm$ 0.5              |
| LDH4**           | 7.9 $\pm$ 1.3              | 8.4 $\pm$ 1.4               |
| LDH5**           | 5.3 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup> | 4.6 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>  |

\*Values are expressed in U/L.

\*\*% total LDH.

<sup>a</sup>Significantly different from resting value,  $P < 0.001$ .

<sup>b</sup>Significantly different from resting values,  $P < 0.05$ .



**Fig. (2).** Urinary specific gravity detected in Test H before and after exercise. T0=: before exercise; T7= 30 minutes after exercise. Data are expressed as mean  $\pm$  SD; n=88; Standard deviations were below 5%.

In athletes hydrated with Acqua Lete we found a significant decrease of specific urinary gravity after effort, in fact subjects who drank Acqua Lete mineral water (Group B) showed a significant lower mean values of specific urinary

gravity when compared with athletes belonging to Group A (Fig. 2).

Research has shown that the free intake of mineral rich alkalizing bottled water, could improve hydration status in young adults [22]. However, studies about the effect of bicarbonate ingestion on metabolic response are often conflicting. A study conduct on horses by Schuback *et al.* in 2002 reported no effect of sodium bicarbonate ingestion on metabolic response and duration of exercise [23]; contrariwise other study reported in athletes, show an improved performance in a way dose-dependent [24-26] and probably by increasing buffering capacity [27, 28]. Alkalinizing agents, including sodium bicarbonate, have been proposed as ergogenic aids for their potential effect on providing enhanced extracellular buffer capacity. In fact increased blood lactate, commonly observed with metabolic alkalosis, results from a complex series of events which modulate the activities of the key regulatory enzymes, resulting in a mismatch between the rates of pyruvate production and oxidation [29]; metabolic alkalosis leads to an increased lactate production and intramuscular accumulation resulting from the absence of downregulation of glycogenolysis and glycolysis that typically occurs as pH declines.

**Table 4. Enzyme Activities ( $\pm$  s.d.) at Each Testing Stage (n=88) in Test H**

| Enzyme           | Rest (T0)                  | T7                          |
|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Group A</b>   |                            |                             |
| Serum total LDH* | 304.4 $\pm$ 52.4           | 301.2 $\pm$ 51.9            |
| LDH1**           | 25.2 $\pm$ 1.0             | 23.1 $\pm$ 1.9              |
| LDH2**           | 36.6 $\pm$ 1.9             | 38.3 $\pm$ 1.3              |
| LDH3**           | 23.5 $\pm$ 1.5             | 24.8 $\pm$ 0.4              |
| LDH4**           | 8.2 $\pm$ 1.3              | 7.6 $\pm$ 1.3               |
| LDH5**           | 6.5 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 6.2 $\pm$ 0.9 <sup>bc</sup> |
| <b>Group B</b>   |                            |                             |
| Serum total LDH* | 340.5 $\pm$ 70.4           | 334.7 $\pm$ 53.1            |
| LDH1**           | 26.8 $\pm$ 1.2             | 27.8 $\pm$ 1.7              |
| LDH2**           | 35.6 $\pm$ 1.9             | 36.3 $\pm$ 0.8              |
| LDH3**           | 24.7 $\pm$ 1.9             | 25.0 $\pm$ 1.4              |
| LDH4**           | 7.5 $\pm$ 1.2              | 6.9 $\pm$ 0.9               |
| LDH5**           | 5.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup> | 4.0 $\pm$ 0.7 <sup>ac</sup> |

\* Values are expressed in U/L.

\*\*% total LDH.

<sup>a</sup>Significantly different from resting value,  $P < 0.001$ .

<sup>b</sup>Significantly different from resting values,  $P < 0.05$ .

<sup>c</sup>  $P < 0.05$

In our study the specificity of the Acqua Lete water, with the combination of high calcium content and a buffering agent, may have affected the increase of lactate at peak of exercise and the restore after exercise, leading to minimal, but significantly lower levels of  $[\text{La}^-]$  after effort. The intracellular lactate shuttle (ILS) hypothesis holds that lactate produced as the result of glycolysis and

**Table 5. Blood Glucose Levels\* During and After Session Exercise\*\***

| Test C  | T0      | T1      | T2      | T3      | T4      | T5                   | T6      |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------------------|---------|
| Group A | 4.6±0.2 | 4.4±0.3 | 4.6±0.3 | 4.5±0.3 | 4.6±0.3 | 4.1±0.3 <sup>a</sup> | 4.3±0.1 |
| Group B | 5.0±0.6 | 4.8±0.6 | 4.9±0.5 | 5.0±0.5 | 4.7±0.5 | 4.6±0.5 <sup>a</sup> | 4.5±0.4 |
| Test H  | T0      | T1      | T2      | T3      | T4      | T5                   | T6      |
| Group A | 4.8±0.5 | 4.9±0.7 | 4.4±0.3 | 4.6±0.3 | 4.3±0.3 | 4.3±0.4 <sup>a</sup> | 4.3±0.4 |
| Group B | 5.1±0.6 | 4.8±0.4 | 4.6±0.3 | 4.7±0.5 | 4.9±0.6 | 4.6±0.5 <sup>a</sup> | 4.6±0.5 |

\*Values are expressed in mmol/L.

\*\*Mean±SE.

<sup>a</sup>Significantly different from resting values,  $P < 0.05$ .

glycogenolysis in the cytosol, is balanced by oxidative removal in mitochondria of the same cell. The presence of intracellular lactate shuttles gives rise to the notion that glycolytic and oxidative pathways can be viewed as linked processes, because lactate, the product of one pathway, is the substrate for the other [30]. After its continuous production in citosol by LDH5 (M4), lactate diffusing in mitochondrial matrix, where LDH1 (H4) would catalyse the conversion of lactate back to pyruvate, with concomitant interconversion of NADH and NAD. The evaluation of total LDH and its isoenzymes allows obtaining much information about the muscle metabolism [4]. In fact strenuous exercise induces a significant increase of LDH [31] and the degree of the rise depends on the intensity and duration of the effort [32, 33]. We did not found an increase of total enzyme in Group A, neither in Group B, in both tests (C and H), probably for the type and intensity of effort: In our study the time of examination (30 minutes after exercise) and the type of exercise (submaximal) did not allow to detect a significant increase of total enzyme (Tables 3 and 4). Besides we found after hydration a variation of isoenzymatic pattern after exercise, which showed in Group B, significantly lower values of LDH5 compared to Test C ( $4.0 \pm 0.7\%$  vs  $4.6 \pm 0.8\%$ ,  $p < 0.05$ ) and compared to Group A in the same test (H) ( $4.0 \pm 0.7\%$  vs  $6.2 \pm 0.9\%$ ,  $p < 0.05$ ), and increasing, although non significant, levels of LDH1 and LDH2 (Table 4).

Blood glucose response to exercise has been widely studied because it reflects the lactate responses to effort [34]. At rest and during moderate intensity exercise adrenaline stimulates glycogenolysis and lactate production [35]. In our study during the Test C, the increase of lactate coincides with a decrease of blood glucose. In fact after exercise (T5) both groups had a blood glucose level significantly lower than before the exercise (T0) (Group A:  $4.1 \pm 0.3$  vs  $4.6 \pm 0.2$  mmol/L,  $p < 0.05$ ; Group B:  $4.6 \pm 0.5$  vs  $5.0 \pm 0.6$  mmol/L,  $p < 0.05$ ). Hydration status can modify the hormonal and metabolic response to exercise, influencing carbohydrate metabolism [36]. In fact during moderate intensity exercise, lactate competes with blood-glucose as a metabolic substrate and may represent a mechanism of protection against premature hypoglycemia during prolonged exercise. The increase in the percentage oxidation from lactate coincided with the decrease in the percentage oxidation of blood glucose, resulting in a decreased glucose production to maintain blood glucose homeostasis [37].

## CONCLUSION

The oral intake of Acqua Lete®, a bicarbonate calcic natural mineral water with peculiar and exclusive mineral ion composition, before and after the Wingate test was associated with a better oxidation of lactate, LDH isoenzymatic variation, and an improved maintenance of physiological homeostasis in athletes. In particular, Acqua Lete water shown to improve the restore due to its buffering capacity. These results indicate that the habitual consumption of Acqua Lete water may be a valuable nutritional vector for influencing the restore and hydration status in athletes. Additional studies are warranted to fully explore the effects of Acqua Lete in specific sport skills such as football and tennis with the measurement of blood lactate levels and LDH isoenzymatic pattern.

## REFERENCES

- [1] Fitts RH Effects of regular exercise training on skeletal muscle contractile function. *Am J Phys Med Rehabil* 2003; 82: 320-31.
- [2] Neric FB, Beam WC, Brown LE, *et al.* Comparison of swim recovery and muscle stimulation on lactate removal after sprint swimming. *J Strength Cond Res* 2009; 23: 2560-7.
- [3] Greenwood JD, Moses GE, Bernardino FM, *et al.* Intensity of exercise recovery, blood lactate disappearance, and subsequent swimming performance. *J Sports Sci* 2008; 26: 29-34.
- [4] Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, *et al.* Serum enzyme monitoring in sport medicine. *Clinic J Sport Med* 2008; 27: 1-18.
- [5] Yunoki T, Ogant H, Yanoi T. Relationship between blood lactate concentration and excessive CO<sub>2</sub> expiration during and after ramp exercise. *Adv Exerc Sports Physiol* 2003; Vol.9, No.3: 97-103.
- [6] Montain SJ. Hydration recommendations for sport 2008. *Curr Sports Med Rep* 2008; 7: 187-92.
- [7] Von Duvillard SP, Arciero PJ, Tietjen-Smith T, *et al.* Sports drinks, exercise training, and competition. *Curr Sports Med Rep* 2008; 7: 202-8.
- [8] Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, *et al.* National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid Replacement for Athletes. *J Athl Train* 2000; 35: 212-24.
- [9] Matson LG, Tran ZV. Effects of sodium bicarbonate ingestion on 470 anaerobic performances: a meta-analytic review. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 1993; 20: 2-28.
- [10] Petraccia L, Liberati G, Masciullo SG, *et al.* Water, mineral waters and health. *Clin Nutr* 2006; 25: 377-85.
- [11] Shirreffs SM, Aragón-Vargas LF, Keil M, *et al.* Rehydration after exercise in the heat: a comparison of 4 commonly used drinks. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2007; 17: 244-58.
- [12] McLellan TM, Kavanagh MF, Jacobs I. The effect of hypoxia on performance during 30 s or 45 s of supramaximal exercise. *Eur J Appl Physiol and Occup Physiol* 1990; 60: 155-61.
- [13] Medbø JI, Tabata I. Anaerobic energy release in working muscle during 30 s to 3 min of exhausting bicycling. *J Appl Phys* 1993; 75: 1654-60.
- [14] Ozturk M, Ozer K, Gokce E. Evaluation of blood lactate in young men after wingate anaerobic power test. *East J Med* 1998; 3: 13-6.

- [15] Weinstein Y, Bediz C, Dotan R, *et al.* Reliability of peak-lactate, heart rate, and plasma volume following the Wingate test. *Med Sci in Sport Exerc* 1998; 30: 1456.
- [16] Bampouras TM, Marrin K. Comparison of two anaerobic water polo-specific tests with the Wingate test. *J Strength & Cond Res* 2009; 23: 336-40.
- [17] Rodio A, Quattrini FM, Fattorini L, *et al.* Power output and metabolic response in multiple Wingate test performed with arms. *Medicina dello Sport* 2008; 61: 21-8.
- [18] Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 2004; 558: 5-30.
- [19] Medbø JI, Mamen A, Holt Olsen O, *et al.* Examination of four different instruments for measuring blood lactate concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60: 367-80.
- [20] Kenefick RW, Mahood NV, Mattern CO, *et al.* Hypohydration adversely affects lactate threshold in endurance athletes. *J Strength Cond Res* 2002; 16: 38-43.
- [21] Papadopoulos C, Doyle J, Rupp J, *et al.* The effect of the hypohydration on the lactate threshold in a hot and humid environment. *J Sports Med Phys Fitness* 2008; 48: 293-9.
- [22] Heil DP. Acid-base balance and hydration status following consumption 425 of mineral-based alkaline bottled water. *J Int Soc Sports Nutr* 2010; 13: 7-29.
- [23] Schuback K, Essen-Gustavsson B, Persson SG. Effect of sodium bicarbonate administration on metabolic responses to maximal exercise. *Equine Veterinary Journal. Supplement* 2002; 539-44.
- [24] Douroudos II, Fatouros IG, Gourgoulis V, *et al.* Dose-related effects of prolonged NaHCO<sub>3</sub> ingestion high-intensity exercise. *Med Sci Sport Exerc* 2006; 38: 1746-53.
- [25] Price MJ, Simons C. The effect of sodium bicarbonate ingestion on high-intensity intermittent running and subsequent performance. *J Strength Cond Res* 2010; 24: 1834-42.
- [26] Edge J, Bishop D, Goodman C. Effects of chronic NaHCO<sub>3</sub> ingestion during interval training on changes to muscle buffer capacity, metabolism, and short-term endurance performance. *J Appl Physiol* 2000; 10: 918-25.
- [27] Lindh AM, Peyrebrune MC, Ingham SA, *et al.* Sodium bicarbonate improves swimming performance. *Int J Sports Med* 2008; 29: 519-23.
- [28] Dalbo VJ, Roberts MD, Hassell SE, *et al.* Effects of a mineral antioxidant complex on clinical safety, body water, lactate response, and aerobic performance in response to exhaustive exercise. *Intl J Sport Nutr Exer Metab* 2010; 20: 381-92.
- [29] Hollidge-Horvat MG, Parolin ML, Wong D, *et al.* Effect of induced metabolic alkalosis on human skeletal muscle metabolism during exercise. *Am J Physiol- Endocrinol Metab* 2000; 278: E316-E29.
- [30] Dubouchaud H, Butterfield GE, Wolfel EE, *et al.* Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *Am J Physiol- Endocrinol Metab* 2000; 278: E571-E9.
- [31] Lippi G, Schena F, Salvagno GL, *et al.* Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half marathon run. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008; 68: 667-72.
- [32] Priest JB, Oei TO, Moorehead WR. Exercise-induced changes in common laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 285-9.
- [33] Stokke O. Clinical chemical changes in physical activity. *Scand J Soc Med* 1982; 29: 93-101.
- [34] Simoes HG, Grubert CGS, Kokubun E, *et al.* Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track test. *Eur J Appl Physiol* 1999; 80: 34-40.
- [35] Stainsby WN, Brechue WF, V O'Drobinak DM. Regulation of muscle lactate production. *Med Sci Sports Exerc* 1991; 23: 907-11.
- [36] Judelson DA, Maresh CM, Yamamoto LM, *et al.* Effect of hydration state on resistance exercise-induced endocrine markers of anabolism, catabolism, and metabolism. *J Appl Physiol* 2008; 105: 816-24.
- [37] Richter EA, Kiens B, Saltin B, *et al.* Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. *Am J Phys* 1998; 25: E555-61.

Received: July 12, 2011

Revised: August 21, 2011

Accepted: September 8, 2011

© Brancaccio *et al.*; Licensee Bentham Open.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.