

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Cardiologia e Ciências Cardiovasculares

**Ativação dos Músculos Inspiratórios Durante e Após Exercício:
Efeito Metabólico e na Redistribuição do Fluxo Sangüíneo**

Tese de Doutorado
Gaspar Rogério da Silva Chiappa

Orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro

Porto Alegre, Julho 2007
Brasil – RS.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Cardiologia e Ciências Cardiovasculares

**Ativação dos Músculos Inspiratórios Durante e Após Exercício:
Efeito Metabólico e na Redistribuição do Fluxo Sangüíneo**

Gaspar Rogério da Silva Chiappa

Orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro

*Tese de doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde: Cardiologia e
Ciências Cardiovasculares para
obtenção do título de Doutor em
Ciências Cardiovasculares*

Porto Alegre, Julho 2007
Brasil – RS.

DEDICO ESTA TESE

**À minha mãe, Cezarina da Silva Chiappa, exemplo de mulher, dedicada, afetuosa, carinho
e amor.**

**Pelos momentos que passamos juntos, sempre me incentivando em todos os instantes da
minha vida.**

À minha esposa, namorada, mulher, e melhor amiga, Adriana Meira Güntzel.

Pelos momentos inesquecíveis que vivemos durante a realização desta tese.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro, por ter me recebido em seu consultório depois do expediente de trabalho, há cinco anos atrás. Naquele instante, tive a certeza de que um dia espelhar-me-ia na sua história de vida como docente e profissional que é. Sou grato pelas nossas conversas, que sempre me passou tranqüilidade e sabedoria. Hoje, sou convicto que parte da minha formação devo a ele.

Ao Dr. Ricardo Stein, pelos ensinamentos de grupo, pessoa muito solidaria e amiga que proporcionou que construíssemos um verdadeiro grupo de pesquisa.

Ao Dr. Ruy Silveira Moraes, pelas belas idéias, discussões e sugestões de como conduzir os estudos. Pessoa de uma tranqüilidade e sempre amiga, capaz sempre de estender uma mão para nos ajudar.

A todas aquelas pessoas que de certo modo são responsáveis pela minha formação, que participaram dessa longa jornada. As meninas da pesquisa, pelas ajudas na organização dos estudos; A Sandra e a Cleusa, secretárias da Unidade dos Métodos Não-Invasivos, pela paciência, pelos agendamentos de pacientes, compartilhamento dos computadores. Pelas técnicas, que sempre puderam ajudar-me no preparo dos pacientes. Pela Estela, que não se encontra mais entre nós, pela dedicação ao seu trabalho, ela foi à pessoa que possibilitou e ajudou-me com o contato com o Dr. Jorge Pinto Ribeiro. A secretária do programa de pós-graduação, a Sirlei, que se não fosse por ela, talvez não poderia estar aqui fazendo esses agradecimentos.

Ao exemplo de colega, que incentivou o nosso grupo e possibilitou que pudéssemos ter um grupo de pesquisa, Bruno Roseguini Tesini. Agradeço ao Cristiano Nardin, Paulo José Cardoso, pela paciência e dedicação de poderem ter trabalho comigo. Com essas pessoas, posso afirmar que mais aprendi com eles do que eles comigo, muito obrigado.

Aos meus pais, em especial a minha mãe pela dedicação nesses últimos anos. Aos momentos que não pudemos estar presentes, mas, mesmo ausente, sempre serei agradecido a você pelo que sou, e pelo que você conseguiu transformar-me, eu te amo.

A minha amiga, namorada, esposa, Adriana Meira Güntzel, tenho total certeza que ela é minha outra cara-metade. Preciso agradecer toda sua paciência, dedicação, carinho e amor que mesmo em momentos difíceis nunca me abandonou, e, é claro pelo fato de poder conhecer muito bem o significado de ser amado. Ainda preciso agradecer pelo maior dos presentes, pelo nosso primeiro filho. Eu amo vocês, incondicionalmente.

À Deus pela continuidade das nossas vidas.

Muito obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
LISTA DE ANEXOS	9
RESUMO	10
CAPÍTULO I.....	11
INTRODUÇÃO.....	11
CAPÍTULO II.....	15
ARTIGO DE REVISÃO	15
<i>Introdução</i>	15
<i>Controle neural do fluxo sangüíneo muscular: atividade simpática</i>	17
<i>Controle do fluxo sangüíneo muscular mediado pelo endotélio vascular</i>	20
<i>A bomba muscular</i>	24
<i>Conclusão</i>	27
<i>Referências Bibliográficas</i>	28
CAPÍTULO III	33
OBJETIVOS	33
CAPÍTULO IV	34
ARTIGO MUSCULO INSPIRATÓRIO E LACTATO	34
<i>Resumo</i>	34
<i>Introdução</i>	36
<i>Materiais e Métodos</i>	37
<i>Resultados</i>	39
<i>Discussão</i>	46
<i>Referências Bibliográficas</i>	50
CAPÍTULO V	53
ARTIGO METABOREFLEXO INSPIRATÓRIO	53
<i>Resumo</i>	53
<i>Introdução</i>	55
<i>Materiais e Métodos</i>	56
<i>Resultados</i>	61
<i>Discussão</i>	69
<i>Referências Bibliográficas</i>	74

LISTA ABREVIATURAS**Estudo 1**

[Lac ⁻] _s	Concentração de lactato
VO ₂ pico	Consumo de oxigênio pico
TCPm	Teste cardiopulmonar máximo
VCO ₂	Produção de gás carbônico
V _E	Ventilação minuto
PETCO ₂	Pressão parcial final de dióxido de carbono
V _E /VCO ₂	Relação ventilação e produção de gás carbônico
V _C	Volume corrente
V _A	Ventilação alveolar
T _I /T _{TOT}	Relação tempo inspiratório e tempo total

Estudo 2

ICC	Insuficiência cardíaca crônica
TMI	Treinamento muscular inspiratório
P _I max	Pressão inspiratória máxima
<i>f</i>	Frequência respiratória
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
FC	Frequência cardíaca
PAM	Pressão arterial média

FSP	Fluxo sanguíneo da panturrilha
FSA	Fluxo sanguíneo do antebraço
RVP	Resistência vascular da panturrilha
RVA	Resistência vascular do antebraço
CVP	Condutância vascular da panturrilha
CVA	Condutância vascular do antebraço

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1.** Blood lactate during recovery from intense exercise: impact of inspiratory loading **78**
- ANEXO 2.** Inspiratory muscle training improves redistribution of blood flow to resting and exercising limbs in patients with chronic heart failure **99**

RESUMO

Introdução: Em indivíduos saudáveis, a ativação dos músculos inspiratórios pode reduzir fluxo sanguíneo periférico mediado pela ação do metaboreflexo muscular inspiratório.

Objetivos: Testar a hipótese de que ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício máximo contribuiria para *clearance*, além de conduzir redução dos níveis de lactato em indivíduos saudáveis. Avaliar o efeito da ativação dos músculos inspiratórios sobre a resposta do fluxo sanguíneo nos membros em repouso e em exercício em pacientes com insuficiência cardíaca e fraqueza muscular inspiratória (IC) comparado com indivíduos saudáveis e se o treinamento muscular inspiratório é capaz de atenuar esta resposta.

Métodos: Doze indivíduos saudáveis realizaram dois testes cardiopulmonares máximos seguidos de 20 min de recuperação com e sem carga inspiratória para avaliação dos níveis de lactato. Em 18 pacientes com IC e 10 indivíduos saudáveis, a fadiga dos músculos inspiratórios foi induzida pela adição de carga inspiratória de 60% da pressão inspiratória máxima, enquanto que o fluxo de sangue da panturrilha em repouso (FSP) e antebraço em exercício (FSA) foram medidos através de pletismografia. Para os pacientes com IC, foram realizadas também medidas após 4 semanas de treinamento muscular inspiratório.

Resultados: A ativação dos músculos inspiratórios reduziu o nível de lactato de recuperação em comparação à situação sem resistência inspiratória. Com fadiga muscular inspiratória, os pacientes com IC apresentaram maior redução do FSP ($55 \pm 12\%$ vs. $14 \pm 5\%$, $p < 0,01$) e atenuação do aumento do FSA em exercício ($6,9 \pm 2,0$ vs. $11,2 \pm 1,1$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) quando comparado aos indivíduos saudáveis. Após 4 semanas de treinamento muscular

inspiratório, os pacientes com IC melhoraram o FSP ($1,19 \pm 0,3$ vs. $2,0 \pm 1,0$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) e FSA em exercício ($6,9 \pm 2,0$ vs. $9,8 \pm 2,8$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) com fadiga do músculo inspiratório.

Conclusões: Esses dados são consistentes com a noção de que os músculos inspiratórios podem ser consumidores de lactato durante a recuperação do exercício e que a fadiga dos músculos inspiratórios resulta em redução do fluxo de sangue para membros em repouso e em exercício. Em pacientes com IC, o treinamento muscular inspiratório melhora a redistribuição do fluxo de sanguíneo.

ABSTRACT

Background: In healthy subjects, inspiratory muscle activation may reduce peripheral blood flow, a response known as the inspiratory muscle-mediated metaboreflex.

Objectives: We tested the hypothesis that inspiratory muscle activation during recovery of intense exercise would contribute to lactate clearance. We also evaluated the effect of inspiratory muscle activation on blood flow response to the resting and exercising limbs in patients with chronic heart failure and inspiratory muscle weakness (CHF) compared with healthy subjects and whether inspiratory muscle training attenuates this effect.

Methods: Twelve healthy men underwent 2 maximal incremental exercise tests followed by a 20 min recovery period with and without inspiratory resistance for the evaluation of blood lactate levels. In 18 patients with CHF and 10 healthy volunteers, inspiratory muscle fatigue was induced by the addition of inspiratory load of 60% of maximal inspiratory pressure, while blood flow to the resting calf (CBF) and exercising forearm (FBF) were measured by venous occlusion plethysmography. For the patients with CHF, measurements were also made after a 4-week program of inspiratory muscle training.

Results: Inspiratory muscle activation reduced lactate levels during recovery of intense exercise. With inspiratory muscle fatigue, CHF patients presented a more marked reduction in resting CBF (mean \pm SD 55 ± 12 vs. 14 ± 5 %, $P < 0.01$) and showed an attenuated rise in FBF (6.9 ± 2.0 vs. 11.2 ± 1.1 ml/min.100ml; $P = 0.01$) when compared to controls. After 4 weeks of inspiratory muscle training, CHF patients improved resting CBF (1.19 ± 0.3 vs. 2.0 ± 1.0 ml/min.100ml; $P =$

0.01) and exercise FBF (6.9 ± 2.0 vs 9.8 ± 2.8 ml/min.100ml; $P = 0.01$) with inspiratory muscle fatigue.

Conclusions: These data are consistent with the notion that inspiratory muscles may be net consumers of lactate during recovery from intense exercise. In patients with CHF, the induction of inspiratory muscle fatigue results in marked reduction of blood flow to resting and exercising limbs. Inspiratory muscle training improves blood flow redistribution in these patients.

Capítulo I

Introdução

Nos últimos anos, o cenário da fisiologia do exercício tem dado atenção à resposta ventilatória ao exercício em indivíduos saudáveis, podendo seus princípios fundamentais ser aplicados ao estudo da fisiopatologia do exercício. Muitos foram os achados na última década de pesquisa. Jerome Dempsey e seus colaboradores,¹⁻⁷ Donal O'Leary,⁸ e Timothy Musch⁹ em seus estudos têm relatado que o exercício pode ser limitado por alteração das fibras metabossensíveis musculares. Assim como, a estimulação de pequenas fibras quimiossensíveis e mecanossensíveis musculares durante o exercício desencadeia uma série de ajustes cardiovasculares, principalmente por meio da ativação do sistema nervoso simpático, que atua na redistribuição do débito cardíaco em favor dos músculos em atividade.

Além disso, esses autores¹⁻³ têm sugerido interação entre a função dos músculos respiratórios com importantes ajustes cardiovasculares durante o exercício. O exercício máximo pode desencadear fadiga de músculos periféricos e diafragmático, quando exercitados acima de 90% do consumo máximo de oxigênio.¹⁰ Ultimamente, esse mecanismo tem sido estudado em função de que, em situações que exijam maiores demandas metabólicas, a disponibilidade de oxigênio pode encontrar-se moderadamente reduzida, especialmente na insuficiência cardíaca. A presença desse mecanismo conhecido como metaboreflexo muscular inspiratório quando estimulado pode acarretar em redistribuição de fluxo sanguíneo dos músculos periféricos para os respiratórios, na magnitude de 10-15 % do débito cardíaco, com importantes reduções na condutância vascular e no fluxo sanguíneo.^{2,3,4}

Isso pode ser explicado pelo fato da maior ativação da musculatura inspiratória, gerando acúmulos de metabólitos capaz de estimular as aferências do tipo III e IV e produzir uma intensa vasoconstrição mediada pelo aumento da atividade nervosa muscular simpática. Em situações em que a resposta do metaboreflexo muscular inspiratório é induzido como, por exemplo, no exercício máximo, esse mecanismo pode influenciar diretamente o surgimento da fadiga periférica^{11,12}.

Por outro lado, ainda, o aumento na ativação dos músculos inspiratórios tem sido capaz de afetar a interação entre a produção de lactato e a “*clearance*” durante exercício, pelo simples fato de que esses músculos podem gerar e consumir ácido láctico como fonte de energia essencial¹³. Baseado nessa hipótese, Spengler et al¹⁴ têm demonstrado que o aumento na força dos músculos inspiratórios parece alterar a produção de lactato durante o exercício, o que poderia ter duas importantes implicações: uma, alterar o limiar da ativação do metaboreflexo muscular inspiratório e, se presente, poderia reduzir a fadigabilidade periférica; e outro, influenciar na recuperação do exercício após exercício máximo.

Diante desses pressupostos, na primeira parte revisaremos as respostas advindas da estimulação das fibras metabossensitivas musculares, destacando-se os potenciais mediadores e ativadores bem como os principais mecanismos de ação deste reflexo. Além disso, será descrito o comportamento deste mecanismo em condições patológicas, que cursam com alteração da função cardíaca e/ou ativação importante do sistema nervoso simpático, como a insuficiência cardíaca. Na segunda parte, apresentaremos as respostas reflexas da ativação dos músculos inspiratórios durante recuperação do exercício. Finalmente, na terceira parte dessa tese, abordaremos o estudo da ativação do metaboreflexo inspiratório e sua repercussão sobre a redistribuição do fluxo sanguíneo em pacientes com insuficiência cardíaca e o efeito da interação

com treinamento muscular inspiratório.

REFERÊNCIAS

1. Dempsey JA, Romer L, Rodman J, Miller J, Smith C. Consequences of exercise-induced respiratory muscle work. *Respir Physiol Neurobiol* 2006;151; 242–250.
2. Sheel AW, Derchak PA, Morgan BJ, Pegelow DF, Jacques AJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex reduction in resting leg blood flow in humans. *J Physiol* 2001; 537, 277–289.
3. Sheel AW, Derchak PA, Pegelow DF, Dempsey JA. Threshold effects of respiratory muscle work on limb vascular resistance. *Am J Physiol Heart Circ. Physiol.* 2002; 282, H1732–H1738.
4. St Croix CM, Morgan BJ, Wetter TJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex sympathetic activation in humans. *J. Physiol.* 2000; 529 (Pt 2), 493–504.
5. Harms CA, Babcock MA, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Dempsey JA. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 1997; 82, 1573–1583.
6. Harms CA, Wetter TJ, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Hanson P, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on cardiac output and its distribution during maximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 1998; 85, 609–618.
7. Harms CA, Wetter TJ, St Croix CM, Pegelow DF, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on exercise performance. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89, 131–138.

8. O'Leary DS, Augustyniak RA, Ansorge EJ, and Collins HL. Muscle metaboreflex improves O₂ delivery to ischemic active skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 45: H1399-H1403.
9. Musch T. Elevated diaphragmatic blood flow during submaximal exercise in rats with chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1993; 34: H1721-H1726.
10. Babcock MA, Johnson BD, Pegelow DF, Suman OE, Dempsey JA. Hypoxic effects on exercise-induced diaphragmatic fatigue in normal healthy humans. *J Appl Physiol* 1995; 78: 82-92.
11. McConnell AK, and Lomax Michelle. The influence of inspiratory muscle work history and specific inspiratory muscle training upon human limb muscle fatigue. *J Physiol* 2006;577.1:445-457.
12. Romer LM, Haverkamp HC, Lovering AT, Pegelow DF, Dempsey JA. Effect of exercise-induced arterial hypoxemia on quadriceps muscle fatigue in healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290, R365–R375.
13. Fregosi RF, Dempsey JA. Effects of exercise in normoxia and acute hypoxia on respiratory muscle metabolites. *J. Appl. Physiol.* 1986; 60:1274-1283.
14. Spengler CM, Roos M, and Laube SM. Decreased exercise blood lactate concentrations after respiratory endurance training in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1999; 79:299-305.

Capítulo II

Artigo de Revisão

Fluxo sanguíneo na insuficiência cardíaca: Interação entre fatores centrais e locais¹

A intolerância ao exercício é uma característica marcante da Insuficiência Cardíaca (IC) e resulta de uma complexa interação de diversos fatores.¹ Embora pacientes com IC apresentem uma resposta anormal do débito cardíaco ao exercício, tem sido amplamente sugerido que fatores periféricos, localizados, sobretudo no músculo esquelético, são os principais determinantes da baixa tolerância ao esforço nestes indivíduos.² Além de diversas alterações morfológicas na musculatura esquelética, como atrofia e mudança na distribuição entre os tipos de fibras musculares, os pacientes com IC apresentam ainda importantes alterações na relação entre os capilares sanguíneos e o músculo esquelético. Essas alterações limitam a difusão de oxigênio do sangue para o tecido muscular e principalmente alterações intrínsecas do metabolismo muscular, que desencadeiam acidose e fadiga muscular precoce no exercício.^{3,2}

A redução do fluxo sanguíneo muscular também é considerada, por alguns autores, um mecanismo fundamental na gênese da intolerância ao exercício na IC.⁴⁻⁹ Zelis et al⁹ sugeriu pela primeira vez que pacientes com IC apresentam redução do fluxo sanguíneo muscular em resposta ao exercício e a diversos estímulos vasodilatadores. Classicamente, pacientes com IC apresentam diversas anormalidades na circulação periférica, advindas, entre outros, da importante ativação

¹ Roseguini BT, Chiappa GR, Ribeiro JP. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*. 2007; 27:1-9.

do sistema nervoso autônomo simpático (SNS) e também redução do fluxo sanguíneo muscular em repouso.¹⁰ Contudo, a real importância da perfusão muscular na intolerância ao exercício na IC ainda permanece contraditória, já que diversos relatos na literatura têm encontrado uma resposta normal do fluxo sanguíneo muscular ao exercício em pacientes com IC.¹¹⁻¹⁵

A hiperemia relacionada ao exercício constitui uma resposta fundamental para a ligação entre o aumento no metabolismo muscular e o fornecimento de oxigênio para o músculo. Em geral, o fluxo sanguíneo muscular pode aumentar até 20 vezes no pico do exercício quando comparado a situação de repouso, o que representa um fluxo médio de 300-400 ml.min/100g.¹⁶ Esse aumento é conseguido mediante elevação do débito cardíaco e decréscimo na condutância vascular em vísceras e outros tecidos inativos, e, sobretudo devido ao aumento na condutância vascular na musculatura esquelética em atividade.^{17,18}

A condutância vascular no músculo esquelético é regulada pela interação de fatores centrais do controle cardiovascular e fatores locais. Os fatores centrais, que consistem dos sistemas neurais e hormonais, são responsáveis pela regulação da atividade cardíaca e do tônus vascular regional, sendo que o controle neural é mediado principalmente pela atividade do SNS.¹⁷ Já entre os fatores periféricos, considerados os principais responsáveis pela hiperemia relacionada ao exercício incluem: o controle metabólico, o controle mediado pelo endotélio vascular, o controle miogênico e a bomba muscular.¹⁷

Na IC, além da significativa hiperatividade do SNS,¹⁹ tem sido sugerido que exista disfunção no controle muscular mediado pelo endotélio²⁰ e mais recentemente, nos mecanismos de ação da bomba muscular durante o exercício.²¹ Contudo, a importância relativa destes mecanismos de controle na determinação da hiperemia relacionada ao exercício na IC ainda não estão esclarecidos. Nesta revisão, serão discutidos os mecanismos que estão envolvidos com o

controle do fluxo sanguíneo muscular no exercício mediados pelo: 1) sistema nervoso simpático, 2) pelo endotélio vascular e 3) pela bomba muscular, enfatizando-se quais as alterações destes mecanismos são encontradas em pacientes IC.

Controle neural do fluxo sanguíneo muscular: atividade nervosa simpática

As respostas do sistema nervoso autônomo são de fundamental importância para o controle cardiovascular no exercício. No início do exercício há um decréscimo progressivo da atividade parassimpática e concomitante aumento da atividade simpática, dependente da intensidade da realização e da massa muscular ativada durante o esforço.²² Na condição de repouso já existe uma atividade constritora vascular mediada pelo SNS, sendo que o bloqueio desse sistema aumenta em média duas vezes o fluxo sanguíneo para a musculatura.¹⁶ No exercício, o SNS é essencial para a redistribuição do débito cardíaco dos tecidos inativos para os músculos em atividade.²³

No entanto, no exercício dinâmico envolvendo grandes grupos musculares, a capacidade de vasodilatação da musculatura excede enormemente a capacidade de aumento no débito cardíaco.²⁴ Dessa forma, cria-se um paradoxo no qual existe a necessidade de vasoconstrição inclusive da musculatura ativa, de forma a manter o adequado controle da pressão arterial, paralelo a vasodilatação necessária para a manutenção adequada na relação entre o aumento no metabolismo e o aporte de oxigênio.²³ Embora a relação entre a vasodilatação funcional e a vasoconstrição simpática ainda permaneça controversa,²³ historicamente tem sido sugerido que exista uma modulação da atividade do SNS por mecanismos locais no músculo em atividade, através da chamada “*simpatólise funcional*”.²²

O conceito de “*simpatólise funcional*” foi proposto em 1962 por Remensnyder et al,²⁵ segundo o qual a vasoconstrição simpática no músculo esquelético ativo é influenciada por fatores locais advindos da vasodilatação metabólica, fazendo com que o músculo liso vascular fique hiporesponsivo a estimulação de catecolaminas.^{23,17} Mais recentemente, Tschakovsky et al²⁶ mostraram que durante o exercício de prensão manual, a resposta a ativação simpática realizada mediante infusão de tiramina, que desencadeia produção endógena de noradrenalina no leito vascular, foi significativamente reduzida quando comparada a situação de repouso. Da mesma forma, Rosenmeier et al²⁷ mostraram que a vasoconstrição simpática mediada por agonistas de receptores adrenérgicos vasculares α_1 e α_2 encontra-se substancialmente reduzida no exercício, sugerindo que existe uma modulação de fatores metabólicos locais alterando a responsividade adrenérgica pós-juncional.

Diversas substâncias têm sido apontadas como moduladoras da atividade simpática no exercício. Embora os resultados sejam ainda não conclusivos, tem-se sugerido que substâncias advindas do próprio músculo ativo ou do endotélio vascular podem modular a vasoconstrição mediada por receptores α -adrenérgicos.²² A adenosina, as prostaglandinas e, sobretudo o óxido nítrico, derivado do endotélio vascular, parecem funcionar como substâncias ‘simpatolíticas’ no exercício.²⁸ Embora Chavosan et al,²⁸ tenham encontrado que a inibição da síntese de óxido nítrico reduz a modulação da atividade simpática no exercício. Dinunno et al não encontraram diferenças nas respostas do fluxo sanguíneo muscular a estimulação de receptores α_1 e α_2 concomitante ao bloqueio da síntese de ON. Estes achados sugerem que existem diversos mecanismos responsáveis pela simpatólise funcional e que tais vias parecem ser redundantes na determinação da resposta final.

Na IC, a relação entre a atividade do SNS e o controle do fluxo sanguíneo muscular tem sido pouco estudada. Classicamente, pacientes com IC apresentam aumento da resistência vascular periférica, mediada, entre outros, pelo aumento da atividade do sistema renina-angiotensina, pelo aumento da vasopressina e, sobretudo pelo aumento da atividade do SNS.¹⁰ Além do aumento no nível de catecolaminas plasmáticas em repouso, estes pacientes apresentam aumento da atividade nervosa simpática para o músculo, mensurada através da microneurografia. Durante o exercício, a resposta simpato-adrenal também é exagerada na IC, provocando alterações no padrão de redistribuição do débito cardíaco.¹⁰ Em pacientes com IC moderada, por exemplo, a redução do fluxo sanguíneo para leitos vasculares inativos no exercício, como o rim e o baço pode chegar a até 60% dos valores normais.¹⁰

Os efeitos deletérios da ativação excessiva do SNS podem ainda estar relacionados a alterações no fluxo sanguíneo dos músculos ativos, resultando em redução do aporte de oxigênio e conseqüente redução da tolerância ao esforço na IC. Lang et al,²⁹ verificaram o efeito da administração de cloridina, um agente inibidor simpático central, no fluxo sanguíneo e no metabolismo em resposta ao exercício em pacientes com IC e encontraram um aumento do fluxo sanguíneo para a perna, diminuição nos níveis de catecolaminas e redução nos níveis de lactato na artéria pulmonar após administração da droga. Embora estes achados suportem o fato de que a ativação do SNS pode estar associada à redução do fluxo sanguíneo para o músculo e redução da capacidade exercício, os autores não encontraram diferença no tempo de exercício quando comparando a situação com e sem administração da droga. Da mesma forma, diversos outros investigadores¹¹⁻¹⁵ não encontraram redução do fluxo sanguíneo para o músculo ativo em pacientes com IC quando comparado a indivíduos saudáveis, o que sugere que este componente pode não ser fundamental para a baixa intolerância ao esforço nestes indivíduos.

No entanto, evidências experimentais mostram que a excessiva ativação simpática na IC parece ter relação direta com o controle do fluxo sanguíneo muscular. Em um elegante experimento com ratos infartados, Thomas et al,³⁰ mensuraram as respostas da pressão arterial e do fluxo sanguíneo femoral a estimulação do nervo simpático lombar nas condições de repouso e exercício. Enquanto nos ratos saudáveis a vasoconstrição mediada pela ativação simpática foi significativamente menor na condição de exercício quando comparada ao repouso, nos ratos com IC esse fenômeno não ocorreu, demonstrando uma deterioração da simpatólise funcional nesta doença (Figura 1). No mesmo estudo, estes autores mostraram ainda que o principal mecanismo responsável pela modulação anormal da atividade simpática no exercício na IC parece ser a síntese inadequada de óxido nítrico mediada pelo aumento do estresse oxidativo no músculo em contração.

Controle do fluxo sanguíneo muscular mediado pelo endotélio vascular

O controle do tônus vascular é determinado pelo balanço entre mecanismos vasoconstritores e vasodilatadores.³¹ Tem sido amplamente sugerido que o endotélio vascular representa um mecanismo de importância fundamental na determinação do tônus vascular em repouso e possivelmente no exercício.³¹ O endotélio é capaz de detectar estímulos físicos contra a parede dos vasos bem como estímulos químicos presentes na corrente sanguínea e desencadear respostas que modulam a estrutura do vaso, e, sobretudo, o tônus vascular.³²

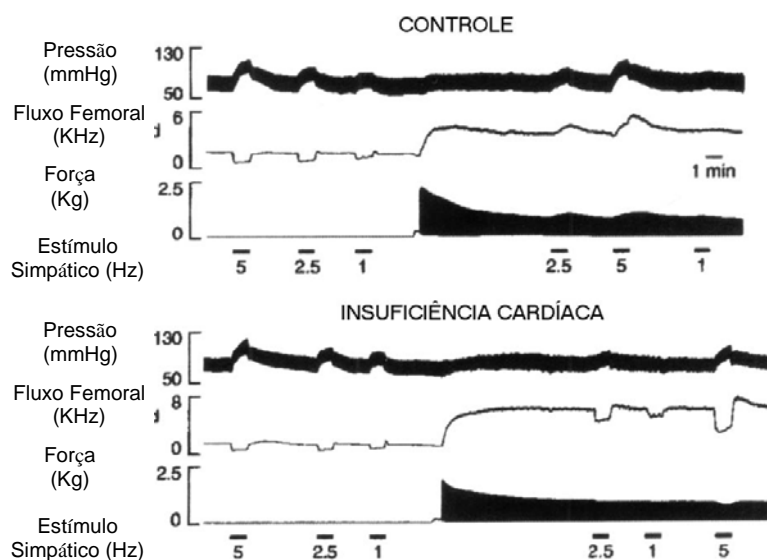


Figura 1: Exemplos representativos das respostas da pressão arterial (pressão), fluxo sanguíneo femoral e da força de contração muscular, durante a estimulação nervosa simpática no músculo em repouso e durante a contração em ratos saudáveis (*Controle*- painel superior) e ratos com Insuficiência Cardíaca (Painel inferior). Adaptado de Thomas G et al. *Circ Res* 88:816-823, 2001.

Diversas substâncias são produzidas pelo endotélio vascular em resposta aos diferentes estímulos, sendo que as principais são: a prostaciclina, o óxido nítrico (ON), o fator-hiperpolarizante derivado de endotélio e a bradicinina, que possuem propriedades vasodilatadoras, e a endotelina e a angiotensina-II, que são fatores vasoconstritores³¹. No músculo esquelético, especial atenção vem sendo dada ao ON, como potente regulador do tônus vascular de repouso. No exercício, onde há um aumento importante do estresse mecânico contra parede do vaso, o endotélio parece funcionar como um transdutor mecânico, liberando substâncias vasodilatadoras que tendem a normalizar o nível de estresse.³¹

Recentemente, Schrage et al³³ verificaram o efeito da inibição da síntese de óxido nítrico e também de prostaglandinas no fluxo sanguíneo muscular da artéria braquial durante a realização de 20 minutos de exercício da preensão manual. Durante a inibição da síntese de ON

observou-se em média um decréscimo no fluxo sanguíneo para 83% do valor da situação controle. Da mesma forma, durante a inibição da ciclo-oxigenase, observou-se que o fluxo sanguíneo médio foi de apenas 88% da situação controle, embora os efeitos fossem menos duradouros que para o ON. Tais achados levaram os autores a concluir que tanto o ON quanto as prostaglandinas contribuem independentemente para o controle da hiperemia relacionada ao exercício de preensão manual.

Por outro lado, Wilson et al,¹⁴ mostraram que embora o óxido nítrico possa contribuir para o controle do tônus vascular basal em repouso, não há uma participação efetiva desta substância na hiperemia relacionada ao exercício. Estes autores verificaram as respostas do fluxo sanguíneo para o antebraço durante a realização de exercício com o punho antes e após o bloqueio da síntese de ON e não verificaram efeitos significativos na resposta do fluxo sanguíneo muscular na situação de bloqueio. Da mesma forma, Endo et al,³⁴ não encontraram diferenças significativas na resposta do fluxo sanguíneo muscular ao exercício de preensão manual após o bloqueio da síntese de ON quando comparada a situação controle. De forma geral, levando-se em conta os diferentes protocolos e diferentes intensidades de exercício, tais resultados mostram que mais estudos são necessários no sentido de esclarecer o real papel do óxido nítrico e fatores derivados de endotélio nas respostas do fluxo sanguíneo muscular ao exercício.

Em pacientes com IC, a função endotelial vem sendo relativamente bem estudada. Estudos que utilizaram a infusão de metacolina, droga que estimula a síntese de ON, acetilcolina, que estimula a síntese de ON mediada por endotélio^{20,35} e ainda a N-monometil-L-arginina, inibidor específico da síntese de ON,²⁰ sugerem que estes pacientes apresentam uma disfunção endotelial e uma responsividade alterada do músculo liso vascular compatível com a síntese inadequada de ON. Em um estudo com ratos infartados, Varin et al³⁶ mostrou que a dilatação

arterial mediada por fluxo encontra-se alterada na IC, principalmente devido a disponibilidade alterada de ON e a inibição do mesmo por espécies reativas de oxigênio aliada ao aumento da produção de prostanóides.

No exercício, o papel do endotélio vascular no controle do fluxo sanguíneo muscular em pacientes com IC ainda é pouco conhecido. Katz et al³⁷ estudou os efeitos do bloqueio da síntese de ON na resposta do fluxo sanguíneo muscular para o antebraço durante a realização de exercício de preensão manual e encontrou que enquanto em indivíduos saudáveis o bloqueio diminui a magnitude da hiperemia, nenhum efeito foi observado em pacientes com IC (Figura 2). De modo semelhante, Kubota et al⁴ estudou os efeitos da infusão intra-arterial de L-arginina, um precursor da síntese de ON, na resposta do fluxo sanguíneo muscular ao exercício de preensão manual e encontrou um aumento significativo na hiperemia relacionada ao exercício em pacientes com IC. Estes resultados mostram que possivelmente a vasodilatação mediada por ON no exercício pode estar significativamente alterada em pacientes com IC, levando a uma redução do fluxo sanguíneo muscular e diminuição da capacidade de exercício característica da doença. No entanto, Kanaya et al³⁸ não encontrou efeitos positivos na capacidade de exercício após a infusão intra-arterial de L-arginina em pacientes com IC, apesar do aumento significativo do fluxo sanguíneo para a perna destes indivíduos durante a realização do esforço.

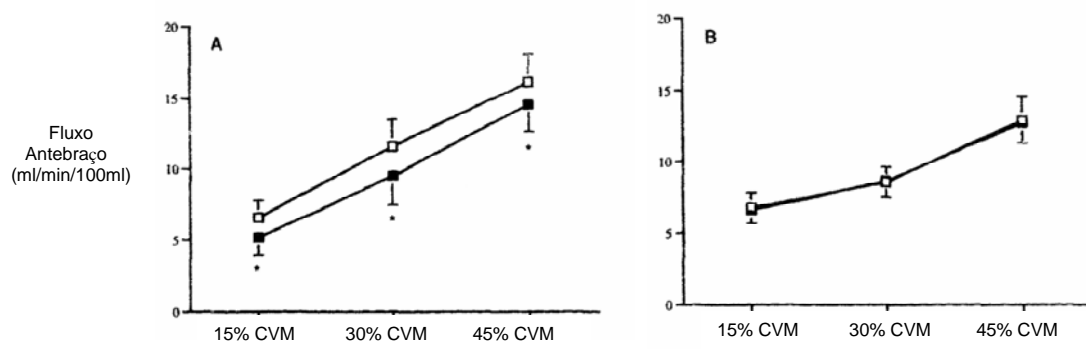


Figura 2: Fluxo sanguíneo arterial médio para o antebraço durante o exercício rítmico de prensão manual a 15, 30 e 45% da contração voluntária máxima em 10 sujeitos saudáveis (A) e 17 pacientes com Insuficiência Cardíaca (B), antes (quadrados em branco) e depois (quadrados em preto) da administração N-monometil-L-arginina, bloqueador a síntese e óxido nítrico. Adaptado de Katz, ST et al. *J Am Coll Cardiol* 28:585-90, 1996.

A bomba muscular

A bomba muscular é considerada um dos principais mecanismos responsáveis pela hiperemia relacionada ao exercício.¹⁷ O termo “bomba” refere-se à propulsão rítmica de sangue do músculo esquelético durante a contração muscular, que facilita o retorno venoso para o coração e a perfusão muscular. O mecanismo de ação da “bomba” da-se principalmente por dois mecanismos: a diminuição da pressão venosa e o aumento da energia cinética total do sistema.¹⁷ Em primeiro lugar, a contração muscular comprime as veias, impelindo o sangue para o coração devido à orientação das válvulas venosas. Na seqüência, devido ao relaxamento da musculatura, cria-se uma diferença de pressão entre o compartimento venoso e o arterial, criando-se condições para o influxo arterial.^{17,18}

A ação da bomba muscular é reconhecidamente mais importante nas fases iniciais do exercício rítmico.³⁹ A resposta do fluxo sanguíneo muscular ao exercício é constituída de duas

fases, sendo que a fase 1 representa o aumento inicial e rápido do fluxo sanguíneo durante as contrações rítmicas, que atinge um platô em torno de 5-7 segundos de exercício.³⁹ Após 15 a 20 segundos do início das contrações, acontece um segundo aumento, embora mais lento, que progride até a estabilização em um novo nível. A bomba muscular parece ser a principal determinante da fase 1.^{39,40} Tschakovsky et al⁴¹ compararam as respostas do fluxo sanguíneo muscular a uma simples contração e a uma compressão do braço por meio de um manguito com o braço acima e abaixo do nível do coração. A insuflação do manguito provocou aumento do fluxo sanguíneo muscular somente na situação em que o braço estava abaixo do coração, sendo que a contração muscular provocou o aumento do fluxo nas duas situações. Embora este achado suporte o conceito de uma provável vasodilatação, também mostra que o efeito mecânico da bomba muscular é o principal responsável pela hiperemia inicial no exercício.

Em pacientes com IC, Shiotani et al²¹ investigaram o papel da bomba muscular na hiperemia relacionada ao exercício em bicicleta ergométrica durante 10 segundos, onde foram mensurados o fluxo sanguíneo na artéria femoral e também a pressão venosa média no tornozelo. Em indivíduos saudáveis o fluxo na artéria femoral aumentou em média 5,3 vezes no exercício, paralelo a uma redução na pressão venosa no tornozelo de aproximadamente 69 para 24 mmHg. Já em pacientes com IC, o aumento no fluxo foi de apenas 1,7 vezes no exercício e principalmente o decréscimo na pressão venosa no tornozelo foi significativamente menor nestes indivíduos, compatível com um controle alterado da bomba muscular.

Em ratos com IC, Richardson et al⁵ avaliaram a dinâmica do fluxo sanguíneo muscular, através da mensuração da velocidade e fluxo de células vermelhas do sangue em capilares durante a contração muscular. Quando comparado aos ratos saudáveis, os ratos com IC apresentaram redução no tempo de resposta até o atingir do estado estável tanto para o fluxo

quanto para a velocidade da célula vermelha (Figura 3). Tais achados levaram os autores a concluir que na IC, tanto a bomba muscular quanto a vasodilatação inicial relacionada ao exercício estão alteradas na IC. No entanto, Shoemaker et al,¹⁵ ao estudar a dinâmica do fluxo sanguíneo muscular bem como do consumo de oxigênio em resposta ao exercício de preensão manual dinâmico, não observaram diferenças quando comparando pacientes com IC e indivíduos saudáveis.

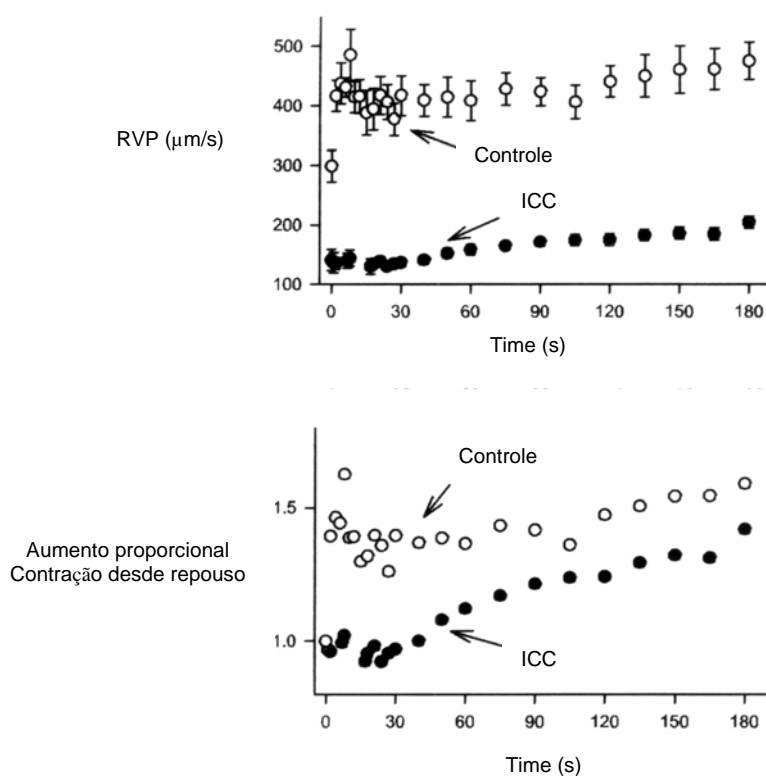


Figura 3: Velocidade da célula muscular vermelha nos capilares de 4 músculos (A) e as mudanças proporcionais na transição de repouso para o exercício nos ratos controles (Controle – círculos abertos) e em ratos com Insuficiência Cardíaca (ICC – Círculos fechados). *Adaptado de Richardson T et al. J Appl Physiol 95:1055-1602, 2003.*

Conclusão

O fluxo sanguíneo muscular no exercício é controlado pela complexa interação de fatores vasoconstritores e vasodilatadores, que parecem funcionar de forma redundante, sendo que o funcionamento adequado deste controle é determinante para a correta interação entre o aumento no metabolismo muscular e o aporte de oxigênio para a musculatura ativa. Na IC evidências mostram que parece haver alterações nos mecanismos de controle do fluxo sanguíneo para os músculos, como alteração da modulação do sistema nervoso simpático, disfunção do endotélio vascular e alteração na bomba muscular. No entanto, mais estudos são necessários no sentido de esclarecer a interação destes mecanismos na determinação da perfusão muscular adequada na IC e, sobretudo, qual a real contribuição dos mesmos para a intolerância ao exercício característica da doença.

REFERÊNCIAS

1. Wiener D, Fink L, Maris J, Jones R, Chance B, Wilson J. Abnormal skeletal muscle bioenergetics during exercise in patients with heart failure: role of reduced muscle blood flow. *Circulation* 73:1127-1136, 1986.
2. Lunde P, Sjaastad I, Thorud S, Sejersted O. Skeletal muscle disorders in heart failure. *Acta Physiol Scand* 171:277-294, 2001.
3. Joyner MJ. Congestive heart failure: more bad news from exercising muscle? *Circulation* 110:2978-2979, 2004.
4. Kubota T, Imaizumi T, Oyama J, Ando S, Takeshita A. L-arginine increases exercise induced vasodilatation of the forearm in patients with heart failure. *Jpn Circ J* 61:471-480, 1997.
5. Richardson T, Kindig C, Musch T, Poole D. Effects of chronic heart failure on skeletal muscle capillary hemodynamics at rest and during contractions. *J Appl Physiol* 95:1055-1602, 2003.
6. Sullivan M, Cobb F. Dynamic regulation of leg vasomotor tone in patients with chronic heart failure. *J Appl Physiol* 71:1070-1075, 1991.
7. Wilson J, Mancini D. Factors contributing to the exercise limitation of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 22:93A-98A, 1993.
8. Zelis R, Longhurst J, Capone R, Mason D. A comparison of regional blood flow and oxygen utilization during dynamic forearm exercise in normal subjects and patients with congestive heart failure. *Circulation* 50:137-143, 1974.
9. Zelis R, Maron D, Braunwald E. A comparison of the effects of vasodilator stimuli on peripheral resistance vessels in normal subjects and in patients with congestive heart failure. *J Clin Invest* 47:960-970, 1968.

10. Zelis R, Flaim S. alterations in vasomotor tone in congestive heart failure. *Prog Cardio Dis* 24:437-459, 1982.
11. Arnold M, Ribeiro J, Colucci W. Muscle blood flow during dynamic forearm exercise in patients with severe heart failure. *Circulation* 82:465-472, 1990.
12. Isnard R, Lechat P, Kalotka H, Chikr H, Fitoussi S, Salloum J, Goldmard J, Thomas D, Komajda M. Muscular blood flow response to submaximal leg exercise in normal subjects and in patients with heart failure. *J Appl Physiol* 81:2571-2579, 1996.
13. Massie B, Conway M, Yonge R, Frostick S, Ledingham J, Sleight P, Radda G, Rajagopalan B. Skeletal muscle metabolism in patients with congestive heart failure: relation to clinical severity and blood flow. *Circulation* 76:1009-1019, 1987.
14. Wilson J, Wiener D, Fink L, Ferraro N. Vasodilatory behavior of skeletal muscle arterioles in patients with nonedematous chronic heart failure. *Circulation* 74:775-779, 1986.
15. Shoemaker J, Naylor H, Hogeman C, Sinoway L. blood flow dynamics in heart failure. *Circulation* 99:3002-3008, 1999.
16. Lash J. Regulation of skeletal muscle blood flow during contractions. *P.S.E.B.M.* 211:218-235, 1996.
17. Delp MD, Laughlin MH. Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. *Acta Physiol* 162:411-419, 1998.
18. Saltin B, Radegran G, Koskolou M, Roach R. Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. *Acta Physiol Scand* 162:421-436, 1998.
19. Leimbach W, Wallin G, Victor R, Aylward P, Sundlof G, Mark A. Direct evidence from intraneural recordings for increased central sympathetic outflow in patients with heart failure. *Circulation* 73:913-919, 1986.

20. Drexler H, Hayoz D, Monzel T, Hornig B, Just H, Brunner H, Zelis R. Endothelial function in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 69:1596-1601, 1992.
21. Shiotani I, Sato H, Sato, H, Yokoyama H, Ohnishi Y, Hishida E, Kinjo K, Nakatani D, Kuzuya T, Hori M. Muscle pump-dependent self-perfusion mechanism in legs in normal subjects and patients with heart failure. *J Appl Physiol* 92:1647-1654, 2002.
22. Thomas G, Segal S. Neural control of muscle blood flow during exercise. *J Appl physiol* 97:731-738, 2004.
23. Buckwalter J, Clifford P. The paradox of sympathetic vasoconstriction in exercising skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 29:159-163, 2001.
24. Rowell L. Neural control of muscle blood flow: importance during dynamic exercise. *Clin Exp Pharm Physiol* 24:117-125, 1997.
25. Remensnyder J, Mitchell J, Sarnoff S. Functional sympatholysis during muscular activity. *Circ Res* 11:370-380, 1962.
26. Tschakovsky M, Sujirattanawimol K, Ruble S, Valic Z, Joyner M. Is sympathetic neural vasoconstriction blunted in the vascular bed of exercising human muscle ? *J Physiol* 541:623-635, 2002.
27. Rosenmeier J, Dinunno F, Fritzlar S, Joyner M. α_1 and α_2 -adrenergic vasoconstriction is blunted in contracting human muscle. *J Physiol* 547:971-976, 2003.
28. Chavosan B, Sander M, Sybert T, Hansen J, Victor R, Thomas G. Nitric oxide-dependent modulation of sympathetic neural control of oxygenation in exercising human skeletal muscle. *J Physiol* 540:377-386, 2002.
29. Lang C, Rayos G, Chomsky D, Alastair J, Wilson J. Effect of sympathoinhibition on exercise performance in patients with heart failure. *Circulation* 96:238-245, 1997.

30. Thomas G, Zhang W, Victor R. Impaired modulation of sympathetic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of rats with chronic myocardial infarctions. Role of oxidative stress. *Circ Res* 88:816-823, 2001.
31. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med* 33:1013-1035, 2003.
32. Barclay J, Murrant c, Woodley n, Reading S. Potential interactions among vascular and muscular functional compartments during active hyperemia. *Can j Appl physiol* 28:737-753, 2003.
33. Schrage W, Joyner M, Dinunno F. Local inhibition of nitric oxide and prostaglandins independently reduces forearm exercise hypoxemia in humans. *J Physiol* 557:599-611, 2004.
34. Endo T, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Ando S, Takeshita A. Role of nitric oxide in exercise-induced vasodilatation of the forearm. *Circulation* 90:2886-2890, 1994.
35. Katz SD, Biasucci L, Sabba C, Strom J, Jondeau G, Galvao M, Solomon S, Nikolic S, Forman R, LeJemtel T. Impaired endothelium-mediated vasodilation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 19:918-925, 1992.
36. Varin R, Mulder P, Richard V, Tamion F, Devaux C, Henry J, Lalleland F, Lerebours G, Thuillez C. Exercise improves flow-mediated vasodilation of skeletal muscle arteries in rats with chronic heart failure. Role of nitric oxide, prostanoids, and oxidant stress. *Circulation* 99:2951-2957, 1999.
37. Katz ST, Krum H, Khan T, Knecht M. Exercise-induced vasodilation in forearm circulation of normal subjects and patients with congestive heart failure: role of endothelium-derived nitric oxide. *J Am Coll Cardiol* 28:585-90, 1996.

38. Kanaya Y, Nakamura M, Kobayahi N, Hiramori K. Effects of L-arginine on lower limb vasodilator reserve and exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Heart* 81:512-517, 1999.
39. Shoemaker K, Hughson R. Adaptation of blood flow during the rest to work transition in humans. *Med Sci Sports Exerc* 31:1019-1026, 1999.
40. Delp M. Control of skeletal muscle muscle perfusion at the onset of dynamic exercise. *Med Sci Sports Exerc* 31:1011-1018, 1999.
41. Tschakovsky M, Shoemaker J, Hughson R. Vasodilation and muscle pump contribution to immediate exercise hyperemia. *Am J Physiol* 271:H1697-H1701, 1996.

Capítulo III

Objetivos

De acordo com as evidências aqui demonstradas, a ativação dos músculos inspiratórios parece contribuir para interação de mecanismos capazes de interferirem nos níveis de lactato e no controle do fluxo sanguíneo. Diante disso, temos como objetivos:

- 1) No estudo 1, testar a hipótese de que ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício intenso contribuiria para *clearance* do lactato reduzindo os níveis de lactato quando comparado com a recuperação passiva.
- 2) No estudo 2, avaliar os efeitos da carga dos músculos inspiratórios sobre a resposta do fluxo sanguíneo nos membros em repouso e em exercício em pacientes com insuficiência cardíaca e fraqueza muscular inspiratória comparado com indivíduos normais.
- 3) Ainda, testar a hipótese de que o treinamento muscular inspiratório pode atenuar a vasoconstrição periférica durante a carga dos músculos inspiratórios para membros em repouso e em exercício.

Capítulo IV

Estudo 1

Lactato sanguíneo durante recuperação do exercício intenso: impacto da carga inspiratória

Resumo:

Introdução e objetivo: Tem sido sugerido que a ativação dos músculos inspiratórios pode afetar os níveis de lactato sanguíneo ($[\text{Lac}^-]\text{S}$) durante exercício. Neste estudo, nós testamos a hipótese de que ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício intenso contribuiria para a “*clearance*” do lactato, além de conduzir a redução na concentração de lactato ($[\text{Lac}^-]\text{S}$).

Métodos: Doze indivíduos saudáveis foram encaminhados para dois testes cardiopulmonares incrementais máximos em dias diferentes. Durante um período de 20 minutos de recuperação, eles ventilavam livremente ou contra uma resistência inspiratória fixada em 15 cmH₂O. Durante a recuperação, as medidas de troca gasosas foram continuamente mensuradas e amostras de sangue venoso arterializada foram obtidas para $[\text{Lac}^-]\text{S}$, pH, PCO₂ e HCO₃.

Resultados: Os sujeitos apresentaram variáveis de troca gasosa similares no pico do exercício durante ambas as condições experimentais. A $[\text{Lac}^-]\text{S}$ durante a recuperação foi reduzida com resistência inspiratória ($7,7 \pm 1$ vs $10,4 \pm 1$, $7,8 \pm 2$ vs $10,3 \pm 2$, $7,3 \pm 1$ vs $9,7 \pm 2$ mmol.l⁻¹ no 5, 7 e 9 min de recuperação, respectivamente; $p < 0,05$), mas não foram encontradas diferenças no

equilíbrio ácido-básico. Respiração com resistência inspiratória foi associado com aumento na demanda metabólica (VO_2 e VCO_2), com aumento da ventilação alveolar. Além disso, o padrão ventilatório foi significativamente alterado na condição de carga inspiratória, com aumentado volume corrente e reduzido T_I/T_{TOT} .

Conclusão: Esses dados são consistentes com a noção de que os músculos inspiratórios podem ser consumidores de lactato durante a recuperação do exercício.

Palavras chaves: metabolismo do lactato, excesso de consumo de oxigênio pós-exercício, músculos inspiratórios, trabalho respiratório

Introdução

Durante a recuperação do exercício intenso, a concentração de lactato sanguíneo ($[\text{Lac}^-]_s$) diminui mais rapidamente quando utilizado exercício leve-moderado.^{2,3,9,29} O fato é que durante a recuperação ativa a 30-70% do consumo de oxigênio no pico do exercício (VO_2pico), o lactato é utilizado como substrato para metabolismo oxidativo, aumentando assim a taxa de remoção do lactato pelo sistema circulatório.³ Além disso, o declínio na $[\text{Lac}^-]_s$ é ainda influenciado pelo nível de treinamento, como demonstrado pelas altas taxas de remoção de lactato em indivíduos treinados para *endurance*.^{4,24}

Isto tem sido sugerido que os músculos inspiratórios podem afetar os níveis de lactato durante o exercício.^{11,19,28} Um número de estudos tem demonstrado que após treinamento muscular inspiratório, a $[\text{Lac}^-]_s$ é diminuída a uma determinada intensidade de exercício, que tem sido parcialmente atribuída a uma melhora na habilidade dos músculos inspiratórios em metabolizar o lactato.^{20,28} Além disso, estudos anteriores em animais sugeriram que os músculos inspiratórios poderiam ser consumidores de lactato durante exercício.^{11,19} Portanto, não existe evidência de que ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício pode alterar a remoção de lactato. Além disso, a proposta do presente estudo foi de testar a hipótese de que ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício intenso contribuiria para *clearance* do lactato reduzindo a $[\text{Lac}^-]_s$ quando comparado com a recuperação passiva.

Materias e Métodos

Sujeitos. Doze indivíduos saudáveis (homens) com média (\pm DP) de idade de 28 ± 2 anos, peso corporal de 78 ± 5 kg, e estatura de 179 ± 3 cm participaram do estudo. Todos os indivíduos apresentavam história médica normal, avaliação física e eletrocardiograma de repouso e de esforço. Nenhum dos sujeitos tomava qualquer tipo de medicação ou eram fumantes. Eles foram informados dos desconfortos e riscos envolvidos e o termo de consentimento informado foi obtido antes do estudo. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Protocolo. Os indivíduos vieram ao laboratório em dois dias não consecutivos para realização do teste cardiopulmonar incremental máximo (TCPm) seguido de 20 minutos de recuperação. Antes de ambos os experimentos, foi inserida uma cânula na veia dorsal superior da mão, e aquecida para se obter amostras de sangue venoso arterializado e $[\text{Lac}^-]$ s. Em uma das condições experimentais, fixamos uma resistência inspiratória de $15 \text{ cmH}_2\text{O}^8$ conectada ao sistema de ventilação imediatamente após ao final do TCPm. Essa resistência inspiratória tem sido demonstrada previamente afetar a cinética do consumo de oxigênio durante o exercício.⁸ Na outra condição experimental, os indivíduos realizaram o mesmo teste seguido de 20 min de recuperação, porém sem carga inspiratória. A ordem dos testes, com e sem resistência inspiratória foi randomizada.

Teste Cardiopulmonar Incremental Máximo. Após um período de adaptação dos procedimentos, os indivíduos permaneceram em repouso por 15 min para obtenção dos valores

basais do consumo de oxigênio (VO_2). Os experimentos foram realizados em bicicleta ergométrica eletromagnética (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Alemanha). O TCPm foi iniciado com um período de 3 min sem resistência inspiratória, seguido de incrementos de 20 watts a cada minuto até os sujeitos atingirem a exaustão. A cadência do pedal foi mantida em 60-70 rpm. Durante o procedimento, as medidas metabólicas foram mensuradas a cada respiração através de um sistema previamente validado (Metalyzer 3B, CPX System, Cortex, Leipzig, Alemanha),²² que inclui analisadores de O_2 e CO_2 e turbina. O sistema foi conectado a uma válvula de dupla via (Warren E. Collins, Inc., Braintree, MA) com baixa resistência (<1,5 cmH_2O até 3l/s). Para o período de recuperação com uso de adição de resistência inspiratória, uma resistência inspiratória (Threshold, IMT, Heathscan Products Inc., Cedar Grove, NJ) foi inserida na parte inspiratória da válvula. O mesmo sistema foi utilizado na situação controle, mas sem carga inspiratória. Este tipo de carga inspiratória mantém uma resistência constante em qualquer nível de ventilação.¹⁰ A frequência cardíaca foi medida através de intervalos R-R do eletrocardiograma (Nihon Khoden Corp., Tóquio, Japão) com 12 derivações. A pressão sangüínea foi medida a cada 2 min com esfigmomanômetro convencional.

Os valores do VO_2 , dióxido de carbono (VCO_2), ventilação minuto (V_E), pressão parcial final de dióxido de carbono (PETCO_2), equivalentes ventilatórios para oxigênio (V_E/VO_2) e dióxido de carbono (V_E/VCO_2), volume corrente (V_C), ventilação alveolar ($\text{V}_A = \text{V}_E (1 - \text{V}_{EM}[\text{V}_T]^{-1})$), e razão entre tempo inspiratório e expiratório ($\text{T}_I/\text{T}_{TOT}$) foram calculados das variáveis mensuradas e filtrados com uma média móvel de 10 s para reduzir as oscilações do ciclo respiratório, variação do V_C respiração-a-respiração. O excesso do consumo de oxigênio pós-exercício (EPOC) (quantidade de excesso de oxigênio consumido após exercício medido em

litros) foi calculado como área integral da curva de recuperação do VO_2 menos a média dos valores pré-exercício.¹⁸

Amostra de Sangue. As amostras de sangue venoso arterializada foram coletadas antes do exercício, imediatamente após exercício, e nos 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 min durante a recuperação. Essas amostras foram desproteinizadas por ácido perclórico, centrifugadas, e mais tarde analisadas em duplicada para os níveis de lactato usando método enzimático padrão.^{16,26} O sangue venoso arterializado foi ainda levado imediatamente após exercício e nos 3, 7 e 9 min no período de recuperação para análise do pH, PCO_2 , e HCO_3^- (RapidLab 865, Bayer, East Walpole, MA, USA).

Análise Estatística. Análise estatística foi desenvolvida utilizando um pacote estatístico (SigmaStat 3.1, Richmond, CA, USA). Os dados descritivos são apresentados como média \pm DP. O teste *t* de Student's foi usado para comparar os resultados do TCPm e áreas sob a curva (EPOC, VCO_2 , V_E , V_A , V_C , V_E/VCO_2 , V_E/VO_2 , T_I/T_{TOT} , e $[\text{Lac}^-]_s$). Durante a recuperação do exercício, as variáveis foram comparadas através de análise de variância para medidas repetidas. Quando apropriado foi utilizado teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

Resultados

Como mostra a tabela 1, os indivíduos apresentaram variáveis metabólicas similares no pico do exercício durante ambas às condições experimentais. $[\text{Lac}^-]_s$ no 5, 7, 9 e 15 min da

recuperação foi significativamente reduzido com resistência inspiratória (Figura 1). Da mesma forma, a área sob a curva do lactato foi significativamente menor com resistência inspiratória (111 ± 18 vs 132 ± 26 [mmol.l⁻¹].min; $p < 0,05$). O pH, PCO₂, e HCO₃ não alteraram com aplicação da resistência inspiratória durante a fase de recuperação (Figura 2).

Tabela 1. Resultados obtidos no pico do exercício com e sem resistência inspiratória no período de recuperação

Parâmetros	Com resistência	Sem resistência	Valor <i>p</i>
FC _{pico} , bpm	189 ± 11	188 ± 9	0,90
PAS _{pico} , mmHg	172 ± 10	174 ± 11	0,60
VO _{2pico} , ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹	45 ± 5	46 ± 5	0,90
V _{E pico} , l.min ⁻¹	150 ± 21	147 ± 25	0,89
VCO _{2 pico} , l.min ⁻¹	4,5 ± 0,6	4,4 ± 0,6	0,80
R _{pico}	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,60
V _{C pico} , l	2,8 ± 0,7	2,8 ± 0,8	0,44
T _{I pico} , s	0,58 ± 0,12	0,6 ± 0,1	0,12
T _{E pico} , s	0,56 ± 0,13	0,6 ± 0,2	0,25
f _{pico} , resp.min ⁻¹	55 ± 18	54 ± 13	0,40
Potência _{pico} , W	301 ± 16	298 ± 14	0,65

Dados são apresentados em média ± desvio padrão. FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; VO₂, consumo de oxigênio; V_E, ventilação minuto, VCO₂, produção de dióxido de carbono; R, razão de troca gasosa; V_C, volume corrente; T_I, tempo inspiratório; T_E, tempo expiratório; f, frequência ventilatória.

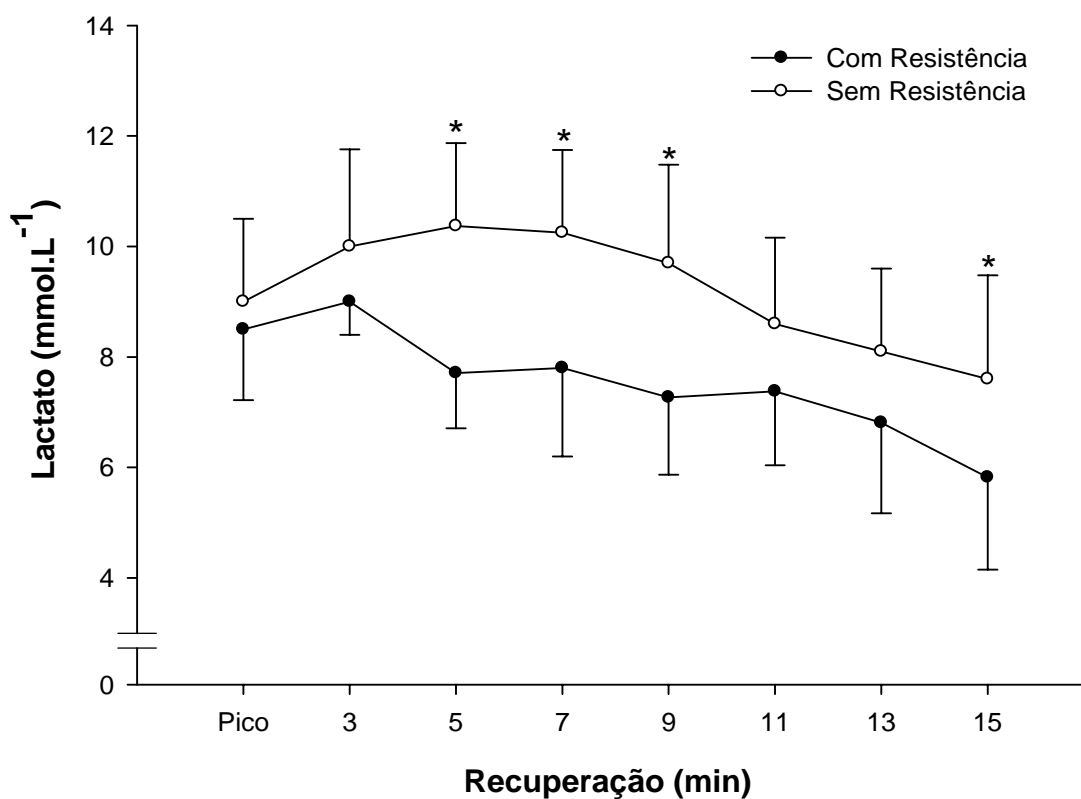


Figura 1. Média (+ ou - DP) da concentração de lactato sanguíneo arterializado com (círculos fechados) ou sem (círculos abertos) resistência inspiratória no período de recuperação. ANOVA para amostras repetidas: efeito de grupo $p > 0,05$; efeito no tempo $p < 0,05$; interação $p < 0,05$. *Indica a diferença significativa através do teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas.

O VO_2 total durante a recuperação (com resistência 21 ± 3 l; sem resistência 18 ± 3 l; $p < 0,01$) aumentou significativamente com resistência inspiratória (Figura 3). A diferença da área sob a curva do VO_2 na recuperação com e sem resistência inspiratória ($2,8 \pm 2$ l) indica a magnitude do VO_2 pela ativação dos músculos inspiratórios durante o protocolo. Igualmente, o VCO_2 total durante a recuperação foi significativamente maior com resistência inspiratória (com resistência, $4 \pm 0,4$ l; sem resistência, $3,5 \pm 0,3$ l; $p < 0,01$).

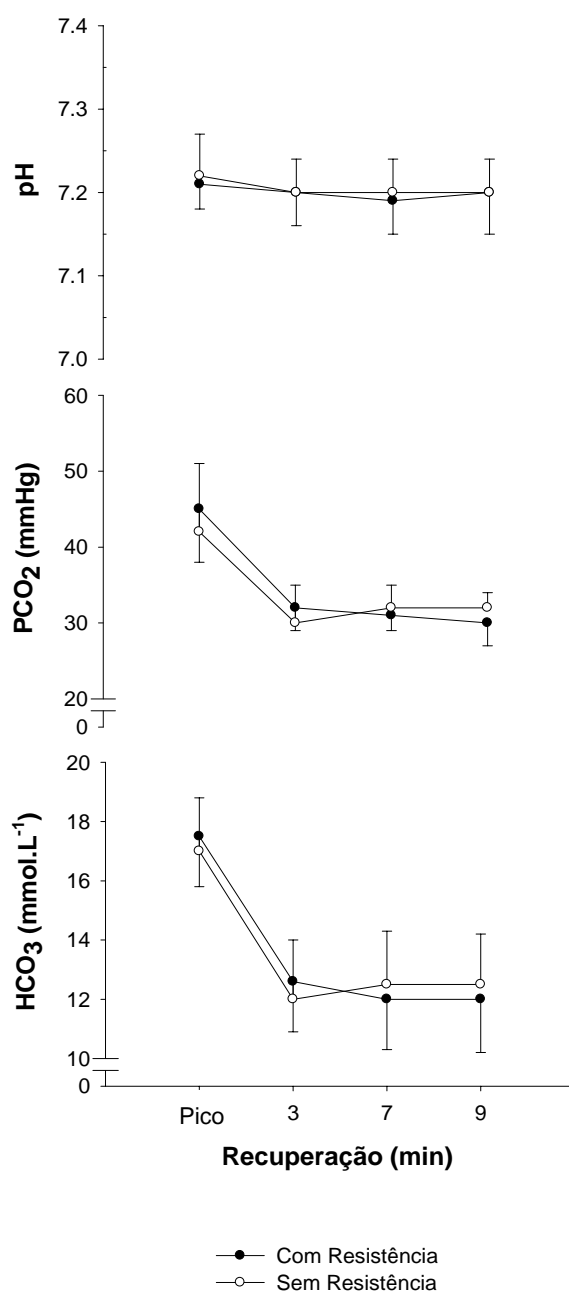


Figura 2. Valores médios (+ ou - DP) pH, PCO₂, e HCO₃⁻ com (círculos fechados) ou sem (círculos abertos) resistência inspiratória no período de recuperação. ANOVA para amostras repetidas ($p > 0,05$).

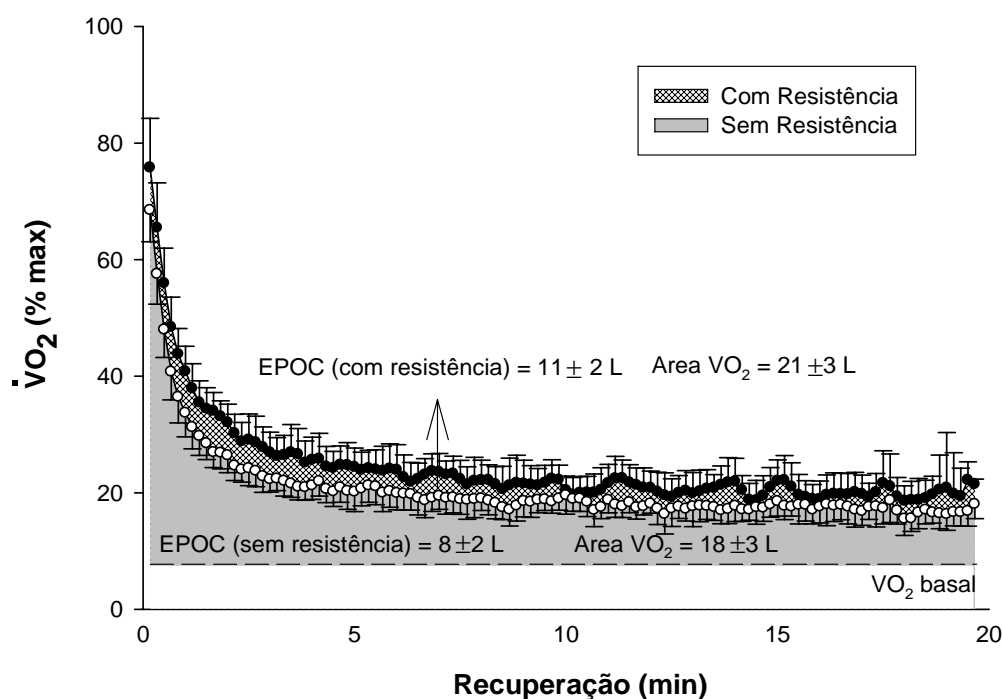


Figura 3. Média (+ ou - DP) do $\dot{V}O_2$ expressado como porcentagem do $\dot{V}O_{2\text{pico}}$, durante a recuperação com (círculos fechados) ou sem (círculos abertos) resistência inspiratória no período de recuperação. $p < 0,05$ para área sob a curva nas duas condições. EPOC = excesso de consumo de oxigênio pós-exercício.

Apesar de um aumento no $\dot{V}O_2$ e $\dot{V}CO_2$ na recuperação, a resposta da V_E foi similar nas duas condições, mas a V_A foi significativamente maior com resistência inspiratória (Figura 4). Portanto, o padrão ventilatório foi significativamente alterado na adição de resistência inspiratória, com aumento do V_C , e redução T_I/T_{TOT} (Figura 4). Finalmente, a carga inspiratória resultou em valores $V_E/\dot{V}CO_2$ mais baixos durante os primeiros minutos de recuperação, e mais baixos na $V_E/\dot{V}O_2$ durante a recuperação, e menores valores da $PETCO_2$ durante recuperação mais tardia (Figura 5).

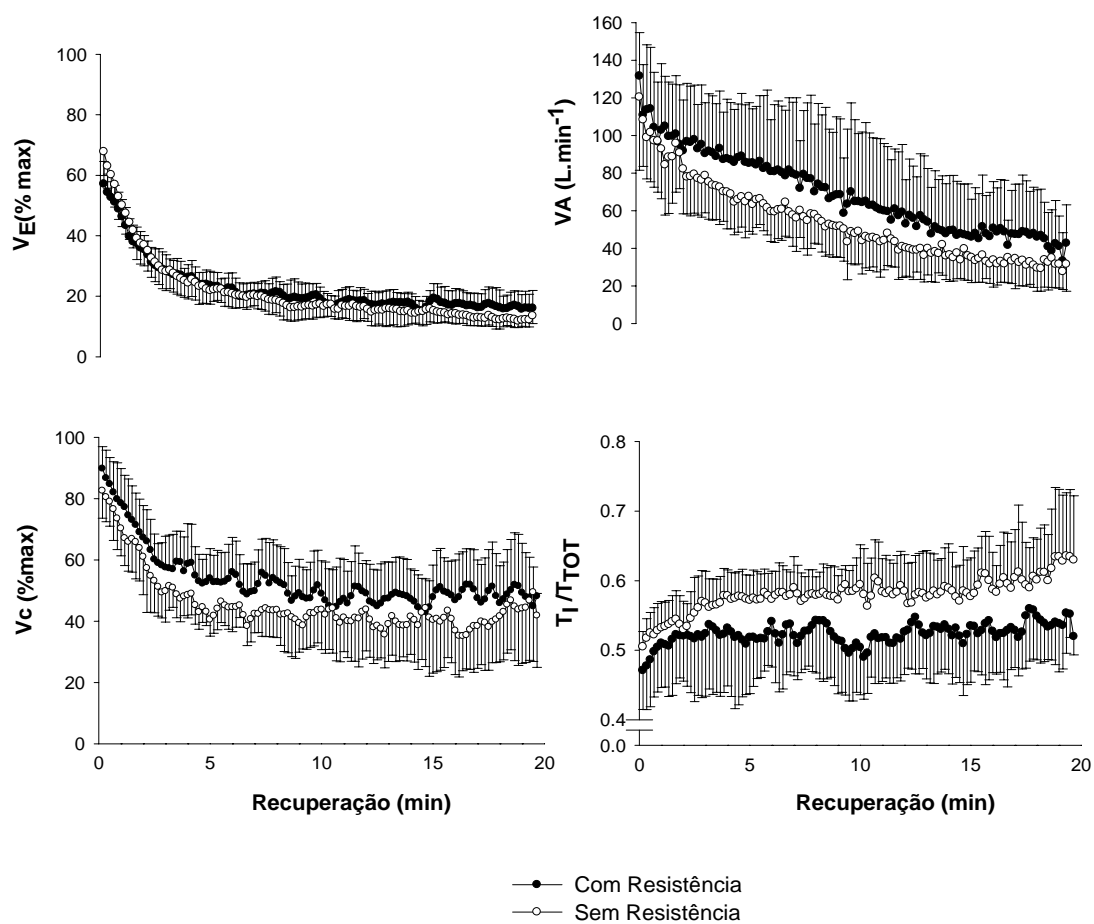


Figura 4. Média (+ ou - DP) da V_E e V_C expressado como porcentagem dos valores de pico (painel esquerda), V_A e T_I/T_{TOT} (painel direita) durante a recuperação com (círculos fechados) ou sem (círculos abertos) resistência inspiratória no período de recuperação. $p > 0,05$ para área sob a curva nas duas condições para V_E . $p < 0,05$ para área sob a curva nas duas condições para V_C , V_A e T_I/T_{TOT} .

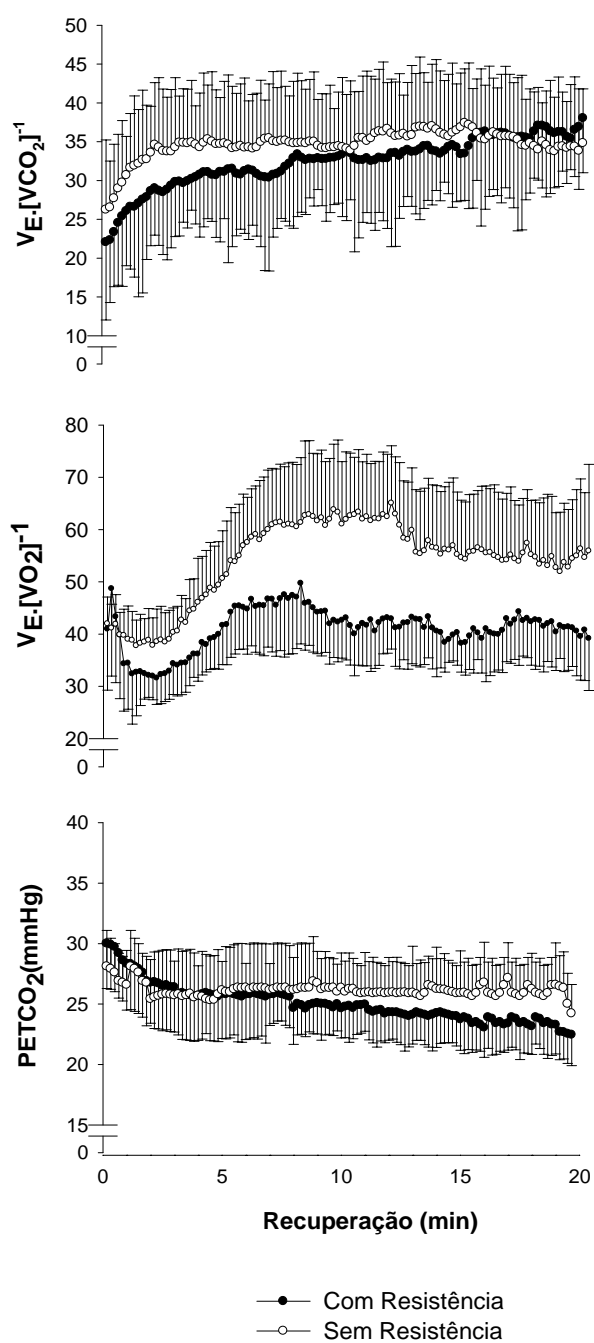


Figura 5. Média (+ ou - DP) da $PETCO_2$, durante a recuperação com (círculos fechados) ou sem (círculos abertos) resistência inspiratória no período de recuperação. $p < 0,05$ para área sob a curva nas duas condições para V_E/VCO_2 e $PETCO_2$.

Discussão

O principal achado desse estudo é que a adição de resistência inspiratória durante a recuperação do exercício intenso resulta em aumento do consumo de oxigênio, redução do $[\text{Lac}^-]$ s, e alteração do padrão ventilatório, sem alterações nos gases sanguíneos arterializados e ventilação. Esses achados estão de acordo com o conceito de que ativação dos músculos inspiratórios pode influenciar a interação entre produção do $[\text{Lac}^-]$ s e *clearance* durante a recuperação do exercício máximo.

A remoção do lactato sanguíneo após exercício intenso é o produto de uma complexa interação de vários fatores, que incluem uma fração pelo fígado,²³ o coração,²⁵ o cérebro,¹⁷ e pelos músculos esqueléticos.^{6,7} Particularmente, é conhecido que os músculos esqueléticos oxidativos que contraem durante condição de equilíbrio submáximo são os que realmente consomem lactato.¹² Nesta colocação, vários estudos têm claramente demonstrado que exercícios em cicloergômetro leve a moderado seguido de esforços máximos resultam em remoção de lactato de 5-26% quando comparados com recuperação passiva.^{4,29} Além disso, os nossos achados de redução de 16% na concentração de lactato durante a recuperação ativa é restrita aos músculos inspiratórios quando comparados com a situação controle, o que são sugestivos de que os músculos inspiratórios podem ainda influenciar a remoção de lactato durante recuperação do exercício máximo. Portanto, o padrão de declínio mais rápido do $[\text{Lac}^-]$ s em nosso experimento parece diferir de alguns estudos em que exercício moderado foi utilizado.^{2,4,9,29} Em nosso estudo, as diferenças são aparentemente dentro dos primeiros cinco minutos de recuperação, enquanto que leva maior tempo nos exercícios moderados. É possível que a diferença entre as capacidades

metabólicas dos músculos inspiratórios quando comparados aos músculos esqueléticos podem ser considerada, pelo menos em parte, para os nossos resultados.¹⁸

Evidências indiretas sugerem que a carga dos músculos inspiratórios podem aumentar o fluxo sanguíneo dos músculos inspiratórios à custa do fluxo sanguíneo da perna.^{13,14} O fato é que o aumento do trabalho dos músculos respiratórios têm sido mostrado que promove um reflexo de vasoconstrição mediado pela excitação simpática no leito vascular sistêmico, provavelmente redistribuindo fluxo sanguíneo dos músculos locomotores para os respiratórios.¹⁵ Este aumento na perfusão sobreposto com elevada densidade capilar e capacidade oxidativa do diafragma e músculos acessórios, criaria uma condição favorável para que esses músculos possam ter consumido lactato. Assim, em nosso estudo, parece razoável sugerir que pelo menos em parte a redução do lactato sanguíneo durante a condição de resistência inspiratória seria atribuída para um consumo elevado do lactato pelos músculos inspiratórios. Alternativamente, a redistribuição do fluxo sanguíneo induzida pela carga dos músculos inspiratórios teria ainda influenciado o metabolismo do lactato pelo coração²⁵ ou teria reduzido o efluxo de lactato dos membros inferiores.

O conceito de que os músculos respiratórios podem utilizar lactato como uma fonte de energia não é necessariamente novo. Fregosi et al.¹¹ foram os primeiros a sugerir que os músculos inspiratórios, como outros músculos com uma alta capacidade oxidativa, podem ser consumidores de lactato durante o exercício. Esses autores encontraram aumentos na concentração de lactato em diafragma de ratos na ausência de utilização de glicogênio durante exercício moderado para intenso, que foi parcialmente atribuído ao consumo de lactato pelo diafragma.¹² Em humanos, um número de estudos tem demonstrado concentração de lactato mais baixa em intensidades de exercício equivalentes seguidos de treinamento muscular

inspiratório,^{21,27,28} que foi explicada através de uma melhora na habilidade dos músculos inspiratórios em metabolizar o lactato.²⁸ Portanto, para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a demonstrar que a remoção de lactato pode ser aumentada através do aumento do trabalho dos músculos inspiratórios.

De acordo com os achados prévios, não encontramos associação entre EPOC e $[\text{Lac}^-]_s$.³ Embora, $[\text{Lac}^-]_s$ foi significativamente reduzida, o EPOC aumentou aproximadamente 27% durante a resistência inspiratória quando comparado com a situação controle. Esta falta de associação entre EPOC e o lactato está de acordo com o conceito de que somente uma menor fração do lactato é convertida para glicogênio, e que esse processo contribui para o EPOC somente em menor proporção.^{1,3} Além disso, isto sugere que o EPOC pudesse ser relacionado à elevada ventilação, débito cardíaco e a neoglicogênese no fígado após exercício.⁵ Em nosso estudo, o aumento do EPOC e VCO_2 durante a condição com resistência inspiratória parece refletir o trabalho ventilatório adicional induzido pela resistência inspiratória. Interessantemente, porém, a resposta ventilatória (VE) foi inferior do que o esperado pelo aumento da demanda metabólica (Fig. 4), apesar de não termos encontrado alteração na PCO_2 (Fig. 2). Nesse contexto, é instrutivo considerar os determinantes metabólicos da resposta da VE : $\text{VE}/\text{VCO}_2 = 1/\text{PaCO}_2 (1 - \text{VD}/\text{VT})$, enquanto que VD/VT é a fração do espaço morto da respiração. Além disso, como a PCO_2 não aumentou com a resistência inspiratória (Fig. 2), o VE/VCO_2 somente diminuiria se VD/VT tivesse reduzido. O fato foi que a resistência inspiratória foi associada com elevado volume corrente e, presumivelmente, com menor VD/VT . Alternativamente, a resistência inspiratória pode ter prevenido suficientemente o aumento da ventilação; portanto, PCO_2 teria aumentado nessa circunstância.

O achado intrigante do presente estudo foi que aparentemente o achado paradoxical da menor concentração de lactato com semelhante $[\text{HCO}_3^-]$ e pH durante a resistência inspiratória comparado com a ventilação sem carga inspiratória (Figs. 1 e 2). Para interpretação desses dados, o método físico-químico de *Stewart* é bem indicado: esse método propõe que as variáveis “dependentes” ($[\text{HCO}_3^-]$, pH, and $[\text{H}^+]$) podem somente alterar se as variáveis “independentes” (PCO_2 , quantidade total de ácidos fracos e a diferença de íons fortes [*Strong ion difference*, SID]) permita essa mudança.³⁰ No presente estudo, PCO_2 e, presumivelmente, ácidos fracos, permaneceram constantes. Conseqüentemente, nós podemos especular que $[\text{HCO}_3^-]$ não foi mais alto com uso da resistência inspiratória, porque o SID (cátions fortes – íons cloretos e lactato) não aumentou substancialmente apesar dos menores níveis de lactato. Infelizmente, nós não mensuramos os eletrólitos do sangue e, portando não podemos então confirmar essa hipótese.

Este estudo teve algumas limitações. Apesar do fato de que nós mostramos claramente que adição de resistência inspiratória resulta em redução $[\text{Lac}^-]$ s durante a recuperação, os nossos experimentos não podem demonstrar os mecanismos responsáveis por esse achado. Além disso, estudos futuros deveriam dirigir-se se realmente a ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação resultam na oxidação de lactato por outros mecanismos, assim como a oxidação de lactato pelo coração ou redistribuição de fluxo de sangue, podem estar envolvidos. Igualmente, estudos futuros também deveriam avaliar a diferença de íons fortes para avaliar os mecanismos responsáveis para nossos resultados ácidos-básicos.

Em conclusão, a adição de resistência inspiratória durante recuperação do exercício intenso reduz os níveis de lactato em indivíduos saudáveis e treinados. Esses achados estão de acordo com o conceito de que os músculos inspiratórios são consumidores de lactato durante a recuperação do exercício.

REFERÊNCIAS

1. Bangsbo J, Gollnick P, Graham TE, Saltin B. Substrates for muscle glycogen synthesis in recovery from intense exercise in humans. *J Physiol* 1991;434: 423-440.
2. Bangsbo J, Grahan T, Johansen L, Saltin B. Muscle lactate metabolism in recovery from intense exhaustive exercise: impact of light exercise. *J Appl Physiol* 1994;77:1890-1895.
3. Bangsbo J, Hellsten Y. Muscle blood flow and oxygen uptake in recovery from exercise. *Acta Physiol Scand* 1998;162:305-312.
4. Belcastro AN, Bonen A. Lactic acid removal rates during controlled and uncontrolled recovery exercise. *J Appl Physiol* 1975;39:932-936.
5. Børsheim E, Bahr R. Effect of exercise intensity, duration and mode on post-exercise oxygen consumption. *Sports Med* 2003;33:1037-1060.
6. Brooks GA, Brauner KE, Cassens RG. Glycogen synthesis and metabolism of lactic acid after exercise. *Am J Physiol* 1973;224: 1162–1166.
7. Brooks GA, Gaesser GA. End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *J Appl Physiol* 1980;49: 1057–1069.
8. Carra J, Candau R, Keslacy S, Giolbas F, Borrani F, Millet GP, Varray A, Ramonatxo M. Addition of inspiratory resistance increases the amplitude of the slow component of O₂ uptake kinetics. *J Appl Physiol* 2003;94:2448-2455.
9. Dood S, Powers SK, Callender T, Brooks E. Blood lactate disappearance at various intensities of recovery exercise. *J. Appl Physiol* 1984;57: 1462-1465.
10. Eastwood PR, Hillman DR. A threshold loading device for testing of inspiratory muscle performance. *Eur Respir J* 1995;8: 463–466.

11. Fregosi RF, Dempsey JA. Effects of exercise in normoxia and acute hypoxia on respiratory muscle metabolites. *J Appl Physiol* 1986;60:1274-1283.
12. Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol*. 2004; 558:5-30.
13. Harms CA, Babcock MA, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Dempsey JA. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. *J Appl Physiol* 1997;82:1573–1583.
14. Harms CA, Wetter TJ, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Hanson P, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on cardiac output and its distribution during maximal exercise. *J Appl Physiol* 1998;85:609–618.
15. Harms CA, Wetter TJ, St Croix CM, Pegelow DF, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on exercise performance. *J Appl Physiol* 2000;89, 131–138.
16. Hohorst HJ. Lactate determination with lactic acid dehydrogenase and DPN method of enzymatic analysis. Weinheim: Verlag Chemie, 1965.
17. Ide K, Secher NH. Cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Prog Neurobiol* 2000;61:397-414.
18. Langsetmo I, Poole D. VO_2 recovery kinetics in the horse following moderate, heavy, and severe exercise. *J Appl. Physiol* 1999;86:1170-77.
19. Manohar M, Hassan AS. Diaphragmatic energetics during prolonged exhaustive exercise. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:415-418.
20. McConnell AK, Romer LM. Respiratory muscle training in healthy humans: resolving the controversy. *Int J Sports Med* 2004;25:284–293.

21. McConnell AK, Sharpe GR. The effect of inspiratory muscle training upon maximum lactate steady-state and blood lactate concentration. *Eur J Appl Physiol* 2005 ;94:277-284.
22. Meyer T, Georg T, Becker C, Kindermann W. Reliability of gas exchange measurement from two different spiroergometry systems. *Int J Sports Med* 2001;22:593-597.
23. Nielsen HB, Clemmesen JO, Skak C, Ott P, Secher NH. Attenuated hepatosplanchnic uptake of lactate during intense exercise in humans. *J Appl Physiol* 2002;92:1677–1683.
24. Oyono-Enguelle S, Marbach J, Heitz A, Ott C, Gartner M, Pape A, Vollmer JC, Freund H. Lactate removal ability and graded exercise in humans. *J Appl Physiol* 1990;68: 905-911.
25. Pang ML, Kim YJ, Bazy AR. Blood flow to respiratory muscles and major organs during inspiratory flow resistive loads. *J Appl Physiol* 1993;74:428-434.
26. Ribeiro JP, Cadavid E, Baena Monsalvet E, Barna A, De Rose EH. Metabolic predictors of middle distance swimming performance. *Brit J Sports Med* 1990;24:196-200.
27. Romer LM, McConnell AK, Jones DA. Effect of inspiratory muscle training upon recovery time during high intensity, repetitive sprint activity. *Int J Sports Med* 2005;23:353-360.
28. Spengler CM, Roos M, Laube SM. Decreased exercise blood lactate concentrations after respiratory endurance training in humans. *Eur J Appl Physiol* 1999;79:299-305.
29. Weltman A, Stamford BS, Fulco C. Recovery from maximal effort exercise: lactate disappearance and subsequently performance. *J Appl Physiol* 1979;47: 677-682.
30. Jones NL. A quantitative physicochemical approach to acid-base physiology. *Clin. Biochem.* 2003;23:189-195.

Capítulo V

Treinamento Muscular Inspiratório Melhora Redistribuição do Fluxo Sangüíneo dos Membros em Repouso e em Exercício em Pacientes com Insuficiência Cardíaca

Resumo:

Introdução: Estudos prévios têm demonstrado que o treinamento muscular inspiratório resulta na melhora da capacidade funcional de pacientes com insuficiência cardíaca crônica (ICC) e fraqueza muscular inspiratória, mas os mecanismos desses efeitos continuam desconhecidos.

Objetivo: Nós testamos a hipótese de que a fadiga dos músculos inspiratórios poderia resultar na redistribuição do fluxo sangüíneo dos membros em repouso para os em exercício, e que o treinamento muscular inspiratório poderia atenuar esse efeito em pacientes com IC e fraqueza muscular inspiratória.

Materiais e Resultados: Dezoito pacientes com ICC e fraqueza dos músculos inspiratórios (pressão inspiratória máxima < 70% do predito) e 10 indivíduos saudáveis participaram do estudo. A fadiga dos músculos inspiratórios foi induzida pela adição de carga inspiratória de 60% da pressão inspiratória máxima, enquanto que o fluxo de sangue da panturrilha em repouso (FSP) e antebraço em exercício (FSA) foram medidos através de pletismografia por técnica de oclusão venosa. Para os pacientes com ICC, foram realizadas também medidas após 4 semanas de treinamento muscular inspiratório. Com fadiga muscular inspiratória, os pacientes com ICC

apresentaram uma redução FSP (55 ± 12 vs. $14 \pm 5\%$, $p < 0,01$), mostrando um atenuado aumento do FSA ($6,9 \pm 2,0$ vs. $11,2 \pm 1,1$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) quando comparado aos controles. Após 4 semanas de treinamento muscular inspiratório, os pacientes com ICC melhoraram o FSP ($1,19 \pm 0,3$ vs. $2,0 \pm 1,0$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) e FSA em exercício ($6,9 \pm 2,0$ vs. $9,8 \pm 2,8$ ml/min.100ml; $p = 0.01$) com fadiga do músculo inspiratório.

Conclusão: Em pacientes com IC e fraqueza muscular inspiratória, a indução da fadiga dos músculos inspiratórios resulta em redução do fluxo de sangue para membros em repouso e em exercício. O treinamento muscular inspiratório melhora a redistribuição do fluxo de sangue nestes pacientes.

Palavras Chaves: Músculos ventilatórios, Reabilitação Cardíaca, Exercício, Ventilação

Introdução

Pacientes com insuficiência cardíaca crônica (ICC) podem apresentar diminuição da força e resistência dos músculos inspiratórios, que são reconhecidos atualmente como fatores implicados na limitação da resposta do exercício e qualidade de vida, assim como piora no prognóstico.¹ Nós e outros autores temos demonstrado que o treinamento muscular inspiratória (TMI) resulta na melhoria da força muscular inspiratória, capacidade funcional, resposta da ventilação ao exercício, recuperação da cinética do consumo de oxigênio e qualidade de vida de pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória.^{2,3} Os mecanismos responsáveis por esses efeitos, portanto, não foram elucidados.

Dempsey e co-autores⁴⁻⁶ conduziram uma série de experimentos em indivíduos saudáveis, demonstrando que a fadiga dos músculos inspiratórios e conseqüente acúmulos de produtos metabólicos ativam as eferências frênicas do tipo IV, que em troca resulta em aumento da atividade vasoconstritora simpática.⁷⁻¹¹ Este mecanismo, nomeado como metaboreflexo muscular inspiratório, é particularmente importante durante exercício de altas intensidades em indivíduos saudáveis, onde modula a competição de fluxo sanguíneo entre os músculos respiratórios e locomotores.^{4,8-10} De acordo com essa hipótese, Miller et al¹² demonstraram que o metaboreflexo muscular respiratório é ativo durante exercício submáximo em modelos de cães com insuficiência cardíaca induzida, roubando o fluxo de sangue dos músculos locomotores.¹³ Em humanos, porém, ainda não há nenhuma informação relativo à atividade do metaboreflexo muscular inspiratório em pacientes com ICC.

Uma potencial explicação para os benefícios observados do TMI, poderia ser uma atenuação da atividade do metaboreflexo muscular inspiratório em pacientes com ICC, o que melhoraria a

distribuição de fluxo de sangue para os músculos periféricos.^{4,14} O presente estudo foi conduzido para avaliar os efeitos da sobrecarga dos músculos inspiratórios sobre o fluxo de sangue dos membros em repouso e em exercício em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória. Nós ainda testamos a hipótese de que TMI poderia atenuar a vasoconstrição periférica durante sobrecarga dos músculos inspiratórios para os membros em repouso e exercício.

Métodos

Pacientes e Controles

Dezoito pacientes com história prévia de insuficiência cardíaca sintomática estável devido a disfunção do ventrículo esquerdo (fração de ejeção do ventrículo esquerdo < 40%), com fraqueza muscular inspiratória (pressão inspiratória máxima [PI_{max}] < 70% do predito)² e sem história de doença pulmonar, foram recrutados para o estudo. Um grupo de 10 indivíduos com história médica e exame físico normal, assim como eletrocardiograma de repouso e exercício também normal serviram como grupo controle. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento informado.

Protocolo

Os pacientes e controles vieram para o laboratório em dias separados para avaliação da pressão inspiratória máxima, desempenho do teste cardiopulmonar, avaliação ultrassonográfica da espessura do diafragma, e efeito da indução do metaboreflexo muscular inspiratório sobre a panturrilha em repouso e antebraço durante exercício. Os pacientes com ICC repetiram avaliação

da pressão inspiratória máxima, avaliação da espessura do diafragma, e a indução do metaboreflexo muscular inspiratório para panturrilha e antebraço durante exercício após 4 semanas de TMI.

Pressão Inspiratória Máxima

A pressão inspiratória máxima (PI_{max}) foi obtida usando um transdutor de pressão (MVD-500 V.1.1 Microhard Sistema, Globalmed, Porto Alegre, Brasil), conectado a um sistema com duas válvulas unidirectional (DHD Treinador Muscular Inspiratório, Chicago, Illinois). A pressão inspiratória máxima foi determinada após inspiração máxima ao nível do volume residual contra uma via aérea obstruída com um orifício de 2 mm. A maior pressão das seis avaliadas foi considerada como pressão inspiratória máxima.²

Teste Cardiopulmonar

Teste cardiopulmonar incremental máximo foi executado em cicloergômetro com frenagem eletromagnética (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Alemanha) com incrementos de 10 watts por minuto para os pacientes com ICC e 15 watts para indivíduos saudáveis. Foram instruídos a manterem uma frequência de cadência de 60 rpm. Durante o teste, foram avaliadas as variáveis metabólicas a cada respiração através de um sistema previamente validado (Metalyzer 3B, Sistema de CPX, Cortex, Leipzig, Alemanha).¹⁵ A frequência cardíaca (FC) foi determinada por eletrocardiograma de 12 derivações.

Espessura do Diafragma

Nos pacientes e controles, a imagem da espessura do diafragma foi avaliada na zona de aposição através de ultrassonografia através do modo-B (EnVisor C, Philips, Bothell, USA) com transdutor de 12.0 MHz (L12-3, Philips, Bothell, USA) e 4 cm de profundidade, de acordo com o método descrito por Wait et al.¹⁶ As medidas foram obtidas no final da inspiração (Tdi) e final da expiração (Tde) para calcular a espessura relativa ($TF_{rel} = Tdi - Tde/Tdi$) durante manobra de capacidade residual funcional.

Indução do Metaboreflexo Muscular Inspiratório

Para induzir o metaboreflexo muscular inspiratório, os pacientes tinham um clipe no nariz (PK Morgan, Ltda, Gillingham, UK) e respiravam continuamente através de uma válvula de duas vias (Warren E. Collins, Inc., Braintree, o MA) de baixa resistência ($<1.5 \text{ cmH}_2\text{O a } 3 \text{ l.s}^{-1}$) conectado a uma resistência inspiratória obtida por uma válvula inspiratória (Healthscan Inc., Cedar Grove, New Jersey) para cargas de 7 - 41 cmH_2O ou POWERbreathe (Northfield Road, Southam, Warwickshire, UK) para pressões superiores. Durante cada protocolo a pressão inspiratória foi continuamente medido através de um transdutor de pressão eletrônico e calibrado (Silicon Pessor Sensor, MPX5050, Motorola, Denver, USA), conectada ao paciente e ao computador. A escala de Borg (B-10)¹⁷ foi usada para verificar a incapacidade de manter o esforço inspiratório.

Cada paciente e indivíduo controle participaram de dois experimentos diferentes, separados por 30 min de intervalo. Inicialmente, o metaboreflexo muscular inspiratório foi induzido para avaliar as respostas do fluxo sanguíneo da panturrilha em repouso e, subsequentemente, para o antebraço em exercício. Para cada um desses experimentos, os indivíduos foram avaliados a 60% ou 2% da P_Imax de acordo com randomização. Durante todo o protocolo, os pacientes

mantiveram uma frequência respiratória (f) de 15 respirações/min e tempo total do ciclo ventilatório (T_I/T_{TOT}) de 0,7, com um feedback visual e sonoro computadorizado com sons inspiratórios e expiratórios distintos. Após as medidas de repouso, os indivíduos começaram a respirar contra uma resistência inspiratória pré definida (60 ou 2% da $P_{I_{max}}$) e continuaram até a incapacidade de manter a pressão inspiratória alvo (exaustão). Essa incapacidade foi definida como redução da $P_{I_{max}}$ menor do que 80% do valor prescrito durante e respirações consecutivas.^{18,19}

Para os experimentos sobre fluxo sanguíneo da panturrilha em repouso (FSP), as medidas hemodinâmicas foram realizadas enquanto os indivíduos respiravam contra a resistência inspiratória. Para os experimentos sobre fluxo sanguíneo do antebraço em exercício, as medidas hemodinâmicas foram realizadas após a incapacidade de manter a pressão inspiratória alvo, enquanto os indivíduos estavam realizando protocolo de exercício de preensão palmar (*handgrip*). No braço dominante, foi avaliada a contração voluntária máxima com dinamômetro de mão (Kratos, DLC, Cotia, Brasil). O exercício de antebraço consistiu em contrações voluntárias máximas com dinamômetro mantendo 10 segundos de contração e 30 segundos de relaxamento até não conseguir manter a contração ou atingir um número de 12 repetições. Durante a fase de relaxamento, FSA foi avaliado e todos os pacientes foram encorajados verbalmente durante todo o período de contração isométrica para manter uma força adequada no dinamômetro.

Medidas Ventilatórias e Hemodinâmicas

Durante cada um dos protocolos, f , saturação de pulso de oxigênio arterial (SpO_2), e pressão parcial final de gás carbônico ($PETCO_2$) foram avaliadas com oxi-capnografia (Takaoka Oxicap,

São Paulo, Brasil). A frequência cardíaca (FC) foi monitorado através de eletrocardiograma. A pressão arterial média (PAM) foi mensurada no braço não dominante com um esfigmomanômetro automatizado (Dinamap 1846 SX/P, Critikon, Tampa, FL, USA), a intervalos de 1 min. O FSP e FSA foram avaliados por pletismografia (Hokanson, TL-400, Bellevue, WA, o USA). Para o FSP, o membro inferior direito foi posicionado sobre o nível do coração e mantido a coxa em repouso e o tornozelo pressionado para assegurar própria drenagem venosa. O *strain gauge* foi posicionado sobre a panturrilha direita no ponto de maior circunferência. Durante todo protocolo a pressão do manguito ao redor da coxa foi inflado a 60 mmHg e desinsuflado a cada 7,5 segundos em cada ciclo. Adicionalmente, outro manguito foi colocado no tornozelo e inflado a níveis supra-sistólico (240 mmHg) para excluir a circulação do pé. O FSP ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{ml}^{-1}$) foi determinado manualmente sobre quatro ciclos consecutivos. Para FSA, o braço foi posicionado acima do nível do coração. A pressão de oclusão venosa de 60 mmHg foi usado ao redor do antebraço e outra colocada no punho em níveis supra-sistólico (240 mmHg) para isolar o fluxo de sangue da mão. O manguito foi inflado por 25-30 segundos para cada medida de fluxo, realizada durante a fase de relaxamento. A resistência vascular da panturrilha (RVP) e do antebraço (RVA) foram calculados como PAM/FSP e PAM/FSA . A condutância vascular da panturrilha (CVP) e do antebraço (CVA) foram calculados como FSP/PAM e FSA/PAM , respectivamente.

Treinamento Muscular Inspiratório

Os pacientes com ICC realizaram TMI por 30 min, 7 vezes por semana, por 4 semanas de treinamento para os músculos inspiratórios (Healthscan Products Inc., Cedar Grove, NJ, USA). Durante o treinamento, os pacientes foram instruídos a manter a respiração diafragmática, com

frequência respiratória entre 15-20 respirações por minuto. Em cada semana, seis sessões de treinamento foram desenvolvidas a domicílio e uma realizada no laboratório sob supervisão. A carga inspiratória foi fixada em 30% da P_Imax, e semanalmente a carga foi ajustada para manter 30% da P_Imax. Nós temos provisoriamente mostrado que este protocolo induz uma significativa melhora da força muscular inspiratória em 4 semanas.²

Análise Estatística

Os valores foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Para comparar as diferenças entre características basais entre os grupos foi usado teste *t* pareado. Os pacientes com ICC e controles tiveram seus valores médios para variáveis respiratórias, FC, e medidas hemodinâmicas durante cada protocolo comparado através de análise de variância para amostras repetidas (ANOVA). Para avaliar o efeito do TMI, nos pacientes com ICC, foi testado através de ANOVA para medidas repetidas (SigmaStat 3.1, Richmond, CA, USA). Foi utilizado o teste de Bonferroni para ajustar os valores entre as comparações múltiplas e detectar erro tipo I de 0,05. O coeficiente de Pearson foi usado para avaliar associações entre as alterações das variáveis.

Resultados

Pacientes

As características basais e funcionais dos indivíduos controles e dos pacientes com ICC antes e após o TMI são mostradas na Tabela 1. A etiologia da ICC foi predominantemente não isquêmica, com disfunção grave do ventrículo esquerdo e capacidade funcional leve-moderada. Não houve nenhuma modificação nos medicamentos durante os experimentos. Os pacientes com ICC foram mais velhos, com FC mais baixa, consumo de oxigênio no pico do exercício

(VO_2 pico) e a relação ventilação produção de gás carbônico (V_E/VCO_2) maior do que os indivíduos controles. Através do protocolo, a PI_{max} e a espessura do diafragma foram significativamente menores nos pacientes com ICC. Não houve nenhuma diferença entre os grupos para PAM, FC, SpO_2 e $PETCO_2$. Os pacientes com ICC apresentaram valores basais menores para FSP e aumento na RVP.

Tabela 1. Características clínicas e resultados pré e pós-treinamento muscular inspiratório dos pacientes com insuficiência cardíaca e valores basais dos indivíduos normais

	ICC _{pre} (n=18)	ICC _{pos} (n=18)	Controles (n=10)
Gerais			
M/F	12/6	-	8/4
Idade, anos	57 ± 11	-	38 ± 12†
IMC, kg.m ⁻²	25 ± 1,5	-	22 ± 1
FEVE, %	24 ± 3	-	-
Isquêmicos/não-isquêmicos	7/11	-	-
Exercício			
FC, batim/min	127 ± 8	-	188 ± 12†
VO ₂ pico, ml/kg.min	15 ± 2	-	38 ± 10†
V _E /VCO ₂ slope	39 ± 2	-	30 ± 3
Classe funcional NYHA	I-II (10) III-IV (8)	-	
Função Pulmonar			
P _I max, cmH ₂ O	60 ± 8	103 ± 16*	153 ± 26†
P _I max, % predito	60 ± 3	82 ± 8*	95 ± 12†
Espessura diafragma			
T _{di} , cm	0,42 ± 0,02	0,65 ± 0,14*	0,85 ± 0,1†
T _{de} , cm	0,25 ± 0,05	0,26 ± 0,06	0,26 ± 0,02
TF _{di} .rel, cm	0,73 ± 0,55	1,68 ± 0,7*	2,1 ± 0,3†
Dif, cm	0,17 ± 0,12	0,38 ± 0,12*	0,54 ± 0,08†
Hemodinâmica			
PAM, mmHg	93,6 ± 19	91,6 ± 17	86 ± 11
FSP, ml.min/100ml	2,84 ± 1,6	2,95 ± 1	4,00 ± 2†
RVP, units	40 ± 17	34 ± 11	26 ± 10†
FC, batim/min	66 ± 11	68 ± 9	76 ± 12
SpO ₂ , %	97,4 ± 1,5	97,3 ± 1,4	98 ± 0,5
P _{ET} CO ₂ , mmHg	33 ± 5	33 ± 4	32 ± 6
f, resp/min	15,3 ± 1,5	14,6 ± 1,3	15 ± 2

Valores apresentados em média ± desvio padrão. ICC_{pre}, insuficiência cardíaca pré-treinamento muscular inspiratório; ICC_{pos}, insuficiência cardíaca pós-treinamento muscular inspiratório; M, masculino; F, feminino; IMC, índice de massa corporal; FEVE, fração de ejeção do ventrículo esquerdo determinado por ecocardiografia; VO₂pico, consumo de oxigênio de pico; V_E/VCO₂ slope, relação entre alteração da ventilação e produção de gás carbônico durante exercício cardiopulmonar; P_Imax, pressão inspiratória máxima. Espessura do diafragma medidas realizadas em duas condições: final da inspiração (T_{di}) e final da expiração (T_{de}). TF_{di}.rel, fração relativa da espessura do diafragma durante manobra de capacidade funcional, e Dif, diferença entre o final da inspiração e expiração. PAM, pressão arterial média; FSP, fluxo sanguíneo da panturrilha; RVP, resistência vascular da panturrilha. FC, frequência cardíaca. SpO₂, saturação de pulso de oxigênio; P_{ET}CO₂, pressão parcial final de dióxido de carbono; f, frequência respiratória. † $p < 0,05$ ICC_{pre} vs. Controles; * $p < 0,05$ entre ICC_{pre} vs. ICC_{pos}.

Para os pacientes com ICC, o programa de TMI de 4 semanas resultou em aumentos significativos na P_{Imax} e na espessura do diafragma, sem alterações no FSP no repouso. A Figura 1 mostra as medidas de espessura do diafragma antes e após TMI de um paciente com ICC. Houve correlação significativa entre as alterações da P_{Imax} e alterações na espessura do diafragma (T_{di}) após TMI ($r = 0,88$; $p < 0,001$).



Figura 1. Exemplo representativo de um paciente com medidas da espessura do diafragma antes (painel superior) e após (painel inferior) treinamento muscular inspiratório

Indução do Metaboreflexo Muscular Inspiratório

Durante a indução do metaboreflexo muscular inspiratório, a percepção de esforço para os pacientes com ICC e controles foi de $8,5 \pm 0,5$ para a situação com 60% da P_Imax comparados com $2,5 \pm 0,6$ ($p < 0,05$) para a situação com 2% da P_Imax. Os pacientes com ICC atingiram precocemente a incapacidade de manter a ventilação com 60% da P_Imax (333 ± 117 segundos) do que os controles (410 ± 125 segundos, $p < 0,05$). Após o TMI, os pacientes com ICC aumentaram tempo necessário para atingir a exaustão em 30%.

Indução do Metaboreflexo Muscular Inspiratório para Panturrilha em Repouso

A Tabela 2 e Figura 2 apresentam as respostas hemodinâmicas dos pacientes com ICC e controles assim como as adaptações do TMI para os pacientes com ICC durante o experimento do efeito da indução do metaboreflexo muscular inspiratório sobre a panturrilha em repouso. A resistência inspiratória a 60% da P_Imax resultou em similares aumentos da FC, f , e PAM, com redução da SpO₂ e manutenção constante da PETCO₂ em ambos os grupos. O TMI não teve nenhum efeito sobre essas variáveis. O FSP e CVP diminuíram significativamente mais nos pacientes com ICC e, este efeito atenuou-se após o TMI (Figura 2). Isto foi devido ao grande aumento da RVP na ICC, o que foi atenuado após o TMI.

Tabela 2. Valores médios dos grupos para experimento da panturrilha em repouso durante exercício respiratório de 2% da P_Imax e 60% da P_Imax em pacientes com ICC pré e pós-treinamento muscular inspiratório e controles

		Panturrilha em Repouso			
		Basal	1 min	2 min	Final
2% P_Imax; T_I/T_{TOT}, 0,7; f, 15					
CVP (unids)	ICC _{pre}	0,033 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,031 ± 0,02
	ICC _{pos}	0,030 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,009
	Controles	0,057 ± 0,05	0,046 ± 0,03	0,045 ± 0,03	0,046 ± 0,03
FC (batim/min)	ICC _{pre}	64 ± 8	65 ± 8	65 ± 8	66 ± 10
	ICC _{pos}	68 ± 9	68 ± 10	69 ± 9	69 ± 8
	Controles	72 ± 8	71 ± 8	73 ± 10	73 ± 9
f (resp/min)	ICC _{pre}	15 ± 0,9	15 ± 2,3	15,1 ± 1,5	15,2 ± 2
	ICC _{pos}	15 ± 1,3	15 ± 2	14,6 ± 2	14,6 ± 1,8
	Controles	14,8 ± 2	13,3 ± 3	13,8 ± 2	14,7 ± 3
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	ICC _{pre}	33 ± 6	32 ± 5	32 ± 5	32 ± 6
	ICC _{pos}	33 ± 5	33 ± 5	32 ± 5	32 ± 5
	Controles	33 ± 4	32 ± 6	31 ± 6	31 ± 6
SpO ₂ (%)	ICC _{pre}	98 ± 1,5	97 ± 1,6	97,8 ± 1	97,8 ± 1,3
	ICC _{pos}	98 ± 1,5	97,4 ± 2	97,6 ± 1,6	97 ± 1,5
	Controles	98 ± 0,9	98 ± 0,9	97 ± 1	97 ± 2
60% P_Imax; T_I/T_{TOT}, 0,7; f, 15					
CVP (unids)	ICC _{pre}	0,031 ± 0,02	0,023 ± 0,01*	0,016 ± 0,006*†	0,01 ± 0,003*†
	ICC _{pos}	0,032 ± 0,01	0,033 ± 0,01	0,029 ± 0,01	0,018 ± 0,009*€
	Controles	0,046 ± 0,02¥	0,05 ± 0,02¥	0,035 ± 0,02¥	0,035 ± 0,01¥
FC (batim/min)	ICC _{pre}	66 ± 11	70 ± 10¥	75 ± 12*†¥	89 ± 15*†
	ICC _{pos}	68 ± 9	72 ± 8	73 ± 9*	82 ± 10*†€
	Controles	76 ± 12	82 ± 9†	88 ± 12*†	89 ± 13*†
f (resp/min)	ICC _{pre}	15 ± 1	14,8 ± 2,5	14,8 ± 1,6	15,5 ± 1,3
	ICC _{pos}	14,6 ± 1,3	14,7 ± 1,7	14,5 ± 2,4	15 ± 1,8
	Controles	15 ± 2	14,6 ± 4	14,8 ± 2	15,2 ± 2
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	ICC _{pre}	33 ± 5	31 ± 5	31 ± 4,5	33 ± 5
	ICC _{pos}	33,5 ± 4	32 ± 5	33 ± 6	33 ± 4
	Controles	32 ± 6	31 ± 6	32,2 ± 7	33 ± 7
SpO ₂ (%)	ICC _{pre}	98 ± 1,5	97 ± 1,5	98 ± 1	94 ± 3*†
	ICC _{pos}	97,3 ± 1,4	97 ± 1,6	97 ± 2	95 ± 3€
	Controles	98 ± 0,9	98 ± 0,9	96 ± 3	93 ± 4*†

Valores em média ± DP. *Significativamente diferente do basal ($p < 0,05$). †Significativamente diferente entre protocolos 60% P_Imax vs. 2% P_Imax ($p < 0,05$). ¥ Significativamente diferente ICC vs. controles ($p < 0,05$). € Significativamente diferente ICC_{pre} vs. ICC_{pos}. Definição de termos: CVP, condutância vascular da panturrilha; FC, frequência cardíaca; f, frequência respiratória; P_{ET}CO₂, pressão parcial final de dióxido de carbono; SpO₂, saturação de pulso de oxigênio.

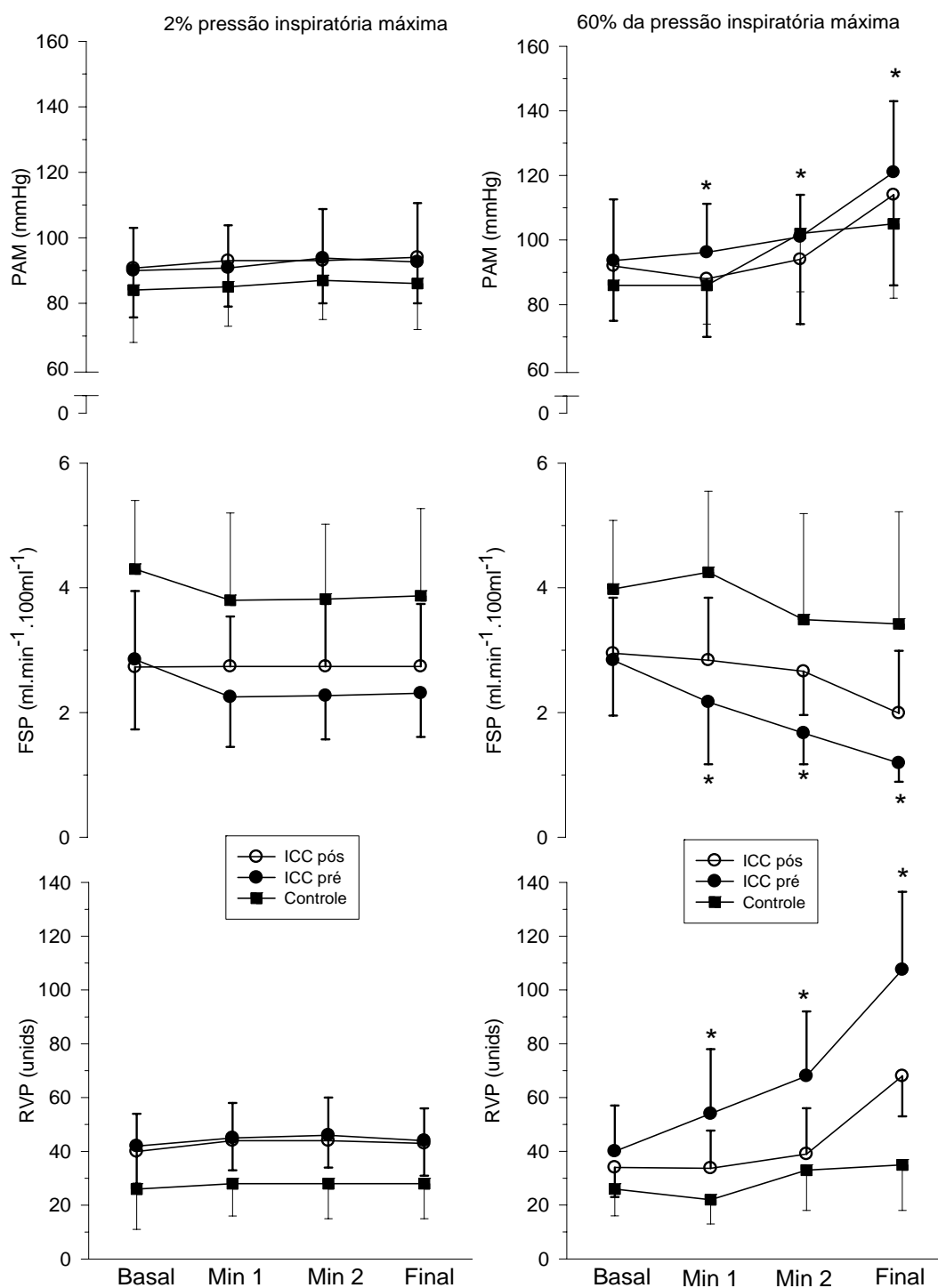


Figura 2. Valores médios da pressão arterial média (PAM), fluxo sanguíneo da panturrilha (FSP) e resistência vascular da panturrilha (RVP) obtida durante o período basal, primeiro, segundo e minuto final de cada protocolo de 2% e 60% da PImax.

Tabela 3. Valores médios dos grupos para experimento de exercício do antebraço após exercício respiratório a 2% da P_Imax e 60% da P_Imax em pacientes com ICC pré e pós-treinamento muscular inspiratório e controles

		Antebraço em Exercício			
		Final da carga inspiratória	1 min	2 min	Final
2% P_Imax; T_I/T_{TOT}, 0,7; f, 15					
CVA (unids)	ICC _{pre}	0,031 ± 0,02	0,04 ± 0,008¥	0,081 ± 0,02*¥	0,082 ± 0,02*¥
	ICC _{pos}	0,028 ± 0,009¥	0,081 ± 0,02*	0,093 ± 0,03*	0,093 ± 0,03*€
	Controles	0,046 ± 0,02	0,1 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*	0,11 ± 0,01*
FC (batim/min)	ICC _{pre}	66 ± 10	69 ± 14	68 ± 15	68 ± 15
	ICC _{pos}	69 ± 8	69 ± 14	66 ± 12¥	69 ± 13
	Controles	73 ± 9	84 ± 9	84 ± 10	81 ± 12
f (resp/min)	ICC _{pre}	15 ± 1,6	16 ± 3	15 ± 2	17 ± 2
	ICC _{pos}	15 ± 2	15 ± 2	15 ± 2	17 ± 2
	Controles	14 ± 3	20 ± 6	18 ± 5	19 ± 5
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	ICC _{pre}	32 ± 6	31 ± 2	32 ± 2	31 ± 3
	ICC _{pos}	32 ± 5	30 ± 5	32 ± 5	34 ± 6
	Controles	30 ± 6	29 ± 6	31 ± 8	33 ± 5
SpO ₂ (%)	ICC _{pre}	98 ± 1,3	97 ± 2	96 ± 1,6	96 ± 1,5
	ICC _{pos}	98 ± 2	98 ± 1,5	97,4 ± 2,6	97 ± 2
	Controles	97 ± 1	97 ± 2	97 ± 1,6	97 ± 1
60% P_Imax; T_I/T_{TOT}, 0,7; f_b, 15					
CVA (unids)	ICC _{pre}	0,01 ± 0,002†¥	0,017 ± 0,07*†¥	0,026 ± 0,01*†¥	0,067 ± 0,02*†¥
	ICC _{pos}	0,018 ± 0,009†¥	0,071 ± 0,03*†¥	0,093 ± 0,04*	0,1 ± 0,04*€
	Controles	0,035 ± 0,01†	0,106 ± 0,01*	0,11 ± 0,01*	0,13 ± 0,01*
FC (batim/min)	ICC _{pre}	89 ± 15†	68 ± 10*	70 ± 7	75 ± 9†
	ICC _{pos}	88 ± 14†	69 ± 9	72 ± 11	75 ± 16
	Controles	89 ± 11	77 ± 26	77 ± 25	84 ± 14
f (resp/min)	ICC _{pre}	15,5 ± 1,3	16 ± 3	16 ± 4	15 ± 2
	ICC _{pos}	15 ± 1,8	16 ± 3	15 ± 1,5	16 ± 3
	Controles	15 ± 2	17 ± 4	19 ± 4	19 ± 6
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	ICC _{pre}	32 ± 5	31 ± 2	33 ± 3	34 ± 3
	ICC _{pos}	33 ± 4	30 ± 2	30 ± 7	31 ± 3
	Controles	32 ± 6	30 ± 6	30 ± 7	31 ± 9
SpO ₂ (%)	ICC _{pre}	94 ± 3†	97 ± 2*	96 ± 2	96 ± 3
	ICC _{pos}	94 ± 3†	95 ± 3	97 ± 2*	96 ± 2
	Controles	93 ± 4†	97 ± 2	98 ± 1*	98 ± 1*

Valores em média ± DP. *Significativamente diferente do basal ($p < 0,05$). †Significativamente diferente entre protocolos 60% P_Imax vs. 2% P_Imax ($p < 0,05$). ¥ Significativamente diferente ICC vs. controles ($p < 0,05$). € Significativamente diferente ICC_{pre} vs. ICC_{pos}. Definição de termos: CVA, condutância vascular do antebraço; FC, frequência cardíaca; f, frequência respiratória; P_{ET}CO₂, pressão parcial final de dióxido de carbono; SpO₂, saturação de pulso de oxigênio.

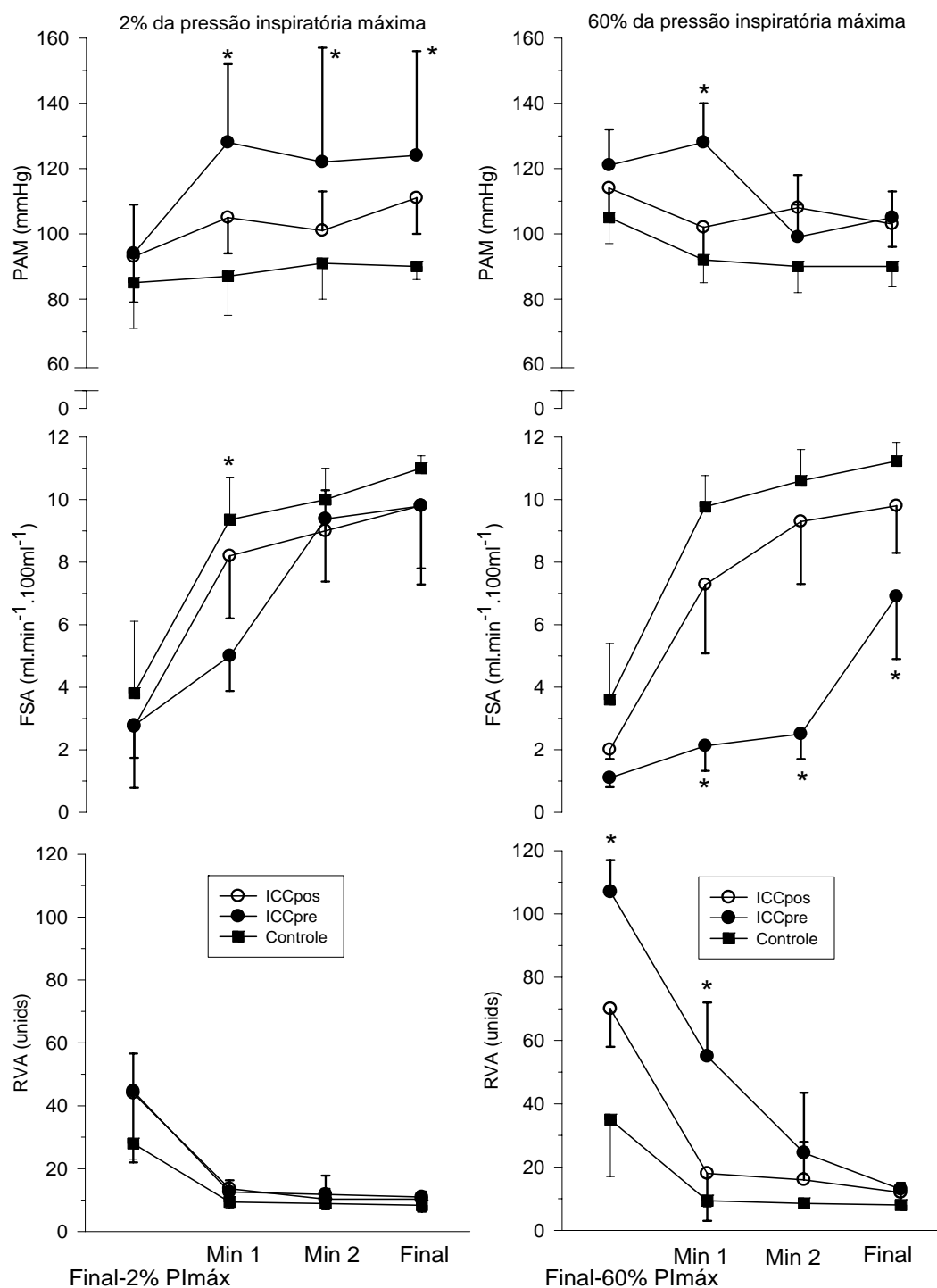


Figura 3. Valores médios da pressão arterial média (PAM), fluxo sanguíneo do antebraço (FSA) e resistência vascular do antebraço (RVA) obtida após indução do metaboreflexo muscular inspiratório, primeiro, segundo e minuto final de cada protocolo.

Indução do Metaboreflexo Muscular Inspiratório para Antebraço em Exercício

O tempo do exercício de *hangrip* foi reduzido com resistência inspiratória nos indivíduos controles (de 304 ± 132 s para 180 ± 60 s, $p = 0,02$) como também em pacientes com ICC (de 402 ± 112 s para 280 ± 151 s, $p = 0,01$). O TMI melhorou o tempo de exercício de *handgrip* com resistência inspiratória (de 280 ± 151 s para 437 ± 77 s, $p = 0,01$). A Tabela 3 e a Figura 3 apresentam as respostas ventilatórias e hemodinâmicas para os pacientes com ICC e controles, assim como as adaptações do TMI para os pacientes com ICC no experimento da indução do metaboreflexo muscular inspiratório para o antebraço em exercício. O exercício intermitente de *handgrip* após carga inspiratória de 60% da $P_{I\max}$ resultou em redução semelhante da FC, enquanto a $PETCO_2$ foi estável (Tabela 3). FSA e CVA aumentaram durante exercício, mas os pacientes com ICC mostraram uma atenuada elevação, que foi parcialmente corrigida após TMI (Figura 3). Por outro lado, a resposta da RVA foi aumentada nos pacientes com ICC, ainda melhorou após TMI (Figura 3).

Discussão

Os resultados primários do presente estudo foram: 1) os repetidos esforços voluntários realizados contra resistência inspiratória causaram uma exagerada vasoconstrição na panturrilha em repouso nos pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória, quando comparados aos indivíduos controles; 2) a fadiga dos músculos inspiratórios reduz as respostas de hiperemia do antebraço ao exercício de *handgrip* em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória; 3) quatro semanas de TMI atenuam a resposta de vasoconstrição da panturrilha e melhoram as respostas hemodinâmicas do exercício de *handgrip* seguidos de fadiga dos músculos

inspiratórios em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória. Em geral, este estudo demonstra a primeira evidência da atividade anormal do metaboreflexo muscular inspiratório em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória. Além disso, os nossos dados demonstraram que o TMI atenua o metaboreflexo muscular inspiratório na vasoconstrição periférica em membros em repouso e em exercício nesses pacientes.

Sobrecarga dos Músculos Inspiratórios e Vasoconstrição Periférica na IC

Para avaliar os efeitos da carga inspiratória sobre as respostas hemodinâmicas, nós empregamos um protocolo semelhante ao descrito por Sheel et al.⁵ De acordo com estes autores, o tempo total do ciclo ventilatório prolongado ($T_i/TTOT = 0,7$) juntamente com alta força inspiratória (60% P_Imax) durante o estudo de fadiga, causaria uma prolongada isquemia do diafragma, estimulando o metaboreflexo muscular respiratório e uma conseqüente vasoconstrição mediada pelo simpático nos membros em repouso.^{5,6} Em concordância com este conceito, os indivíduos controles demonstraram uma pequena redução na condutância vascular da panturrilha durante a situação com carga. Estes dados são consistentes com os resultados informados em estudos prévios^{5,14,20} ressaltando a noção de que existe um limiar de ativação do metaboreflexo muscular inspiratório em indivíduos saudáveis.⁶ Em contraste, os pacientes com ICC exibiram uma resposta distinta, caracterizada por uma redução na condutância da panturrilha durante o estudo de fadiga, compatível com uma atividade anormal do metaboreflexo muscular inspiratório nesses pacientes.

Os presentes dados estendem as observações realizadas por Miller et al¹³ em modelo de ICC em cães, mostrando que a habilidade dos músculos inspiratórios em "roubar" o fluxo de sangue dos músculos locomotores é mais ativo em animais com ICC. Nossos resultados estão de acordo

com o conceito de que a disponibilidade de oxigênio é prejudicada para o diafragma, junto com aumento do trabalho dos músculos inspiratórios na ICC, o que favoreceria o acúmulo de metabólitos, como ácido láctico, que ativa as terminações do tipo IV,¹¹ levando uma vasoconstrição mediada pelo simpático.^{4,5,11} A combinação das anormalidades do músculo respiratório com excessivo trabalho dos músculos inspiratórios, associado com limitação no transporte de oxigênio, provavelmente contribui para ativação exagerada do metaboreflexo muscular respiratório em nossos pacientes.

Efeito da Sobrecarga dos Músculos Inspiratórios sobre a Resposta Hemodinâmica do Membro em Exercício

Estudos prévios têm demonstrado que fadiga dos músculos inspiratórios influencia o desempenho do membro durante o exercício em indivíduos saudáveis.^{14,21} De acordo com esses achados, o tempo de fadiga durante o exercício de *handgrip* foi significativamente reduzida nos indivíduos saudáveis e, em pacientes com ICC após a carga dos músculos inspiratórios quando comparados com a situação controle. No entanto, as respostas hemodinâmicas do antebraço foram semelhantes após a carga e a situação controle (Figura 3), nos controles, mas não nos pacientes com ICC. Assim, parece razoável especular que metaboreflexo muscular inspiratório mediado pela vasoconstrição periférica tem grande impacto no desempenho do membro em pacientes com ICC do que nos indivíduos controles.

Em pacientes com ICC, a fadiga dos músculos inspiratórios importante modifica a resposta de hiperemia do antebraço ao exercício de *handgrip* (Figura 3). Especificamente, o fluxo sanguíneo do antebraço permaneceu inalterado durante os primeiros minutos de exercício de *handgrip* após a fadiga inspiratória, enquanto após a situação controle, FSA aumentou

imediatamente no início do exercício. Assim, possivelmente, a ativação do metaboreflexo muscular inspiratório e conseqüente aumento da atividade de vasoconstrição simpática restringiu as respostas de hiperemia do antebraço para exercício de *handgrip* nesses pacientes.¹⁴

Efeitos do Treinamento Muscular Inspiratório

Em achados prévios do nosso grupo, nós demonstramos que pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória apresentaram melhoras na força muscular inspiratória após as quatro primeiras semanas de TMI. Como esperado, os nossos resultados confirmaram que este curto período de protocolo de treinamento foi efetivo, como comprovado pelo aumento de 72% na força dos músculos inspiratórios e marcada hipertrofia do diafragma. A espessura do diafragma aumentou cerca de 35% em nossos pacientes após TMI, o que está de acordo com estudos prévios realizados em indivíduos saudáveis.²²⁻²⁴ Além disso, houve uma forte correlação entre as alterações da força muscular inspiratória e as alterações da espessura do diafragma após TMI.

Confirmando nossa hipótese original, o TMI aumentou importantemente o limiar requerido para estimular o metaboreflexo muscular inspiratório mediado através da vasoconstrição periférico em pacientes com ICC. Especificamente, após o programa de TMI a resposta pressórica e as alterações na condutância vascular da panturrilha no final da fadiga dos músculos inspiratórios foram reduzidos por $\sim 63 \pm 11\%$ e $\sim 41 \pm 23\%$, respectivamente. Estes resultados são bastante semelhantes aqueles informados por McConnell et al¹⁴ em indivíduos saudáveis e atribuem a noção de que o TMI pode estar associado a redução dos metabólitos do músculo durante a fadiga dos músculos inspiratórios, o que explicaria a atenuação da vasoconstrição observada.¹⁴ Além disso, o TMI ainda pode melhorar a resposta do FSA para exercício de *handgrip* intermitente, com melhora no desempenho do membro em pacientes com ICC,

sugerindo que fadiga do músculo inspiratório é ainda importante para redistribuição de fluxo de sangue durante o exercício, o que pode ser um determinante para o desempenho do exercício.

Limitações do Estudo

Neste estudo, nós mostramos que o TMI pode atenuar o metaboreflexo muscular inspiratório e reduzir a influência da fadiga do diafragma sobre fluxo sanguíneo periférico dos membros em repouso e em exercício em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória. Esses resultados não podem ser generalizados aos pacientes que não apresentam fraqueza muscular inspiratória, e estudos futuros são necessários para avaliar outras populações de pacientes. Considerando que nós estudamos as respostas hemodinâmicas ao exercício de antebraço, nossos resultados podem necessariamente não explicar os mecanismos responsáveis para a melhoria na capacidade funcional que são dependentes dos grandes músculos locomotores. Porém, baseado em experimentos em indivíduos saudáveis,²⁵ é provável que os efeitos podem ser mais significativos quando realizado exercício máximo utilizando grande grupos musculares. Em nosso estudo, não avaliamos atividade nervosa muscular simpática, mas outros investigadores^{5,7} demonstraram que a fadiga do diafragma induzida pelo o exercício causou importante vasoconstrição periférica secundária a ativação simpática. Finalmente, no presente estudo nós não acrescentamos CO₂ a inspiração, como foi realizado por outros,¹⁴ mas não encontramos nenhuma redução significativa na PETCO₂. A hiperventilação aguda elícita uma diminuição da resistência vascular da panturrilha e um aumento no fluxo sanguíneo.^{26,27} Portanto, McConnell e Lomax¹⁴ sugerem que a moderada hipocapnia (~30 mmHg) observada seguida do estudo de fadiga muscular inspiratória em nosso estudo, falha em gerar alterações na resistência vascular do antebraço ou pressão sanguínea.

Conclusões

A indução da fadiga dos músculos inspiratórios resulta em significativa redução do fluxo sanguíneo nos membros em repouso e em exercício em pacientes com ICC e fraqueza muscular inspiratória. O TMI melhora a redistribuição do fluxo sanguíneo nesses pacientes com possíveis conseqüências para o desempenho do exercício.

References

1. Meyer FJ, Mathias M, Zugck C, Kirschke A, Schellberg D, Küber W, Haass M. Respiratory muscle dysfunction in congestive heart failure: clinical correlation and prognostic significance. *Circulation*. 2001;103:2153-2154.
2. Dall'Ago P, Chiappa GR, Guths H, Stein R, Ribeiro JP. Inspiratory muscle training in patients with heart failure and inspiratory muscle weakness: A randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 47: 757-63.
3. Laoutaris I, Dritsas A, Brown MD, Manguinas A, Alivizatos PA, Cokkinos DV. Inspiratory muscle training using an incremental endurance test alleviates dyspnea and improves functional status in patients with chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2004;11:489-96.
4. Dempsey JA, Romer L, Rodman J, Miller J, Smith C. Consequences of exercise-induced respiratory muscle work. *Respir Physiol Neurobiol*. 2006;151; 242-250.
5. Sheel AW, Derchak PA, Morgan BJ, Pegelow DF, Jacques AJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex reduction in resting leg blood flow in humans. *J Physiol*. 2001; 537, 277-289.

6. Sheel AW, Derchak PA, Pegelow DF, Dempsey JA. Threshold effects of respiratory muscle work on limb vascular resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 282: H1732–H1738.
7. St Croix CM, Morgan BJ, Wetter TJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex sympathetic activation in humans. *J Physiol*. 2000; 529: 493–504.
8. Harms CA, Babcock MA, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Dempsey JA. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. *J Appl Physiol*. 1997; 82: 1573–1583.
9. Harms CA, Wetter TJ, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Hanson P, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on cardiac output and its distribution during maximal exercise. *J Appl Physiol*. 1998; 85: 609–618.
10. Harms CA, Wetter TJ, St Croix CM, Pegelow DF, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on exercise performance. *J Appl Physiol*. 2000; 89:131–138.
11. Rodman JR, Henderson KS, Smith CA, Dempsey JA. Cardiovascular effects of the respiratory muscle metaboreflexes in dogs: rest and exercise. *J Appl Physiol*. 2003;95: 1159–1169.
12. Miller JD, Pegelow DF, Jacques AJ, Dempsey JA. Effects of augmented respiratory muscle pressure production on locomotor limb venous return during calf contraction exercise. *J Appl Physiol*. 2005;99:1802-1815.
13. Miller JD, Smith C, Hemauer S, Dempsey JA. The effects of inspiratory intrathoracic pressure production on the cardiovascular response to submaximal exercise in health and chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 292: H580-592.

14. McConnell AK, Lomax M. The influence of inspiratory muscle work history and specific inspiratory muscle training upon human limb muscle fatigue. *J Physiol.* 2006; 577:445-457.
15. Meyer T, Georg T, Becker C, Kindermann W. Reliability of gas exchange measurement from two different spiroergometry systems. *Int J Sports Med.* 2001; 22:593-597.
16. Wait JL, Nahormek PA, Yost WT, Rochester DP. Diaphragmatic thickness-lung volume relationship in vivo. *J Appl Physiol.* 1989; 67: 1560–1568.
17. Borg G. Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Human Kinetics, Champaign, IL, USA, 1998.
18. Bellemare F, Grassino A. Effect of pressure and timing of contraction on human diaphragm fatigue. *J Appl Physiol.* 1982;53:1190–1195.
19. American Thoracic Society/European Respiratory Society. Statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166: 518-624.
20. Dempsey JA. Challenges for future research in exercise physiology as applied to the respiratory system. *Exerc Sport Sci Rev.* 2006; 34: 92-98.
21. Romer LM, Haverkamp HC, Lovering AT, Pegelow DF, Dempsey JA. Effect of exercise-induced arterial hypoxemia on quadriceps muscle fatigue in healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006; 290: R365–R375.
22. Enright SJ, Unnithan VB, Heward C, Withnall L, Davies DH. Effect of high-intensity inspiratory muscle training on lung volumes, diaphragm thickness, and exercise capacity in subjects who are healthy. *Phys Ther.* 2006; 86: 345–354.
23. DePalo VA, Parker AL, Al-Bilbeisi F, McCool FD. Respiratory muscle strength training with nonrespiratory maneuvers. *J Appl Physiol.* 2004; 96: 731–734.

24. Downey AE, Chenoweth LM, Townsend DK, Ranum JD, Ferguson CS, Harms CA. Effects of inspiratory muscle training on exercise responses in normoxia and hypoxia. *Respir Physiol & Neurobiology*. 2007;156:137-146.
25. Wetter TJ, Harms CA, Nelson WB, Pegelow DF, Dempsey JA. Influence of respiratory muscle work on VO_2 and leg blood flow during submaximal exercise. *J Appl Physiol*. 1999; 87: 643-651.
26. Steurer J, Kaplan V, Vetter W, Bollinger A, Hoffmann U. Local blood flux in skin and muscle during voluntary hyperventilation in healthy controls and patients with hyperventilation syndrome. *Int J Microcirc Clin Exp*. 1995; 15: 277–282.
27. Coffman JD, Kelly P. Hyperventilation and human calf blood flow. *Am J Physiol*. 1966; 211:1255–1260.

Capítulo VI

Conclusões

- 1) A ativação dos músculos inspiratórios durante a recuperação do exercício máximo em indivíduos saudáveis e treinados reduz significativamente os níveis de lactato, o que reforça o conceito de que os músculos inspiratórios são consumidores de lactato durante a recuperação do exercício.

- 2) A fadiga dos músculos inspiratórios resulta em significativa redução do fluxo sanguíneo para os membros em repouso e em exercício em pacientes com insuficiência cardíaca e fraqueza muscular inspiratória. A redução do fluxo sanguíneo após indução do metaboreflexo muscular inspiratório foi significativamente maior nos pacientes com insuficiência cardíaca e fraqueza muscular inspiratória do que nos indivíduos controles.

- 3) O treinamento muscular inspiratório aumenta o limiar de ativação do metaboreflexo muscular inspiratório melhorando o fluxo sanguíneo para os membros em repouso e em exercício em pacientes com insuficiência cardíaca.

ANEXO I

Blood lactate during recovery from intense exercise: impact of inspiratory loading ²

**GASPAR R. CHIAPPA¹, BRUNO T. ROSEGUINI¹, CRISTIANO N. ALVES¹,
ELTON L. FERLIN², J. ALBERTO NEDER⁵ and JORGE P. RIBEIRO^{1,3,4}**

¹Exercise Pathophysiology Research Laboratory, ²Biomedical Engineering, and ³Cardiology Divisions, Hospital de Clínicas de Porto Alegre; ⁴Department of Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande Sul; Porto Alegre, Brazil and Pulmonary Function and Clinical Exercise Physiology Unit (SEFICE), Respiratory Division, Federal University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.

Running title: Blood lactate during recovery

Correspondence to:

Jorge P. Ribeiro, MD, ScD
Associate Professor and Chief on Non-invasive Cardiology,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Rua Ramiro Barcelos 2350,
90035-007, Porto Alegre, RS, Brazil
Phone: +55 51 9982 4984
Fax: +55 51 2101 6857
E-mail: jpribeiro@cpovo.net

² Chiappa GR, Roseguini BT, Alves CN, ET al. Blood lactate during recovery from intense exercise: impact of inspiratory loading. *Med Sci Sports Exerc* 2007 [submitted].

Abstract

Purpose: It has long been suggested that increased inspiratory muscle work may reduce blood lactate levels ($[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$) during dynamic exercise. In this study, we tested the hypothesis that inspiratory muscle activation during recovery of intense exercise would contribute to La^- clearance, thus leading to reduced $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$. **Methods:** Twelve healthy men underwent 2 maximal incremental exercise tests on different days. During a 20 min inactive recovery period, they breathed freely or against a fixed inspiratory resistance of 15 cm H_2O . During recovery, pulmonary gas exchange was continuously monitored, and serial samples of arterialized venous blood were obtained for $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$, pH, PCO_2 , and HCO_3^- . **Results:** Subjects presented similar gas exchange variables at peak exercise during both experimental conditions. $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ during recovery was reduced with inspiratory resistance (7.7 ± 1 vs 10.4 ± 1 , 7.8 ± 2 vs 10.3 ± 2 , 7.3 ± 1 vs 9.7 ± 2 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ at 5, 7 and 9 min of recovery, respectively; $P < 0.05$), but no differences were found on blood acid-base status. Loaded breathing was associated with increased metabolic demand (VO_2 and VCO_2), with **higher** alveolar ventilation. Moreover, breathing pattern was significantly changed in the loaded condition, with increased V_{T} and reduced $T_{\text{I}}/T_{\text{TOT}}$ responses. **Conclusion:** These data are consistent with the notion that inspiratory muscles may be net consumers of lactate during recovery from intense exercise.

Key words: lactate metabolism, excess postexercise oxygen consumption; inspiratory muscles; work of breathing.

Paragraph number 1. During recovery from intense exercise, blood lactate concentration ($[\text{La}^-]_{\text{B}}$) decreases more rapidly when light-to-moderate exercise is performed (2,3,9,30). In fact, during active recovery at 30-70% of peak oxygen uptake ($\text{VO}_{2\text{peak}}$), La^- is utilized as a substrate for oxidative metabolism, thereby increasing the rate of La^- removal from the circulatory system (3). Moreover, the rate of decline in $[\text{La}^-]_{\text{B}}$ is also influenced by the training state, as demonstrated by the higher rates of La^- removal in endurance trained subjects (4,25).

Paragraph number 2. It has also been suggested that the inspiratory muscles may affect $[\text{La}^-]_{\text{B}}$ levels during exercise (11,20,29). A number of studies have demonstrated that, after specific inspiratory muscle training, $[\text{La}^-]_{\text{B}}$ is lowered at a given intensity of exercise, which has been partially attributed to an improvement in the ability of inspiratory muscles to metabolize La^- (21,29). Moreover, earlier animal studies suggested that inspiratory muscles might be net consumers of La^- during exercise (11,20). However there is no evidence that the activation of inspiratory muscles during recovery of exercise may alter La^- removal. Therefore, the purpose of the present study was to test the hypothesis that activation of inspiratory muscles during recovery of intense exercise would contribute to La^- clearance, thus leading to reduced $[\text{La}^-]_{\text{B}}$ when compared with passive recovery.

METHODS

Paragraph number 3. **Subjects.** Twelve healthy men with mean (\pm SD) age of 28 ± 2 years, body weight of 78 ± 5 kg, and height of 179 ± 3 cm participated in the study. All subjects had normal medical history, physical examination and resting as well as exercise electrocardiogram. None of the subjects was taking any medications or smoked. They were informed of the discomforts and risks involved and their written informed consent was obtained before the study.

The experimental protocol was approved by the Committee for Ethics in Research of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre.

Paragraph number 4. Protocol. Subjects came to the laboratory on 2 nonconsecutive days to perform maximal incremental exercise followed by 20 min recovery. Before both experiments, a canula was inserted in one of the superficial dorsal hand veins (near the dorsal vein arch), and a heating pad was used to obtain arterialized venous blood samples of blood gases and $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$. In one experimental condition, an inspiratory resistance fixed at 15 cmH₂O was connected to the breathing apparatus immediately after the end of the test. This inspiratory resistance has been previously shown to affect the oxygen uptake kinetics during exercise (8). In the other experimental condition, subjects performed the same test followed by a 20 min recovery period without an inspiratory load. The order of the tests, with and without inspiratory resistance, was randomized.

Paragraph number 5. Maximal Incremental Exercise Tests. After a period of adaptation to the procedures, subjects set quietly for 15 min to obtain baseline values for resting oxygen uptake (VO_2). Experiments were performed on an electrically braked cycle ergometer (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Germany). The incremental exercise test started with a period of 3 min without resistance, followed by increments of 20 W every min until the subjects reached volitional fatigue. Pedaling rate was maintained at 60-70 rpm. During the procedure, gas exchange was measured breath-by-breath by a previously validated system (Metalyzer 3B, CPX System, Cortex, Leipzig, Germany) (23), which includes rapid O₂ and CO₂ analyzers and a turbine. The system was connected to a two-way Lloyd valve (Warren E. Collins, Inc., Braintree, MA) with low resistance (<1.5 cmH₂O at 3 l.s⁻¹). For the recovery period with added inspiratory resistance, a threshold system device (Threshold, IMT, Healthscan Products Inc., Cedar Grove,

NJ) was inserted on the inspiratory part of the valve. The same system was also used for the control situation, but without inspiratory resistance. This type of inspiratory load maintains a constant resistance whatever the ventilation level (10). Heart rate was measured from R-R interval of an electrocardiogram (Nihon Khoden Corp., Tokyo, Japan) using a twelve lead arrangement. Blood pressure was measured every 2 min with a standard cuff sphygmomanometer.

Paragraph number 6. Values for $\dot{V}O_2$, carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$), minute ventilation (V_E), end-tidal partial pressure of carbon dioxide ($PETCO_2$), ventilatory equivalent for carbon dioxide ($V_E \cdot [\dot{V}CO_2]^{-1}$), ventilatory equivalent for oxygen ($V_E \cdot [\dot{V}O_2]^{-1}$), tidal volume (V_T), alveolar ventilation ($V_A = V_E (1 - V_D[V_T]^{-1})$), and inspiratory / expiratory time ratio (T_I/T_{TOT}) were calculated from the measured variables and smoothed by using a 10-s moving average to reduce noise from the respiratory cycle, breath-to-breath V_T variation. Excess postexercise oxygen consumption (EPOC) (amount of oxygen consumed in excess of resting after exercise as measured in liters) was calculated as the integrated area for the recovery $\dot{V}O_2$ curve minus the mean pre-exercise value (19).

Paragraph number 7. Blood Sampling. Arterialized venous blood samples were drawn before exercise, immediately after exercise, and at 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 min during recovery. These samples were deproteinized on perchloric acid, centrifuged, and later analyzed in duplicate for $[Lac^-]_B$ using a standard enzymatic method (16,27). Arterialized venous blood was also taken immediately after exercise and at 3, 7, and 9 min in the recovery period for pH, PCO_2 , and HCO_3^- calculation (RapidLab 865, Bayer, East Walpole, MA, USA).

Paragraph number 8. Statistical Analysis. Statistical analysis was performed using a commercial statistical software package (SigmaStat 3.1, Richmond, CA, USA). Descriptive data

are reported as mean \pm SD. Paired Student's t-tests were used to compare the results of maximal exercise tests and areas under the curves (EPOC, $\dot{V}CO_2$, \dot{V}_E , \dot{V}_A , \dot{V}_T , $\dot{V}_E \cdot [\dot{V}CO_2]^{-1}$, $\dot{V}_E \cdot [\dot{V}O_2]^{-1}$, T_I/T_{TOT} , and $[Lac^-]_B$). During recovery from exercise, variables were compared by one-way analysis of variance for repeated measures. Where appropriate, multiple comparisons were performed with the Tukey-Kramer's *post hoc* procedure. Differences were considered significant for $P < 0.05$.

RESULTS

Paragraph number 9. As shown in Table 1, subjects presented similar gas exchange variables at peak exercise during both experimental conditions. $[Lac^-]_B$ at 5, 7, 9, and 15 min of recovery was significantly reduced with inspiratory resistance (Fig. 1). Likewise, the mean area under the curve for $[Lac^-]_B$ was significantly smaller with inspiratory resistance (111 ± 18 vs 132 ± 26 [mmol.l⁻¹].min); $P < 0.05$). In contrast, arterialized venous blood pH, PCO_2 , and HCO_3^- were not altered by the application of inspiratory resistance during recovery phase (Fig 2).

Paragraph number 10. Total $\dot{V}O_2$ during recovery (with resistance 21 ± 3 l; without resistance 18 ± 3 l; $P < 0.01$) as well as EPOC (with resistance 11 ± 2 l; without resistance 8 ± 2 l; $P < 0.01$) increased significantly with inspiratory resistance (Fig. 3). The difference of the area under the curve for $\dot{V}O_2$ in the recovery with and without inspiratory resistance (2.8 ± 2 l) indicates the magnitude $\dot{V}O_2$ for inspiratory muscles activated during the protocol. Likewise, total $\dot{V}CO_2$ during recovery was significantly increased with inspiratory resistance (with resistance, 4 ± 0.4 l; without resistance, 3.5 ± 0.3 l; $P < 0.01$). Despite an increase in recovery $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$, \dot{V}_E responses were similar in the two conditions, but \dot{V}_A was significantly higher with inspiratory resistance (Fig 4). Breathing pattern was significantly changed with the addition

of inspiratory resistance, with increased V_T , and reduction in duty cycle (T_I/T_{TOT}) responses (Fig. 4). Finally, inspiratory loading resulted in significantly lower $V_E \cdot [VCO_2]^{-1}$ during early recovery, lower $V_E \cdot [VO_2]^{-1}$ throughout recovery, and lower $PETCO_2$ during late recovery (Fig. 5).

DISCUSSION

Paragraph number 11. The major finding of this study was that the addition of inspiratory resistance during recovery from intense exercise decreased $[Lac^-]_B$ levels in a group of healthy young males. These data are in agreement with the concept that the activation of inspiratory muscles may influence the interaction between $[Lac^-]_B$ production and clearance.

.Paragraph number 12. Blood La^- removal after intense exercise is the product of a complex interplay of a variety of factors, which include fractional uptake by the liver (24), the heart (26), the brain (17), and the skeletal muscles (6,7). In particular, it is known that oxidative skeletal muscles that are contracting during submaximal steady-state condition are ideally suited for La^- consumption (12). In this setting, several studies have clearly demonstrated that light-to-moderate cycle exercise following exhaustive efforts resulted in approximately 5-26% lower $[Lac^-]_B$ when compared with passive recovery (4,30). Thus, our finding of ~16% lower $[Lac^-]_B$ during active recovery restricted to the inspiratory muscles compared with the control passive situation extend those from prior reports and are suggestive that respiratory muscles may also influence La^- removal during recovery from exhaustive exercise. However, the pattern of faster blood La^- decline in our experiments appears to differ from some studies in which mild skeletal muscle exercise was performed (2,4,9,30). In our study, differences are apparent within the first five minutes of recovery whereas it takes longer in the mild exercise studies. It is possible that

the different metabolic capacities of inspiratory muscles when compared to skeletal muscle may account, at least in part, for these findings (19).

Paragraph number 13. Indirect evidence suggests that inspiratory loading may increase respiratory muscle blood flow at the expense of leg blood flow (13,14). In fact, increased respiratory muscle work has been shown to promote reflex sympathoexcitation and vasoconstriction in systemic vascular beds, probably redistributing blood flow from the locomotor limb toward respiratory muscles (15). This augmented perfusion, superimposed with the high capillary density and oxidative capacity of the diaphragm and accessory respiratory muscles, would create a favorable condition for La^- consumption by these muscles. Thus, in our study, it seems reasonable to suggest that at least part of the lower $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ during loaded condition could be attributed to an elevated uptake of La^- by the inspiratory muscles. Alternatively, the redistribution of blood flow induced by inspiratory loading could have also influenced La^- metabolism by the heart (26) or could have reduced efflux of La^- from the lower limbs.

Paragraph number 14. The concept that respiratory muscles may use La^- as an energy source is not necessarily new. Fregosi et al. (11) first suggested that inspiratory muscles, like other muscles with a high oxidative capacity, may be net consumers of La^- during exercise. These authors found an augmented La^- concentration in diaphragm of rats in the absence of glycogen utilization during moderate-to-severe exercise, which was partially attributed to La^- uptake by the diaphragm from the perfusate arterial blood (12). In humans, a number of studies have reported lower $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ at equivalent intensities of exercise following specific respiratory muscle training (22,28,29), which was explained by a potential training-induced improvement in the ability of inspiratory muscles to metabolize La^- (29). However, to our knowledge, this is the first

study to demonstrate that La^- removal can be enhanced by increasing inspiratory work in humans.

Paragraph number 15. In agreement with previous findings, we failed to find an association between post-exercise oxygen consumption (EPOC) and $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ (3). Although $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ was reduced significantly, EPOC was ~27 % higher during loaded trial when compared with the control situation. This lack of association between EPOC and La^- is in close agreement with the concept that only a minor fraction of the La^- is converted to glycogen and that this process contributes to EPOC only to a minor extent (1,3). In addition, it has been suggested that EPOC could be related to sustained elevated ventilation, cardiac output, and glyconeogenesis in the liver after cycling exercise (5). In our study, the augmented EPOC and VCO_2 during the loaded condition seem to reflect the additional work of breathing induced by the inspiratory resistance. Interestingly, however, the ventilatory response (V_E) was lower than expected for the increased metabolic demand (Fig 4), while V_A was higher during recovery. Therefore, since PCO_2 was unaltered (Fig. 2), it seems that the increase in V_A was only enough to compensate for the increased VCO_2 . In this context, it is instructive to consider the metabolic determinants of the V_E response: $\text{V}_E \cdot [\text{VCO}_2]^{-1} = 1 / \text{PaCO}_2 (1 - \text{V}_D[\text{V}_T]^{-1})$. Where $\text{V}_D[\text{V}_T]^{-1}$ is the dead fraction of the breath. Therefore, as PaCO_2 did not increase with inspiratory resistance (Fig. 2), $\text{V}_E \cdot [\text{VCO}_2]^{-1}$ would only decrease if V_D/V_T was lower. In fact, loaded breathing was associated with higher V_T and lower $\text{V}_D[\text{V}_T]^{-1}$.

Paragraph number 16. An intriguing finding of the present study was the apparently paradoxical lower $[\text{Lac}^-]_{\text{B}}$ with similar $[\text{HCO}_3^-]$ and pH during loaded compared to unloaded breathing (Figs. 1 and 2). In order to interpret these data, the Stewart's physicochemical approach is attractive (18). According to this approach, the "dependent" variables ($[\text{HCO}_3^-]$, pH,

and $[H^+]$) can only change if the “independent” variables (PCO_2 , the total amount of all weak acids and the strong ion difference) allow this change (18). In the present study, PCO_2 and, presumably, the weak acids, remained constant. Consequently, we can speculate that $[HCO_3^-]$ was not higher with loaded breathing because the strong ion difference (strong cations – Cl^- plus La^-) did not increase substantially despite lower $[Lac^-]_B$ levels. Unfortunately, however, we did not measure blood electrolytes and we could not confirm this hypothesis..

Paragraph number 18. This study has several limitations. Despite the fact that we have clearly shown that the addition of inspiratory resistance results in lower $[Lac^-]_B$ during recovery, our experiments cannot demonstrate the mechanisms responsible for this finding. Therefore, future studies should address if indeed the activation of inspiratory muscles during recovery results in oxidation of La^- by these muscles or if other mechanisms, such as La^- oxidation by the heart or redistribution of blood flow, may be involved. Likewise, future studies should also measure strong ion difference to evaluate the mechanisms responsible for our acid-base findings.

Paragraph number 17. In conclusion, the addition of inspiratory resistance during recovery from intense exercise results in increased oxygen uptake, reduction $[Lac^-]_B$, and change in breathing pattern, without changes in arterialized blood gases or ventilation. These findings are in agreement with the concept that inspiratory muscles are net consumers of La^- during recovery from exercise.

Acknowledgments

This work was supported in part by grants from CAPES and CNPq, Brasilia, Brazil, and FIPE-HCPA, Porto Alegre, Brazil.

Conflict of interest

The authors report no potential conflict of interest related to the content of this article.

REFERENCES

1. BANGSBO, J., P. GOLLNICK, T.E. GRAHAM, and B. SALTIN. Substrates for muscle glycogen synthesis in recovery from intense exercise in humans. *J. Physiol.* 434: 423-440, 1991.
2. BANGSBO, J., T. GRAHAN, L. JOHANSEN, and B. SALTIN. Muscle lactate metabolism in recovery from intense exhaustive exercise: impact of light exercise. *J. Appl. Physiol.* 77:1890-1895, 1994.
3. BANGSBO, J., and Y. HELLSTEN. Muscle blood flow and oxygen uptake in recovery from exercise. *Acta Physiol. Scand.* 162:305-312, 1998.
4. BELCASTRO, A.N., and A. BONEN. Lactic acid removal rates during controlled and uncontrolled recovery exercise. *J. Appl. Physiol.* 39:932-936, 1975.
5. BØRSHEIM, E., and R. BAHR. Effect of exercise intensity, duration and mode on post-exercise oxygen consumption. *Sports Med.* 33:1037-1060, 2003.
6. BROOKS, G.A., K.E. BRAUNER, and R.G. CASSENS. Glycogen synthesis and metabolism of lactic acid after exercise. *Am. J. Physiol.* 224: 1162–1166, 1973.
7. BROOKS, G.A., and G.A. GAESSER. End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *J. Appl. Physiol.* 49: 1057–1069, 1980.

8. CARRA, J., R. CANDAU, and S. KESLACY, et al. Addition of inspiratory resistance increases the amplitude of the slow component of O₂ uptake kinetics. *J. Appl. Physiol.* 94:2448-2455, 2003.
9. DODD, S., S.K. POWERS, T. CALLENDER, and E. BROOKS. Blood lactate disappearance at various intensities of recovery exercise. *J. Appl. Physiol.* 57: 1462-1465, 1984.
10. EASTWOOD, P.R., and D.R. HILLMAN. A threshold loading device for testing of inspiratory muscle performance. *Eur. Respir. J.* 8: 463-466, 1995.
11. FREGOSI, R.F., and J.A. DEMPSEY. Effects of exercise in normoxia and acute hypoxia on respiratory muscle metabolites. *J. Appl. Physiol.* 60:1274-1283, 1986.
12. GLADDEN, L.B.. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J. Physiol.* 558:5-30, 2004.
13. HARMS, C.A., M.A. BABCOCK, and S.R. MCCLARAN, et al. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 82:1573-1583, 1997.
14. HARMS, C.A., T.J. WETTER, and S.R. MCCLARAN, et al. Effects of respiratory muscle work on cardiac output and its distribution during maximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 85:609-618, 1998.
15. HARMS, C.A., T.J. WETTER, C.M. ST CROIX, D.F. PEGELOW, and J.A. DEMPSEY. Effects of respiratory muscle work on exercise performance. *J. Appl. Physiol.* 89, 131-138, 2000.
16. HOHORST, H.J.. Lactate determination with lactic acid dehydrogenase and DPN method of enzymatic analysis. Weinheim: Verlag Chemie, 1965.

17. IDE, K., and N.H. SECHER. Cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Prog. Neurobiol.* 61:397-414, 2000.
18. JONES, N.L. A quantitative physicochemical approach to acid-base physiology. *Clin. Biochem.* 23:189-195.
19. LANGSETMO, I., and D. POOLE. VO₂ recovery kinetics in the horse following moderate, heavy, and severe exercise. *J. Appl. Physiol.* 86:1170-77, 1999.
20. MANOHAR, M., and A.S. HASSAN. Diaphragmatic energetics during prolonged exhaustive exercise. *Am. Rev. Respir. Dis.* 144:415-418, 1991.
21. MCCONNELL, A.K., and L.M. ROMER. Respiratory muscle training in healthy humans: resolving the controversy. *Int. J. Sports Med.* 25:284–293, 2004.
22. MCCONNELL, A.K., and G.R. SHARPE. The effect of inspiratory muscle training upon maximum lactate steady-state and blood lactate concentration. *Eur. J. Appl. Physiol.* 94:277-284, 2005.
23. MEYER, T., T. GEORG, C. BECKER, and W. KINDERMANN. Reliability of gas exchange measurement from two different spiroergometry systems. *Int. J. Sports Med.* 22:593-597, 2001.
24. NIELSEN, H.B., J.O. CLEMMESSEN, C. SKAK, P. OTT, and N.H. SECHER. Attenuated hepatosplanchnic uptake of lactate during intense exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 92:1677–1683, 2002.
25. OYONO-ENGUELLE, S., J. MARBACH, and A. HEITZ, et al. Lactate removal ability and graded exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 68: 905-911, 1990.
26. STANLEY, W.C. Myocardial lactate metabolism during exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 23:920-924, 1991.

27. RIBEIRO, J.P., E. CADAVID, J. BAENA, E. MONSALVET, A.BARNA, and E.H. DE ROSE. Metabolic predictors of middle distance swimming performance. *Brit. J. Sports Med.* 24:196-200,1990.
28. ROMER, L.M., A.K. MCCONNELL, and D.A. JONES. Effect of inspiratory muscle training upon recovery time during high intensity, repetitive sprint activity. *Int. J. Sports Med.* 23:353-360, 2002.
29. SPENGLER, C.M., M. ROOS, and S.M. LAUBE. Decreased exercise blood lactate concentrations after respiratory endurance training in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 79:299-305, 1999.
30. WELTMAN, A., B.S. STAMFORD, and C. FULCO. Recovery from maximal effort exercise: lactate disappearance and subsequently performance. *J. Appl. Physiol.* 47: 677-682,1979.

TABLE 1. Results obtained at peak exercise with and without inspiratory resistance in the recovery period.

Variables	With resistance	Without resistance	<i>P value</i>
Heart rate _{peak} , bpm	189 ± 11	188 ± 9	0.90
SBP _{peak} , mmHg	172 ± 10	174 ± 11	0.60
VO _{2peak} , ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹	45 ± 5	46 ± 5	0.90
V _{E peak} , l.min ⁻¹	150 ± 21	147 ± 25	0.89
VCO _{2 peak} , l.min ⁻¹	4.5 ± 0.6	4.4 ± 0.6	0.80
RER _{peak}	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.60
V _{T peak} , l	2.8 ± 0.7	2.8 ± 0.8	0.44
T _{I peak}	0.58 ± 0.12	0.6 ± 0.1	0.12
T _{E peak}	0.56 ± 0.13	0.6 ± 0.2	0.25
f _{peak} , breaths.min ⁻¹	55 ± 18	54 ± 13	0.40
Power _{peak} , W	301 ± 16	298 ± 14	0.65

Data are presented as mean ± standard deviation. SBP, systolic blood pressure; VO₂, oxygen uptake; V_E, minute ventilation, VCO₂, carbon dioxide output; RER, respiratory exchange ratio; V_T, tidal volume; T_I, inspiratory time; T_E, expiratory time; f, breathing frequency.

Figure legends

Figure 1. Mean (+ or – SD) arterialized blood lactate concentration during recovery with (filled circles) or without (open circles) inspiratory resistance. ANOVA for repeated measures: group effect $P > 0.05$; time effect $P < 0.05$; interaction $P < 0.05$. * indicates significantly different by Tukey-Kramer's *post hoc* procedure.

Figure 2. pH, PCO_2 , and HCO_3^- mean values (+ or – SD) with (filled circles) or without (open circles) inspiratory resistance in the recovery period. ANOVA for repeated measures, $P > 0.05$.

Figure 3. Mean (+ or – SD) VO_2 , expressed as percentage of VO_2 peak, during recovery with (filled circles) or without (open circles) inspiratory resistance. $P < 0.05$ for the mean area under the curve in the two conditions. EPOC = excess postexercise oxygen consumption.

Figure 4. Mean (+ or – SD) V_E and V_T , expressed as percentage of peak values (left panels), as well as V_A and T_I/T_{TOT} (right panels) during recovery with (filled circles) or without (open circles) inspiratory resistance. $P > 0.05$ for the mean area under the curve in the two conditions for V_E . $P < 0.05$ for the mean area under the curve in the two conditions for V_T , V_A and T_I/T_{TOT} .

Figure 5. Mean (+ or – SD) $V_E[VCO_2]^{-1}$, $V_E[VO_2]^{-1}$ and $PETCO_2$, during recovery with (filled circles) or without (open circles) inspiratory resistance. $P < 0.05$ for the mean area under the curve in the two conditions for $V_E.[VCO_2]^{-1}$ and $PETCO_2$.

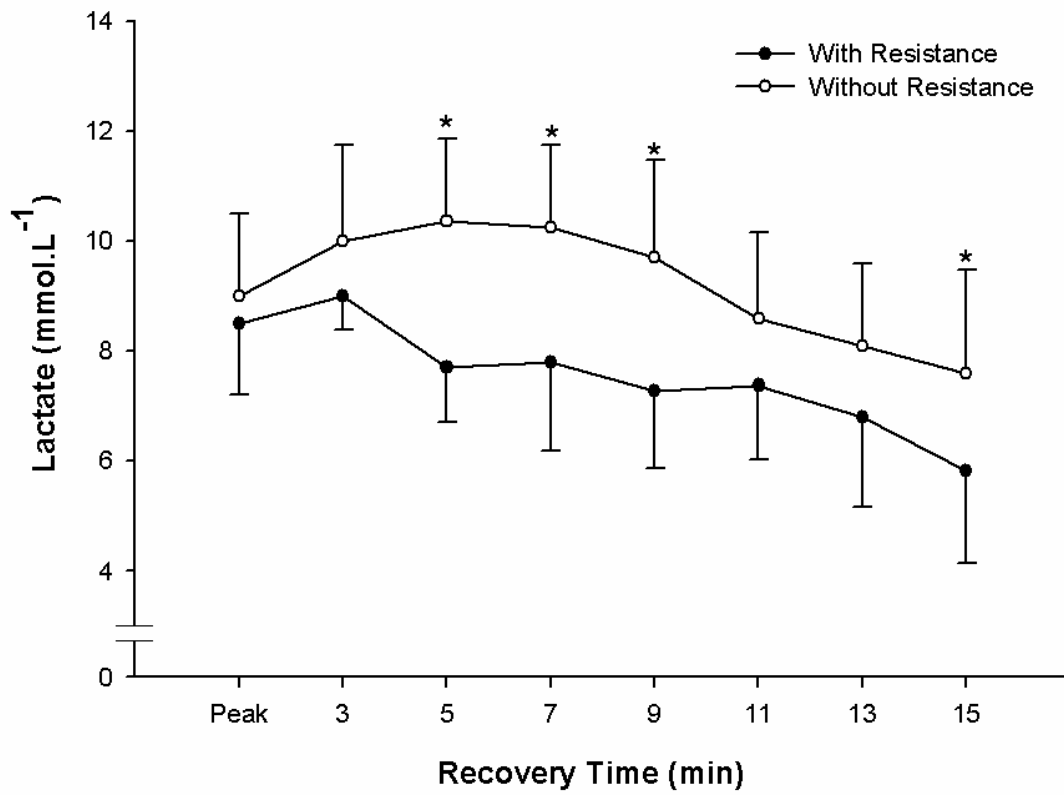


Figure 1

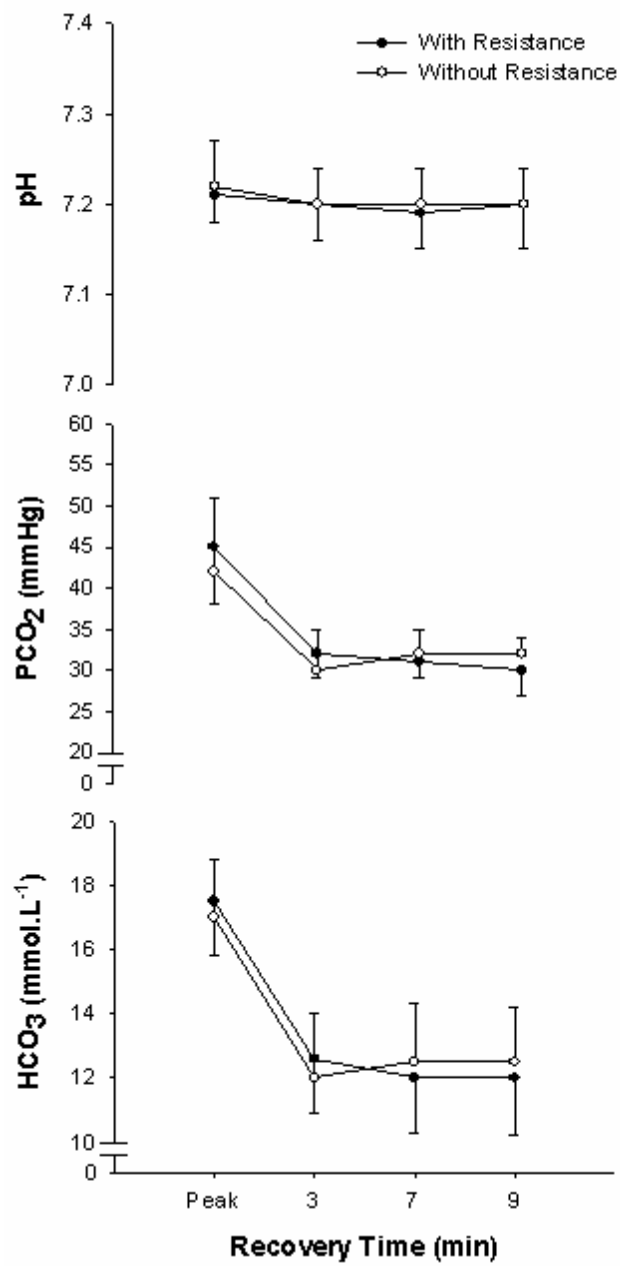


Figure 2

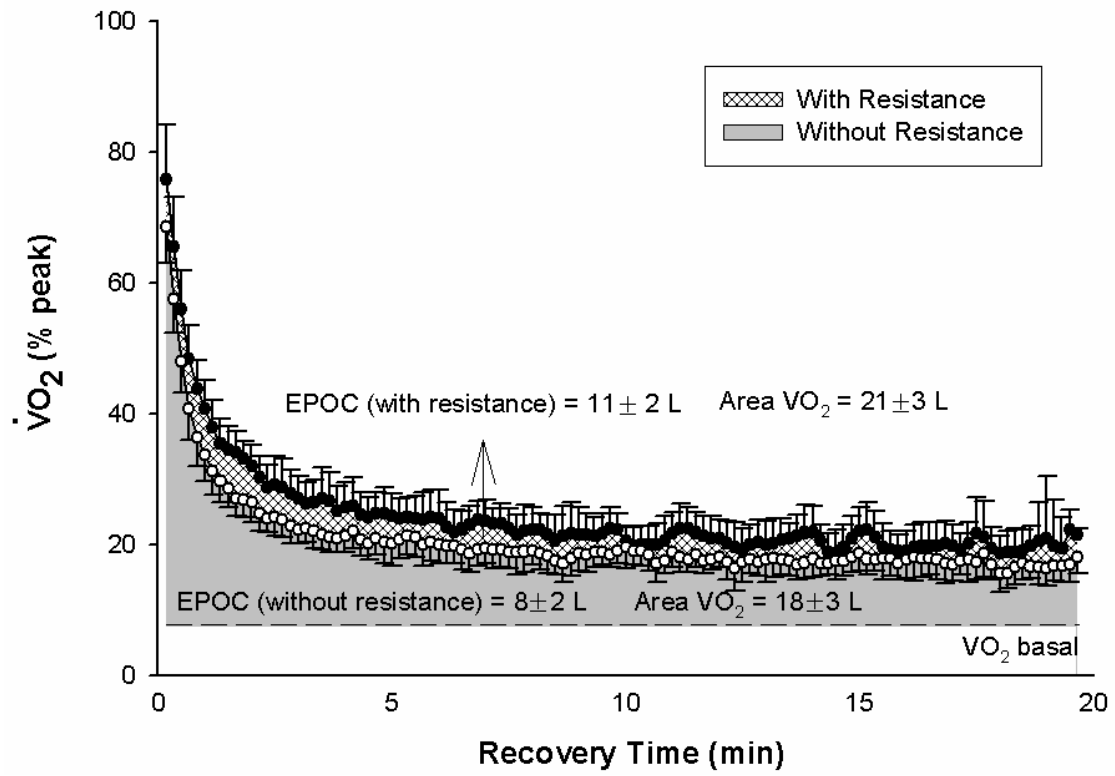


Figure 3

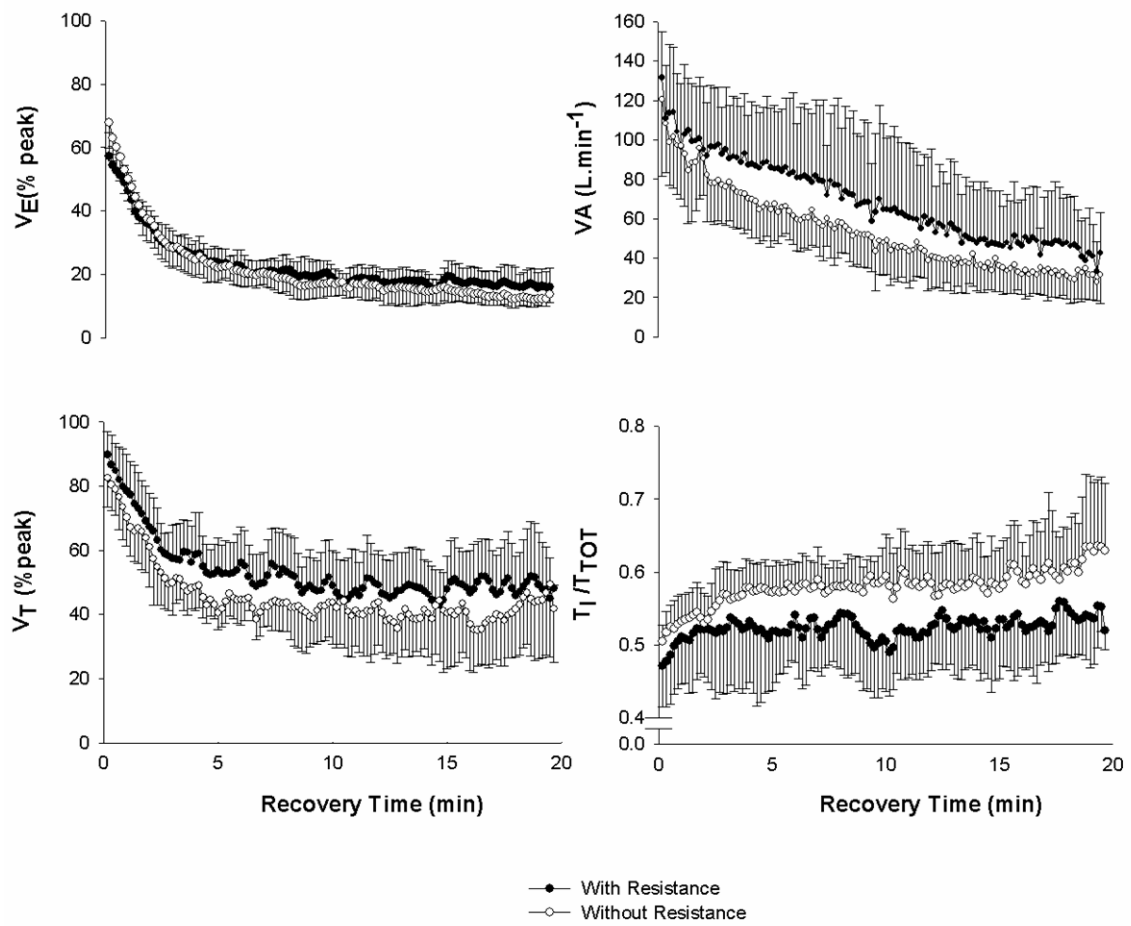


Figure 4

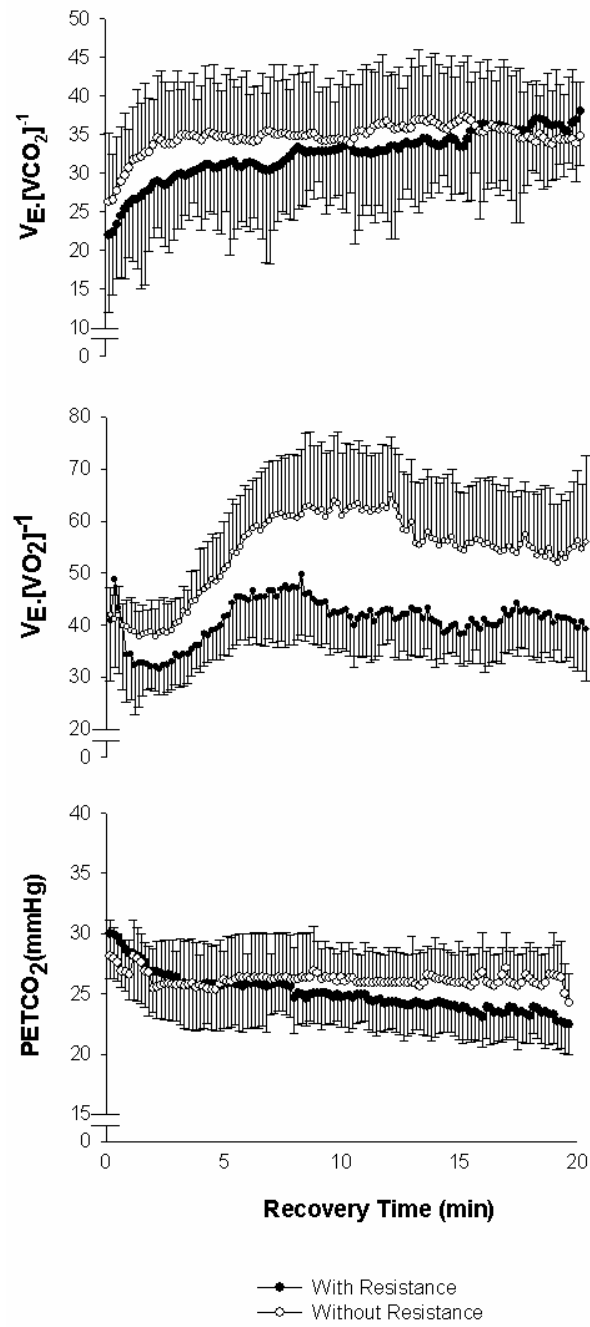


Figure 5

ANEXO II

Clinical Investigations and Reports

Inspiratory Muscle Training Improves Redistribution of Blood Flow to Resting and Exercising Limbs in Patients with Chronic Heart Failure³

Gaspar R. Chiappa, PT, MSc; Bruno T. Roseguini, PT, MSc;
Paulo J. C. Vieira, PT; Cristiano N. Alves, PT; Angela M. Tavares, MSc;
Eliane Winkelmann, PT, MSc; Elton L. Ferlin, BsEE;
Ricardo Stein, MD, ScD; Jorge P. Ribeiro, MD, ScD

From the Exercise Pathophysiology Research Laboratory (GRC, BTR, PJC, CNA, AMT, EW, RS, JPR), Biomedical Engineering (EFF), and Cardiology Division (RS, JPR), Hospital de Clínicas de Porto Alegre; and Department of Medicine (JPR), Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande Sul; 90035-007, Porto Alegre, Brazil

This work was supported by grants from Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasília, Brazil, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA), Porto Alegre, Brazil.

Running title: Inspiratory muscle training and blood flow

Address for correspondence:

Jorge P. Ribeiro, MD, ScD
Associate Professor and Chief on Non-invasive Cardiology,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Rua Ramiro Barcelos 2350,
90035-007, Porto Alegre, RS, Brazil
Phone: +55 51 9982 4984
Fax: +55 51 2101 6857
E-mail: jpribeiro@cpovo.net

³ Chiappa GR, Roseguini BT, Cardoso PJ, et al. Inspiratory Muscle Training Improves Redistribution of Blood Flow to Resting and Exercising Limbs in Patients with Chronic Heart Failure.

Abstract

Background - Previous clinical trials have shown that inspiratory muscle training results in improved functional capacity of patients with chronic heart failure (CHF) and inspiratory muscle weakness, but the mechanisms of these effects are not known.

Objective - We tested the hypothesis that inspiratory muscle fatigue could result in redistribution of resting and exercising blood flow to the limbs and that inspiratory muscle training could attenuate this effect in patients with CHF and inspiratory muscle weakness.

Methods and Results - Eighteen patients with CHF and weakness of inspiratory muscle (maximal inspiratory pressure < 70 % of predicted) and 10 healthy volunteers participated in the study. Inspiratory muscle fatigue was induced by the addition of inspiratory load of 60 % of maximal inspiratory pressure, while blood flow to the resting calf (CBF) and exercising forearm (FBF) were measured by venous occlusion plethysmography. For the patients with CHF, measurements were also made after a 4-week program of inspiratory muscle training. With inspiratory muscle fatigue, CHF patients presented a more marked reduction in resting CBF (mean \pm SD 55 ± 12 vs. 14 ± 5 %, $P < 0.01$) and showed an attenuated rise in FBF (6.9 ± 2.0 vs 11.2 ± 1.1 ml/min.100ml; $P = 0.01$) when compared to controls. After 4 weeks of inspiratory muscle training, CHF improved resting CBF (1.19 ± 0.3 vs 2.0 ± 1.0 ml/min.100ml; $P = 0.01$) and exercise FBF (6.9 ± 2.0 vs 9.8 ± 2.8 ml/min.100ml; $P = 0.01$) with inspiratory muscle fatigue.

Conclusion - In patients with CHF and inspiratory muscle weakness, the induction of inspiratory muscle fatigue results in marked reduction of blood flow to resting and exercising limbs. Inspiratory muscle training improves blood flow redistribution in these patients.

Key Words: ventilatory muscles ■cardiac rehabilitation ■exercise ■ventilation

Introduction

Patients with chronic heart failure (CHF) may present decreased strength and endurance of the inspiratory muscles, which are currently recognized as factors implicated in their limited exercise response and quality of life, as well as in their poor prognosis.¹ We and others have recently shown that inspiratory muscle training (IMT) results in improvement in inspiratory muscle strength, functional capacity, ventilatory response to exercise, recovery oxygen uptake kinetics and quality of life of patients with CHF and inspiratory muscle weakness.^{2,3} The mechanisms responsible for these effects, however, have not been elucidated.

Dempsey and co-workers⁴⁻⁶ conducted a series of experiments in healthy individuals, demonstrating that fatiguing contractions of the inspiratory muscles and the consequent accumulation of metabolic products activate type IV phrenic afferents, resulting in pronounced increase in sympathetic vasoconstrictor activity.⁷⁻¹¹ This mechanism, named inspiratory muscle metaboreflex, is thought to be particularly important during sustained heavy intensity exercise in healthy humans, where it modulates the competition for blood flow between the respiratory and working locomotor muscles.^{4,8-10} In accordance with this hypothesis, Miller et al¹² demonstrated, in a canine model of pacing-induced heart failure, that respiratory muscle metaboreflex is tonically active during submaximal exercise, persistently stealing blood from locomotor muscles.¹³ In humans, however, there is still no information concerning the activity of the inspiratory muscle metaboreflex in CHF.

One potential explanation for the observed benefits of IMT could be an attenuated activity of the inspiratory muscle metaboreflex in patients with CHF, which would improve blood flow distribution to peripheral muscles.^{4,14} Accordingly, the present study was conducted to evaluate the effects of inspiratory loading on blood flow of resting and exercising limbs in patients with

CHF and inspiratory muscle weakness. We also tested the hypothesis that selective IMT could attenuate peripheral vasoconstriction during inspiratory loading to resting and exercising limbs.

Methods

Patients and Controls

Eighteen patients with a previous history of stable symptomatic heart failure due to left ventricular systolic dysfunction (left ventricular ejection fraction < 40 %), with inspiratory muscle weakness (maximal inspiratory pressure [PI_{max}] < 70% of the predicted)² and without history of pulmonary disease were recruited for the study. A group of 10 individuals with normal medical history and physical examination, as well as with normal resting and exercise electrocardiogram served as the control group. The protocol was approved by Committee for Ethics in Research of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and all individuals signed an informed consent form.

Protocol

Patients and controls came to the laboratory on separate days for maximal inspiratory pressure assessment, performance of cardiopulmonary exercise testing, ultrasonographic determination of diaphragm thickness, and induction inspiratory muscle metaboreflex to resting calf and to exercising forearm. CHF patients also repeated maximal inspiratory pressure assessment, determination of diaphragm thickness, and induction inspiratory muscle metaboreflex to resting calf and to exercising forearm after 4 weeks of IMT. After training, all testing was performed using the same absolute inspiratory pressure utilized in the pre-training protocols.

Maximal Inspiratory Pressure

Maximal inspiratory pressure (PI_{\max}) was obtained using a pressure transducer (MVD-500 V.1.1 Microhard System, Globalmed, Porto Alegre, Brazil), connected to a system with two unidirectional valves (DHD Inspiratory Muscle Trainer, Chicago, IL, USA). Maximal static inspiratory pressure was determined in deep inspiration from residual volume against an occluded airway with a minor air leak (2 mm). The highest pressure of six measurements was used for analysis.²

Cardiopulmonary Exercise Testing

Maximal incremental exercise test was performed on an electrically braked cycle ergometer (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Germany) with minute increments of 10 watts for CHF patients and 15 watts for healthy individuals. Subjects were instructed to maintain a pedaling frequency of 60 rpm. During the test oxygen gas exchange variables were measured breath-by-breath by a previously validated system (Metalyzer 3B, CPX System, Cortex, Leipzig, Germany).¹⁵ Heart rate (HR) was determined from a 12 lead electrocardiogram.

Diaphragm Thickness

In patients and controls, B-mode ultrasonography (EnVisor C, Philips, Bothell, WA, USA) with a 12.0 MHz ultrasound probe (L12-3, Philips, Bothell, WA, USA) and at 4.0 depth was used to image the diaphragm in the zone of apposition, the vertical section that lies against the lateral portion of the right ribcage, with the method described by Wait et al.¹⁶ Measurements were obtained at end-inspiration (T_{di}), end-expiration (T_{de}) to calculate relative fractional thickness ($TF_{rel} = T_{di} - T_{de}/T_{di}$) at functional residual capacity maneuver.

Induction Inspiratory Muscle Metaboreflex

To induce inspiratory muscle metaboreflex, patients had a nose clip in place (PK Morgan, Ltda, Gillingham, UK) and breathed continuously into a two-way Lloyd valve (Warren E. Collins, Inc., Braintree, MA, USA) with low resistance ($<1.5 \text{ cmH}_2\text{O}$ at 3 l.s^{-1}) connected to an inspiratory resistance obtained by a Threshold Inspiratory Muscle Trainer (Healthscan Products Inc., Cedar Grove, New Jersey) for loads of 7 - 41 cmH_2O or to a POWERbreathe Inspiratory Muscle Trainer (Northfield Road, Southam, Warwickshire, UK) for higher inspiratory pressures. Throughout each protocol inspiratory pressure was continuously measured by a temperature-compensated and calibrated electronic pressure transducer (Silicon Pressor Sensor, MPX5050, Motorola, Denver, CO, USA) and displayed on a computer monitor to the patient and investigator. The 10-point Borg scale¹⁷ was used to assess inspiratory effort at task failure.

Each patient and control subject participated in two experiments separated by a 30 min interval. Initially, inspiratory muscle metaboreflex was induced to evaluate blood flow responses to the resting calf and, subsequently, to the exercising forearm. For each of these experiments, individuals were assigned to 60 % or 2 % of P_{Imax} in random order. Throughout protocols, all patients maintained a breathing frequency (f_b) of $15 \text{ breaths.min}^{-1}$ and duty cycle (T_I/T_{TOT}) of 0.7, by listening to a computer-generated audio signal with distinct inspiratory and expiratory tones. After baseline measures, individuals started breathing against the pre-defined inspiratory resistance (60 or 2 % of P_{Imax}) and continued until task failure. Inspiratory muscle task failure was defined as a reduction of P_{Imax} to less than 80% of the prescribed during 3 consecutive breaths.^{18,19}

For the experiments on resting calf blood flow (CBF), hemodynamic measures were performed while the individuals were breathing against the inspiratory resistances. For the experiments on exercising forearm blood flow (FBF), hemodynamic measures were obtained after task failure, while individuals were performing the handgrip exercise protocol. Maximum voluntary contraction of the dominant forearm was initially measured with a hand dynamometer (Kratos, DLC, Cotia, Brazil). Forearm exercise consisted of repetitive maximal voluntary contractions on the hand dynamometer maintained for 10 seconds and released for 30 seconds until task failure or for 12 repetitions. Task failure was defined as the time at which the subject could no longer sustain the target force within 5% of the target level for more than two seconds. During the relaxation phase, FBF was measured and all patients were provided verbal encouragement throughout the isometric contraction in order to maintain handgrip force at target.

Ventilatory and Hemodynamic Measures

During each of the protocols, f_b , arterial oxygen saturation via finger oximetry (SpO_2), and end-tidal partial pressure of carbon dioxide ($P_{ET}CO_2$) were measured with oxycapnography (Takaoka Oxicap, São Paulo, Brazil). HR was monitored by lead II of the electrocardiogram. Mean arterial blood pressure (MAP) was measured on the non-dominant arm with an automated sphygmomanometer (Dinamap 1846 SX/P, Critikon, Tampa, FL, USA), at 1 min intervals. CBF and FBF were measured by venous occlusion plethysmography (Hokanson, TL-400, Bellevue, WA, USA). For CBF, the right limb was positioned above heart level and supported in the thigh and ankle to ensure proper venous drainage. A strain gauge was positioned on the right calf at the point of maximum circumference. During the entire protocol a blood pressure cuff on the thigh was alternately inflated to 60 mmHg and deflated in 7.5 s cycles. Additionally, another cuff was

placed on the ankle and inflated to supra-systolic levels (240 mmHg) to exclude foot circulation. CBF ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{ml}^{-1}$) was determined manually on the basis of a minimum of four separate readings. For FBF, the arm was positioned comfortably supported above the level of the heart. A venous occlusion pressure of 60 mmHg was used in the upper arm cuff and another cuff was placed in the wrist and inflated to supra-systolic levels (240 mmHg) to exclude hand circulation. The venous cuff was inflated for 25-30 seconds for each flow measurement, and then released during handgrip contraction. Calf vascular resistance (CVR) and forearm vascular resistance (FVR) were calculated as MAP/CBF and MAP/FVR . Calf conductance and forearm conductance were calculated as CBF/MAP and FBF/MAP , respectively.

Inspiratory Muscle Training

CHF patients received IMT for 30 min, 7 times per week, for 4 weeks using the Threshold Inspiratory Muscle Trainer (Healthscan Products Inc., Cedar Grove, NJ, USA). During training, patients were instructed to maintain diaphragmatic breathing, with frequency breathing at 15 to 20 breaths. min^{-1} . Each week, six training sessions were performed at home and one training session was supervised at the laboratory. Inspiratory load was set at 30% of P_{Imax} , and weekly training loads were adjusted to maintain 30% of the P_{Imax} . We have previously shown that this protocol induces marked improvement in inspiratory muscle strength in 4 weeks.²

Statistical Analysis

Values are reported as mean \pm SD. A two-tailed *t* test was used to compare differences in patient characteristics and baseline values between the groups. CHF patients and controls had their mean values for respiratory variables, HR, and hemodynamic measures during each of the protocols

compared across time using two-way repeated-measures ANOVA. For CHF patients, the effect of IMT was tested with repeated-measures ANOVA (SigmaStat 3.1, Richmond, CA, USA). A step-down Bonferroni adjustment was made to the probability value for the contrast of interest to adjust for multiple comparisons, so that the overall probability of a type I error was 0.05. Pearson correlation coefficient was used to evaluate associations between changes in variables.

Results

Patients

Characteristics and baseline values for controls as well as characteristics and baseline values for CHF patients before and after IMT are shown in Table 1. Etiology of CHF was predominantly non-ischemic, and patients had severe left ventricular systolic dysfunction as well as mild to moderate impairment in functional capacity. There were no changes in medications throughout the experiments. CHF patients were older, had lower peak HR, peak oxygen uptake (VO_{2peak}), and ventilation-carbon dioxide output (V_E/VCO_2) slope higher than healthy subjects. As by protocol, $P_{I_{max}}$ was significantly lower in CHF patients, and they had significantly smaller diaphragm thickness. There were no differences between the groups for baseline MAP, HR, SpO_2 and $PETCO_2$. CHF patients had lower baseline CBF and increased CVR. For CHF patients, the 4-week program of IMT resulted in significant increments in $P_{I_{max}}$ as well as in diaphragm thickness, with no changes in resting CBF. Figure 1 shows ultrasonographic measures of diaphragm thickness before and after IMT for one representative CHF patient. There was a significant correlation between the change in $P_{I_{max}}$ and the change in diaphragm thickness (T_{di}) after IMT ($r = 0.88$; $P < 0.001$).

Induction Inspiratory Muscle Metaboreflex

For CHF patients and controls, Borg scale ratings for inspiratory effort at task failure during induction inspiratory muscle metaboreflex protocol was of 8.5 ± 0.5 for the inspiratory load at 60 % of $P_{I_{max}}$ compared with 2.5 ± 0.6 ($P < 0.05$) for the inspiratory load at 2 % of $P_{I_{max}}$. CHF patients reached task failure of inspiratory effort earlier for the 60 % of $P_{I_{max}}$ inspiratory load (333 ± 117 seconds) than controls (410 ± 125 seconds, $P < 0.05$). After IMT, CHF patients increased time to task failure at 60 % of $P_{I_{max}}$ by 30 %.

Induction Inspiratory Muscle Metaboreflex to the Resting Calf

Table 2 and Figure 2 present ventilatory and hemodynamic responses for CHF patients and controls as well as adaptations to IMT for CHF patients in the experiments on the induction of inspiratory muscle metaboreflex to the resting calf. Inspiratory loading at 60% of $P_{I_{max}}$ resulted in similar increments of HR, f_b , and MAP, with reduction in SpO_2 and maintenance of constant $P_{ET}CO_2$ in both groups. IMT had no significant effects on these variables. CBF and CVC decreased significantly more in CHF patients and this effect was attenuated after IMT (Figure 2). This was due to larger increment in CVR in CHF patients, which was also attenuated after IMT.

Induction Inspiratory Muscle Metaboreflex to the Exercising Forearm

Time to fatigue during forearm exercise was reduced with inspiratory loading in controls (from 304 ± 132 s to 180 ± 60 s, $P = 0.02$) as well as in CHF patients (from 402 ± 112 s to 280 ± 151 s, $P = 0.01$). IMT improved time to fatigue during forearm exercise with inspiratory loading (from 280 ± 151 s to 437 ± 77 s, $P = 0.01$). Table 3 and Figure 3 present ventilatory and hemodynamic responses for CHF patients and controls as well as adaptations to IMT for CHF

patients in the experiments on the induction of inspiratory muscle metaboreflex to the exercising forearm. Intermittent static handgrip exercise with inspiratory loading at 60% of $P_{I_{max}}$ resulted in similar reduction of HR, while P_{ETCO_2} was stable (Table 3). FBF and FVC increased during exercise, but CHF patients showed an attenuated rise, which was partially corrected with after IMT (Figure 3). On the other hand, FVR response to exercise was increased in CHF patients, but also improved after IMT (Figure 3).

Discussion

The primary findings of the present study were as follows: 1) repeated voluntary efforts against a resistive inspiratory load to the point of task failure caused an exaggerated vasoconstriction of the resting calf in patients with CHF and inspiratory muscle weakness when compared with healthy controls; 2) prior fatigue of the inspiratory muscles reduces forearm hyperemic responses to handgrip exercise in patients with CHF and inspiratory muscle weakness; 3) four weeks of IMT attenuates calf vasoconstriction response to inspiratory loading and improves forearm hemodynamic responses to handgrip exercise following inspiratory muscle fatigue in patients with CHF and inspiratory muscle weakness. Overall, this study provides the first evidence of an abnormal activity of the inspiratory muscle metaboreflex in patients with CHF and inspiratory muscle weakness. Moreover, our data demonstrate that IMT attenuates inspiratory muscle metaboreflex induced peripheral vasoconstriction in these patients both to resting as well as to exercising limbs.

Inspiratory Muscle Loading and Peripheral Vasoconstriction in CHF

To evaluate the effects of inspiratory loading to the point of task failure on calf hemodynamic responses, we employed a protocol similar to that described by Sheel et al.⁵ According to these authors, the prolonged duty cycle ($T_i/T_{TOT} = 0.7$) coupled with high force output (60% $P_{I_{max}}$) during the fatigue trial would cause prolonged ischemia of the diaphragm, thus evoking the respiratory muscle metaboreflex and a consequent sympathetic mediated vasoconstriction in the resting limbs.^{5,6} In agreement with this concept, healthy subjects demonstrated a small reduction in calf vascular conductance during loading condition. These data are consistent with the results reported in previous studies^{5,14,20} and underscore the notion that there is a threshold for activation of inspiratory muscle metaboreflex in healthy individuals.⁶ In contrast, CHF patients exhibited a distinct response, characterized by a premature and greater calf conductance reduction during the fatiguing trial, compatible with an abnormal activity of the inspiratory muscle metaboreflex in these patients.

The present data extend prior observations of Miller et al¹³ in a canine model of CHF, by showing that the ability of inspiratory muscles of “stealing” blood flow from locomotor muscles is overactive in animals with CHF. Our results are in agreement with the concept that impaired oxygen delivery to the diaphragm, along with augmented inspiratory muscle work in CHF would favor the accumulation of local muscle metabolites, such as lactic acid, which activates type IV nerve endings,¹¹ leading to an exaggerated sympathetic mediated vasoconstriction.^{4,5,11} This combination of respiratory muscle abnormalities with excessive inspiratory muscle work, associated with limited oxygen delivery, is probably likely to contribute to the exaggerated respiratory muscle metaboreflex activation in our patients.

Effect of Inspiratory Muscle Loading on Limb Hemodynamic Response to Exercise

Previous work has shown that prior fatigue of the inspiratory muscles influences limb performance during subsequent exercise in healthy individuals.^{14,21} In agreement with these findings, time to fatigue during handgrip exercise was significantly reduced in healthy individuals and CHF patients after inspiratory loading when compared with the control task. Of note, however, forearm hemodynamic responses were similar after loaded and control conditions (Figure 3), in controls but not in CHF patients. Thus, it seems reasonable to speculate that a sustained inspiratory muscle metaboreflex mediated peripheral vasoconstriction has a larger impact in limb performance in CHF patients than in healthy controls.

In patients with CHF, prior fatigue of the inspiratory muscles importantly modified forearm hyperemic response to handgrip exercise (Figure 3). Specifically, forearm blood flow remained unchanged during the first minutes of handgrip exercise after inspiratory fatigue, while after the control task, FBF increased immediately at the beginning of exercise. Thus, possibly, inspiratory muscle metaboreflex activation following fatiguing trial and the consequent elevated sympathetic vasoconstrictor activity restricted forearm hyperemic responses to handgrip exercise in these patients.¹⁴

Effects of Inspiratory Muscle Training

In a prior report from our group, we demonstrated that CHF patients with inspiratory muscle weakness presented major improvements in inspiratory muscle strength after the first four weeks of IMT. As expected, our results confirmed that this short training protocol was effective, as evidenced by the increment of 72% in the inspiratory muscles strength along with the marked diaphragmatic hypertrophy. In agreement with previous studies in healthy subjects,²²⁻²⁴

diaphragm thickness increased by ~35% in our patients after IMT. Moreover, there was as strong correlation between the change in inspiratory muscle strength and the change in diaphragmatic thickness after IMT.

Confirming our original hypothesis, IMT importantly increased the threshold required to elicit the inspiratory muscle metaboreflex mediated peripheral vasoconstriction in CHF patients. Specifically, after the IMT program the pressor response and the change in the calf vascular conductance at the point of task failure were reduced by $\sim 63 \pm 11\%$ and $\sim 41 \pm 23\%$, respectively. These findings are quite similar of those reported by McConnell et al¹⁴ in healthy subjects and underscore the notion that IMT may be associated with reduced accumulation of muscle metabolites during the fatiguing trial, which would explain the attenuated vasoconstriction observed.¹⁴ Moreover, IMT also improved FBF response to intermittent handgrip exercise, with improvement in limb performance in CHF patients, suggesting that inspiratory muscle fatigue is also important for redistribution of blood flow during exercise, which may be a determinant in exercise performance.

Study limitations

In this study, we showed that IMT may attenuate inspiratory muscle metaboreflex and reduced the influence diaphragmatic fatigue on peripheral blood flow of resting and exercising limbs in patients with CHF and inspiratory muscle weakness. Therefore, these findings cannot be generalized to patients who do not have inspiratory muscle weakness, and future studies are needed to evaluate other patient populations. Since we studied the hemodynamic responses to forearm exercise, our findings may not necessarily explain the mechanisms responsible for the improvement in functional capacity that is dependent on large locomotor muscles. However,

based on experiments in healthy individuals,²⁵ it is likely that the effects may be even more marked when maximal exercise is performed using large muscle groups. We did not evaluate muscle sympathetic nerve activity in our patients, but other investigators^{5,7} have demonstrated that exercise-induced diaphragmatic fatigue caused important peripheral vasoconstriction secondary to sympathetic activation. Finally, in the present study we did not add CO₂ to inspiration, as has been done by others,¹⁴ but we found no significant reduction P_{ET}CO₂. Acute severe hyperventilation elicits a decrease in calf vascular resistance and an increase in blood flow.^{26,27} However, McConnell and Lomax¹⁴ suggested that mild hypocapnia (~30 mmHg) of the magnitude observed following our inspiratory loading task, fails to elicit changes in either forearm vascular resistance or blood pressure.

Conclusions

In patients with CHF and inspiratory muscle weakness, the induction of inspiratory muscle fatigue results in marked reduction of blood flow to resting and exercising limbs. IMT improves blood flow redistribution in these patients with possible consequences to exercise performance.

References

1. Meyer FJ, Mathias M, Zugck C, Kirschke A, Schellberg D, Küber W, Haass M. Respiratory muscle dysfunction in congestive heart failure: clinical correlation and prognostic significance. *Circulation*. 2001;103:2153-2154.
2. Dall'Ago P, Chiappa GR, Guths H, Stein R, Ribeiro JP. Inspiratory muscle training in patients with heart failure and inspiratory muscle weakness: A randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 47: 757-63.

3. Laoutaris I, Dritsas A, Brown MD, Manguinas A, Alivizatos PA, Cokkinos DV. Inspiratory muscle training using an incremental endurance test alleviates dyspnea and improves functional status in patients with chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2004;11:489–96.
4. Dempsey JA, Romer L, Rodman J, Miller J, Smith C. Consequences of exercise-induced respiratory muscle work. *Respir Physiol Neurobiol.* 2006;151; 242–250.
5. Sheel AW, Derchak PA, Morgan BJ, Pegelow DF, Jacques AJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex reduction in resting leg blood flow in humans. *J Physiol.* 2001; 537, 277–289.
6. Sheel AW, Derchak PA, Pegelow DF, Dempsey JA. Threshold effects of respiratory muscle work on limb vascular resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002; 282; H1732–H1738.
7. St Croix CM, Morgan BJ, Wetter TJ, Dempsey JA. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex sympathetic activation in humans. *J Physiol.* 2000; 529: 493–504.
8. Harms CA, Babcock MA, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Dempsey JA. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. *J Appl Physiol.* 1997; 82: 1573–1583.
9. Harms CA, Wetter TJ, McClaran SR, Pegelow DF, Nickele GA, Nelson WB, Hanson P, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on cardiac output and its distribution during maximal exercise. *J Appl Physiol.* 1998; 85: 609–618.
10. Harms CA, Wetter TJ, St Croix CM, Pegelow DF, Dempsey JA. Effects of respiratory muscle work on exercise performance. *J Appl Physiol.* 2000; 89:131–138.

11. Rodman JR, Henderson KS, Smith CA, Dempsey JA. Cardiovascular effects of the respiratory muscle metaboreflexes in dogs: rest and exercise. *J Appl Physiol.* 2003;95: 1159-1169.
12. Miller JD, Pegelow DF, Jacques AJ, Dempsey JA. Effects of augmented respiratory muscle pressure production on locomotor limb venous return during calf contraction exercise. *J Appl Physiol.* 2005;99:1802-1815.
13. Miller JD, Smith C, Hemauer S, Dempsey JA. The effects of inspiratory intrathoracic pressure production on the cardiovascular response to submaximal exercise in health and chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 292: H580-592.
14. McConnell AK, Lomax M. The influence of inspiratory muscle work history and specific inspiratory muscle training upon human limb muscle fatigue. *J Physiol.* 2006; 577:445-457.
15. Meyer T, Georg T, Becker C, Kindermann W. Reliability of gas exchange measurement from two different spiroergometry systems. *Int J Sports Med.* 2001; 22:593-597.
16. Wait JL, Nahormek PA, Yost WT, Rochester DP. Diaphragmatic thickness-lung volume relationship in vivo. *J Appl Physiol.* 1989; 67: 1560–1568.
17. Borg G. Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Human Kinetics, Champaign, IL, USA, 1998.
18. Bellemare F, Grassino A. Effect of pressure and timing of contraction on human diaphragm fatigue. *J Appl Physiol.* 1982;53:1190–1195.
19. American Thoracic Society/European Respiratory Society. Statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166: 518-624.
20. Dempsey JA. Challenges for future research in exercise physiology as applied to the respiratory system. *Exerc Sport Sci Rev.* 2006; 34: 92-98.

21. Romer LM, Haverkamp HC, Lovering AT, Pegelow DF, Dempsey JA. Effect of exercise-induced arterial hypoxemia on quadriceps muscle fatigue in healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006; 290: R365–R375.
22. Enright SJ, Unnithan VB, Heward C, Withnall L, Davies DH. Effect of high-intensity inspiratory muscle training on lung volumes, diaphragm thickness, and exercise capacity in subjects who are healthy. *Phys Ther.* 2006; 86: 345–354.
23. DePalo VA, Parker AL, Al-Bilbeisi F, McCool FD. Respiratory muscle strength training with nonrespiratory maneuvers. *J Appl Physiol.* 2004; 96: 731–734.
24. Downey AE, Chenoweth LM, Townsend DK, Ranum JD, Ferguson CS, Harms CA. Effects of inspiratory muscle training on exercise responses in normoxia and hypoxia. *Respir Physiol & Neurobiology.* 2007;156:137-146.
25. Wetter TJ, Harms CA, Nelson WB, Pegelow DF, Dempsey JA. Influence of respiratory muscle work on VO_2 and leg blood flow during submaximal exercise. *J Appl Physiol.* 1999; 87: 643-651.
26. Steurer J, Kaplan V, Vetter W, Bollinger A, Hoffmann U. Local blood flux in skin and muscle during voluntary hyperventilation in healthy controls and patients with hyperventilation syndrome. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1995; 15: 277–282.
27. Coffman JD, Kelly P. Hyperventilation and human calf blood flow. *Am J Physiol.* 1966; 211:1255–1260.

Table 1. Clinical characteristics and results for patients with chronic heart failure pre- and post-inspiratory muscle training and baseline values for normal controls

	CHF _{pre} (n=18)	CHF _{post} (n=18)	Normal controls (n=10)
General			
Male/Female	12/6	-	8/4
Age, yr	57 ± 11	-	38 ± 12†
Body mass index, kg.m ⁻²	25 ± 1.5	-	22 ± 1
LVEF, %	24 ± 3	-	-
Ischemic/non-ischemic	7/11	-	-
Peak exercise			
Heart rate, beats.min ⁻¹	127 ± 8	-	188 ± 12†
VO ₂ peak, ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹	15 ± 2	-	38 ± 10†
V _E /VCO ₂ slope	39 ± 2	-	30 ± 3
NYHA functional class	I-II (10) III-IV (8)	-	
Pulmonary function			
PI _{max} , cmH ₂ O	60 ± 8	103 ± 16*	153 ± 26†
PI _{max} , % predicted	60 ± 3	82 ± 8*	95 ± 12†
Diaphragm thickness			
Tdi, cm	0.42 ± 0.02	0.65 ± 0.14*	0.85 ± 0.1†
Tde, cm	0.25 ± 0.05	0.26 ± 0.06	0.26 ± 0.02
TFdi.rel, cm	0.73 ± 0.55	1.68 ± 0.7*	2.1 ± 0.3†
Dif, cm	0.17 ± 0.12	0.38 ± 0.12*	0.54 ± 0.08†
Resting Hemodynamics			
MAP, mmHg	93.6 ± 19	91.6 ± 17	86 ± 11
CBF, ml.min ⁻¹ .100ml ⁻¹	2.84 ± 1.6	2.95 ± 1	4.00 ± 2†
CVR, units	40 ± 17	34 ± 11	26 ± 10†
HR, beats.min ⁻¹	66 ± 11	68 ± 9	76 ± 12
SpO ₂ , %	97.4 ± 1.5	97.3 ± 1.4	98 ± 0.5
P _{ET} CO ₂ , mmHg	33 ± 5	33 ± 4	32 ± 6
f _b , resp.min ⁻¹	15.3 ± 1.5	14.6 ± 1.3	15 ± 2

Values presented are mean ± S.D. CHF_{pre}, chronic heart failure pre-inspiratory muscle training; CHF_{post}, chronic heart failure post-inspiratory muscle training; LVEF, echocardiographically-determined left ventricular ejection fraction; VO₂peak, peak oxygen uptake; V_E/VCO₂ slope, relationship between change in V_E and change in VCO₂ during incremental testing; PI_{max}, maximal inspiratory pressure. Diaphragm thickness measurements were taken under two conditions: end-inspiration (Tdi) and end-expiratory (Tde). TFdi.rel, diaphragm thickness fractional at functional residual capacity, and Dif, difference between end-inspiration and end-expiration. MAP, mean arterial pressure; CBF, calf blood flow; CVR, calf vascular resistance. HR, heart rate. SpO₂, pulse % oxygen saturation; P_{ET}CO₂, resting end-tidal partial pressure of carbon dioxide; f_b, breathing frequency. † *P* < 0.05 CHF_{pre} vs. Normal controls; * *P* < 0.05 between CHF_{pre} vs. CHF_{post}.

Table 2. Mean group data for the resting calf experiment during respiratory exercise at 2% of PI_{max} and 60% of PI_{max} in CHF patients pre- and post-inspiratory muscle training and normal controls

		Resting Calf			
		Baseline	1 min	2 min	End
2% PI_{max}; T_I/T_{TOT}, 0.7; f_b, 15					
CVC (units)	CHF _{pre}	0.033 ± 0.03	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.031 ± 0.02
	CHF _{post}	0.030 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.009
	Normal	0.057 ± 0.05	0.046 ± 0.03	0.045 ± 0.03	0.046 ± 0.03
HR (beats.min ⁻¹)	CHF _{pre}	64 ± 8	65 ± 8	65 ± 8	66 ± 10
	CHF _{post}	68 ± 9	68 ± 10	69 ± 9	69 ± 8
	Normal	72 ± 8	71 ± 8	73 ± 10	73 ± 9
f_b (resp.min ⁻¹)	CHF _{pre}	15 ± 0.9	15 ± 2.3	15.1 ± 1.5	15.2 ± 2
	CHF _{post}	15 ± 1.3	15 ± 2	14.6 ± 2	14.6 ± 1.8
	Normal	14.8 ± 2	13.3 ± 3	13.8 ± 2	14.7 ± 3
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	CHF _{pre}	33 ± 6	32 ± 5	32 ± 5	32 ± 6
	CHF _{post}	33 ± 5	33 ± 5	32 ± 5	32 ± 5
	Normal	33 ± 4	32 ± 6	31 ± 6	31 ± 6
SpO ₂ (%)	CHF _{pre}	98 ± 1.5	97 ± 1.6	97.8 ± 1	97.8 ± 1.3
	CHF _{post}	98 ± 1.5	97.4 ± 2	97.6 ± 1.6	97 ± 1.5
	Normal	98 ± 0.9	98 ± 0.9	97 ± 1	97 ± 2
60% PI_{max}; T_I/T_{TOT}, 0.7; f_b, 15					
CVC (units)	CHF _{pre}	0.031 ± 0.02	0.023 ± 0.01*	0.016 ± 0.006*†	0.01 ± 0.003*†
	CHF _{post}	0.032 ± 0.01	0.033 ± 0.01	0.029 ± 0.01	0.018 ± 0.009*€
	Normal	0.046 ± 0.02¥	0.05 ± 0.02¥	0.035 ± 0.02¥	0.035 ± 0.01¥
HR (beats.min ⁻¹)	CHF _{pre}	66 ± 11	70 ± 10¥	75 ± 12*†¥	89 ± 15*†
	CHF _{post}	68 ± 9	72 ± 8	73 ± 9*	82 ± 10*†€
	Normal	76 ± 12	82 ± 9†	88 ± 12*†	89 ± 13*†
f_b (resp.min ⁻¹)	CHF _{pre}	15 ± 1	14.8 ± 2.5	14.8 ± 1.6	15.5 ± 1.3
	CHF _{post}	14.6 ± 1.3	14.7 ± 1.7	14.5 ± 2.4	15 ± 1.8
	Normal	15 ± 2	14.6 ± 4	14.8 ± 2	15.2 ± 2
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	CHF _{pre}	33 ± 5	31 ± 5	31 ± 4.5	33 ± 5
	CHF _{post}	33.5 ± 4	32 ± 5	33 ± 6	33 ± 4
	Normal	32 ± 6	31 ± 6	32.2 ± 7	33 ± 7
SpO ₂ (%)	CHF _{pre}	98 ± 1.5	97 ± 1.5	98 ± 1	94 ± 3*†
	CHF _{post}	97.3 ± 1.4	97 ± 1.6	97 ± 2	95 ± 3€
	Normal	98 ± 0.9	98 ± 0.9	96 ± 3	93 ± 4*†

Values are means ± S.D. *Significantly different from baseline ($P < 0.05$). †Significantly different from Protocol 1 at 60% PI_{max} vs. 2% PI_{max} ($P < 0.05$). ¥ Significantly different CHF vs. controls ($P < 0.05$). €Significantly different CHF_{pre} vs. CHF_{post}. Definition of terms: CVC, calf vascular conductance; HR, heart rate; f_b , breathing frequency; P_{ET}CO₂, resting partial pressure end-tidal carbon dioxide; SpO₂, pulse % oxygen saturation.

Table 3. Mean group data for the forearm exercise experiment during respiratory exercise at 2% of PI_{max} and 60% of PI_{max} in CHF patients pre- and post-inspiratory muscle training and normal controls

		Forearm in exercise			
		End-inspiratory load	1 min	2 min	End
2% PI_{max}; T_I/T_{TOT}, 0.7; f_b, 15					
FVC (units)	CHF _{pre}	0.031 ± 0.02	0.04 ± 0.008¥	0.081 ± 0.02*¥	0.082 ± 0.02*¥
	CHF _{post}	0.028 ± 0.009¥	0.081 ± 0.02*	0.093 ± 0.03*	0.093 ± 0.03*€
	Normal	0.046 ± 0.02	0.1 ± 0.02*	0.11 ± 0.02*	0.11 ± 0.01*
HR (beats.min ⁻¹)	CHF _{pre}	66 ± 10	69 ± 14	68 ± 15	68 ± 15
	CHF _{post}	69 ± 8	69 ± 14	66 ± 12¥	69 ± 13
	Normal	73 ± 9	84 ± 9	84 ± 10	81 ± 12
f_b (resp.min ⁻¹)	CHF _{pre}	15 ± 1.6	16 ± 3	15 ± 2	17 ± 2
	CHF _{post}	15 ± 2	15 ± 2	15 ± 2	17 ± 2
	Normal	14 ± 3	20 ± 6	18 ± 5	19 ± 5
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	CHF _{pre}	32 ± 6	31 ± 2	32 ± 2	31 ± 3
	CHF _{post}	32 ± 5	30 ± 5	32 ± 5	34 ± 6
	Normal	30 ± 6	29 ± 6	31 ± 8	33 ± 5
SpO ₂ (%)	CHF _{pre}	98 ± 1.3	97 ± 2	96 ± 1.6	96 ± 1.5
	CHF _{post}	98 ± 2	98 ± 1.5	97.4 ± 2.6	97 ± 2
	Normal	97 ± 1	97 ± 2	97 ± 1.6	97 ± 1
60% PI_{max}; T_I/T_{TOT}, 0.7; f_b, 15					
FVC (units)	CHF _{pre}	0.01 ± 0.002†¥	0.017 ± 0.07*†¥	0.026 ± 0.01*†¥	0.067 ± 0.02*†¥
	CHF _{post}	0.018 ± 0.009†¥	0.071 ± 0.03*†¥	0.093 ± 0.04*	0.1 ± 0.04*€
	Normal	0.035 ± 0.01†	0.106 ± 0.01*	0.11 ± 0.01*	0.13 ± 0.01*
HR (beats.min ⁻¹)	CHF _{pre}	89 ± 15†	68 ± 10*	70 ± 7	75 ± 9†
	CHF _{post}	88 ± 14†	69 ± 9	72 ± 11	75 ± 16
	Normal	89 ± 11	77 ± 26	77 ± 25	84 ± 14
f_b (resp.min ⁻¹)	CHF _{pre}	15.5 ± 1.3	16 ± 3	16 ± 4	15 ± 2
	CHF _{post}	15 ± 1.8	16 ± 3	15 ± 1.5	16 ± 3
	Normal	15 ± 2	17 ± 4	19 ± 4	19 ± 6
P _{ET} CO ₂ (mmHg)	CHF _{pre}	32 ± 5	31 ± 2	33 ± 3	34 ± 3
	CHF _{post}	33 ± 4	30 ± 2	30 ± 7	31 ± 3
	Normal	32 ± 6	30 ± 6	30 ± 7	31 ± 9
SpO ₂ (%)	CHF _{pre}	94 ± 3†	97 ± 2*	96 ± 2	96 ± 3
	CHF _{post}	94 ± 3†	95 ± 3	97 ± 2*	96 ± 2
	Normal	93 ± 4†	97 ± 2	98 ± 1*	98 ± 1*

Values are means ± S.D. *Significantly different from baseline ($P < 0.05$). †Significantly different from Protocol 1 at 60% PI_{max} vs. 2% PI_{max} ($P < 0.05$). ¥ Significantly different CHF vs. controls ($P < 0.05$). €Significantly different CHF_{pre} vs. CHF_{post}. Definition of terms: CVC, calf vascular conductance; HR, heart rate; f_b , breathing frequency; P_{ET}CO₂, resting partial pressure end-tidal carbon dioxide; SpO₂, pulse % oxygen saturation.

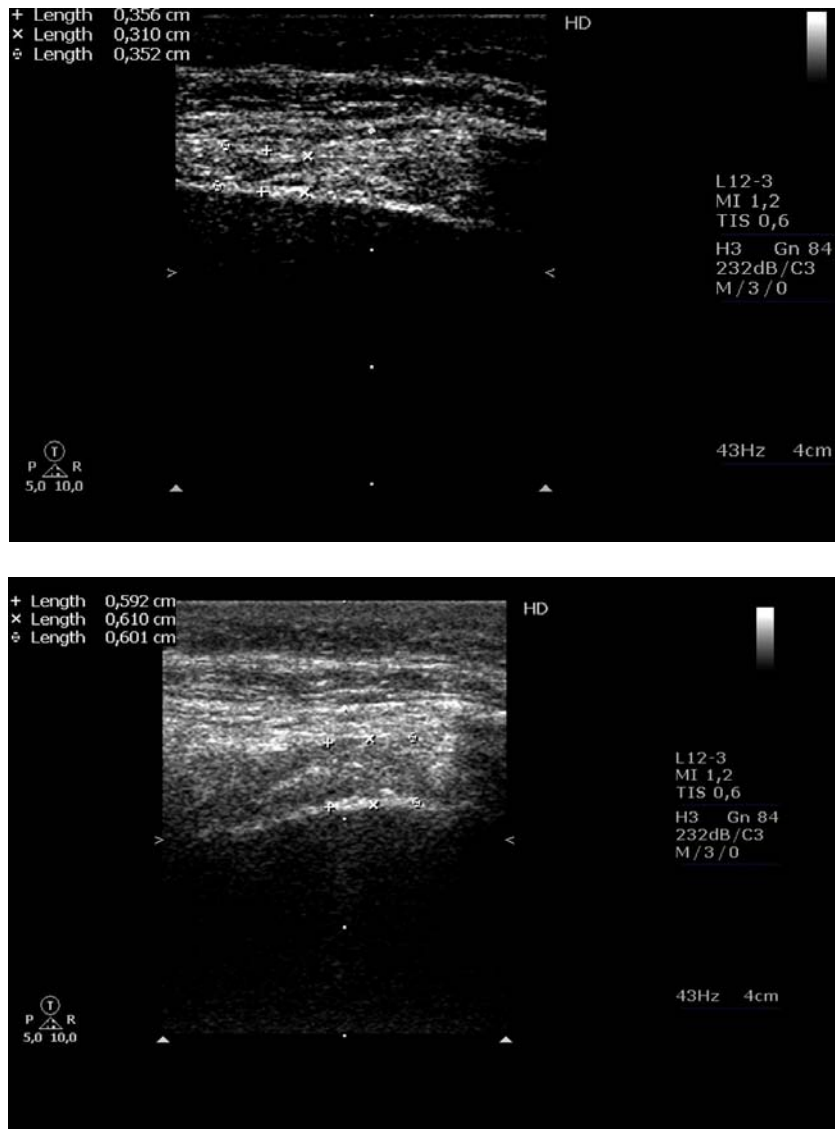


Figure 1. Representative example of the ultrasonographic measurement of diaphragm thickness, before (upper panel) and after (lower panel) inspiratory muscle training

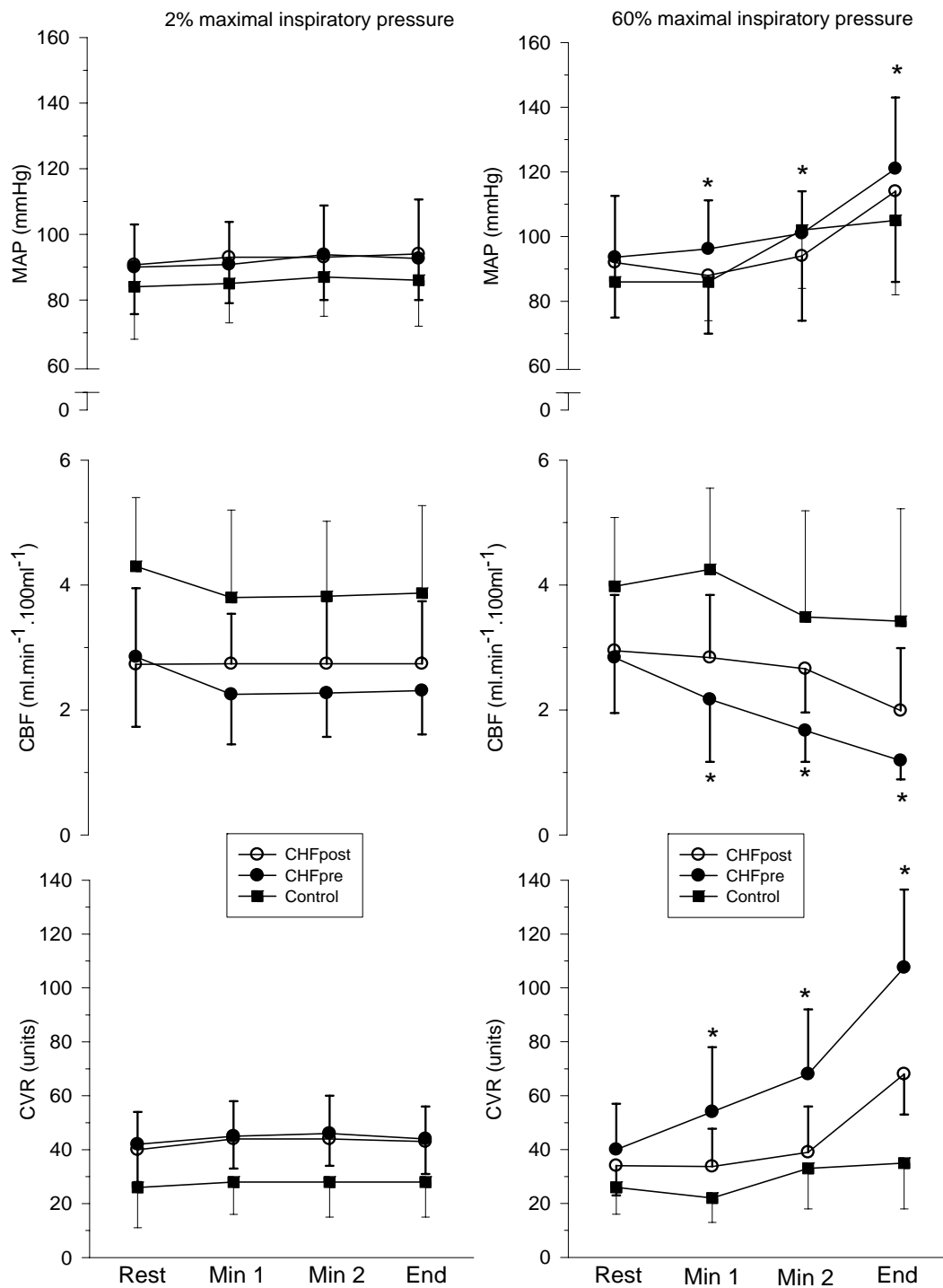


Figure 2. Average mean arterial pressure (MAP), calf blood flow (CBF) and calf vascular resistance (CVR) obtained from baseline, first, second and end minute the each protocol at 2% and 60% of PImax.

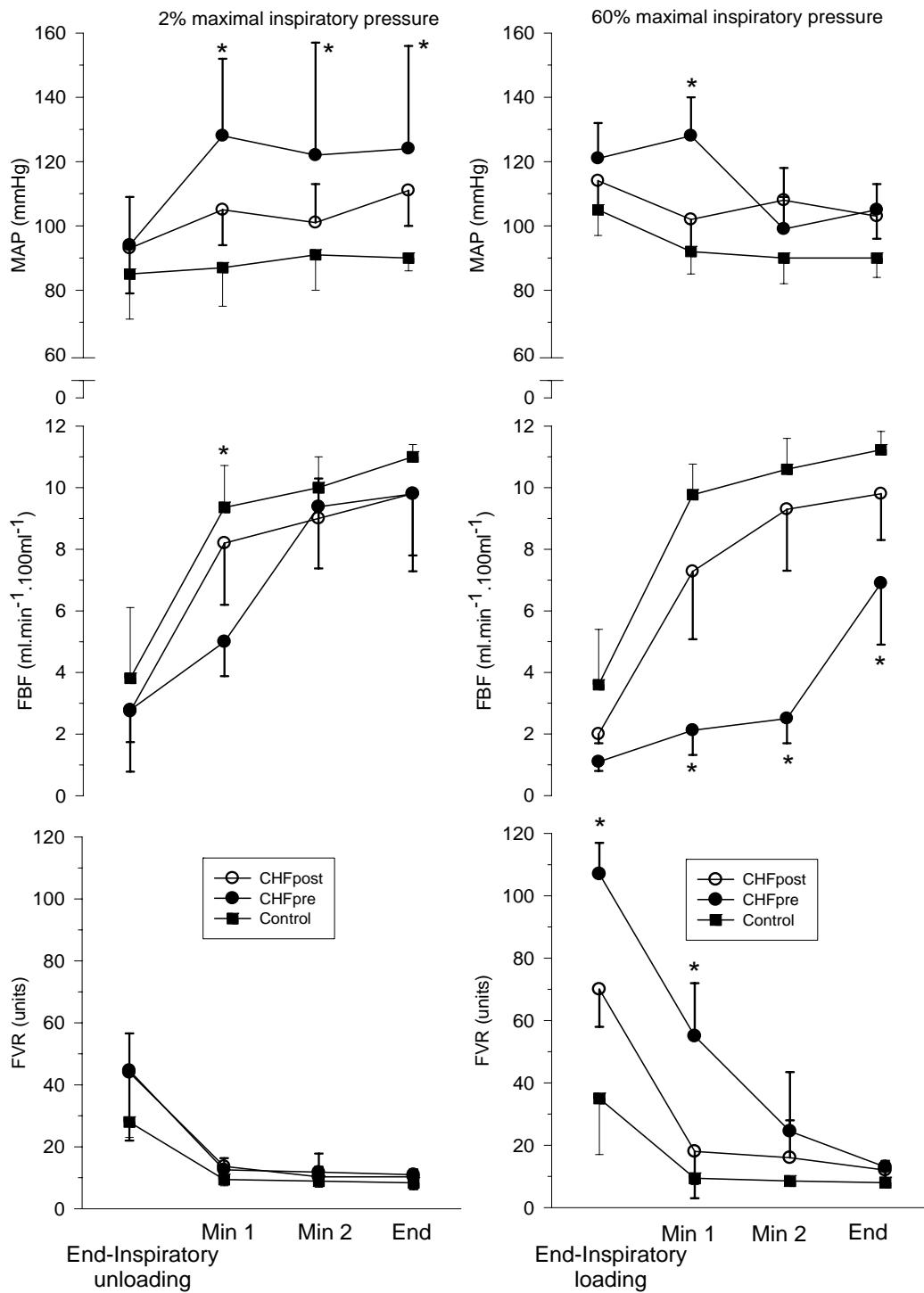


Figure 3. Average mean arterial pressure (MAP), forearm blood flow (FBF) and forearm vascular resistance (FVR) obtained after induction inspiratory muscle metaboreflex, first, second and end minute the each protocol.

