

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

Atenuação do metaboreflexo muscular em pacientes com
doença pulmonar obstrutiva crônica

Bruno Tesini Roseguini

Orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro

*Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde: Cardiologia e
Ciências Cardiovasculares para
obtenção do título de Mestre em
Ciências Cardiovasculares*

Porto Alegre, Dezembro 2006
Brasil – RS.

Para meus pais

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor **Jorge Pinto Ribeiro**, pelo privilégio de poder fazer parte de sua equipe e sobretudo, pela oportunidade de convivência dentro de um ambiente acadêmico enriquecedor.

Aos co-autores e grandes amigos, **Cristiano Nardin Alves** e **Gaspar Rogério Chiappa**, pelo companheirismo e pela dedicação plena para a construção de um grupo de pesquisa de alto nível. Foi um privilégio conviver com vocês.

À Professora Doutora **Marli Knorst**, pela seleção cuidadosa e criteriosa dos pacientes que participaram deste estudo.

Ao Doutor **Ricardo Stein**, pelo valioso auxílio na realização dos exames de ergoespirometria.

À Professora Doutora **Eneida Rabelo** e à **Graziella Aliti**, pela fundamental ajuda na realização dos procedimentos de coleta de sangue.

As funcionárias da Unidade de Métodos Não-Invasivos, **Cleuza, Sandra, Simone**, pelo auxílio na marcação e preparação dos exames realizados na unidade.

Aos funcionários do serviço de Pneumologia, em especial **Cleonice** e **Júlio**, pela ajuda na marcação e realização dos exames de espirometria.

Aos funcionários do Grupo de Pesquisa e Pós-graduação dos Hospital de Clínicas, em especial à **Marta**, pela cuidadosa ajuda no gerenciamento e alocação dos recursos necessários para realização deste projeto.

Aos amigos que participaram indiretamente no planejamento e execução deste projeto. Em especial, ao Professor **Elton Ferlin**, pelas indispensáveis discussões acerca da coleta e tratamento de dados referentes a este e a outros trabalhos.

Por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq), pelo apoio financeiro durante este período.

SUMÁRIO

	<i>Pág.</i>
Lista de Abreviaturas	5
Lista de Figuras	6
Lista de Tabelas	7
Lista de Anexos	8
Resumo	9
Abstract	11
Capítulo I	12
Introdução.....	12
Controle neural da circulação no exercício.....	12
Reflexo pressórico do exercício: mecano- e metaboreceptores.....	15
O metaboreflexo muscular: respostas cardiovasculares à técnica de oclusão circulatória pós-exercício em seres humanos e potenciais mediadores.....	17
Significado funcional e importância do metaboreflexo muscular.....	20
O metaboreflexo muscular em condições patológicas.....	23
Doença pulmonar obstrutiva crônica: mecanismos de intolerância ao exercício.....	27
O papel da ativação neuro-humoral na DPOC.....	30
Capítulo II	43
Introdução	43
Métodos	44
Resultados	47
Discussão	51
Referências Bibliográficas	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ANSM	Atividade nervosa simpática para o músculo
CVF	Capacidade Vital Forçada
FC	Frequência Cardíaca
FSP	Fluxo sanguíneo na panturrilha
IMC	Índice de massa corpórea
PaO₂	Pressão parcial de oxigênio arterial
PCO₂	Pressão parcial de gás carbônico arterial
RQ	Quociente respiratório
SaO₂	Saturação arterial de oxigênio
SNS	Sistema Nervoso Simpático
V_C	Volume corrente
VO₂	Consumo de oxigênio
VCO₂	Produção de Dióxido de Carbono
V_E	Volume expirado
VE/VCO₂	Equivalente Ventilatório de Dióxido de Carbono
VE/VO₂	Equivalente Ventilatório de Oxigênio
VEF₁	Volume Expiratório Forçado no 1 ^o segundo
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
RVP	Resistência vascular na panturrilha
TCPE	Teste cardiopulmonar de esforço

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

- FIGURA 1** Ilustração esquemática dos mecanismos de controle neural da circulação do exercício..... 14
- FIGURA 2.** Exemplo representativo das respostas cardiovasculares e metabólica ao exercício estático de preensão manual, seguido de ativação seletiva do metaboreflexo muscular pela técnica de oclusão circulatória pós-exercício isométrico (OCPE)..... 19
- FIGURA 3.** Ilustração esquemática do mecanismo de ação do metaboreflexo muscular, segundo modelo proposto por Rowell e colaboradores..... 22
- FIGURA 4.** Resposta da atividade nervosa simpática para o músculo (ANSM) durante o exercício estático e durante oclusão circulatória pós-exercício (OCPE)..... 25
- FIGURA 5.** Exemplos representativos de imagens histológicas do músculo vasto lateral em pacientes com DPOC e sujeitos saudáveis..... 28

CAPITULO II

- FIGURA 1.** Média (\pm DP) da concentração plasmática de norepinefrina em pacientes com DPOC e sujeitos saudáveis..... 48
- FIGURA 2.** Respostas da pressão arterial media (PAM), frequência cardíaca (FC), fluxo sanguíneo na panturrilha (FSP), e resistência vascular na panturrilha (RVP) em relação aos valores basais durante o exercício estático de preensão manual, durante os períodos de oclusão circulatória pós-exercício (OCPE+) ou controle (OCPE-) e durante a recuperação nos sujeitos saudáveis (painéis da esquerda) e nos pacientes com DPOC (painéis da direita)..... 49
- FIGURA 3.** Estimativa do controle da resistência vascular na panturrilha (RVP) mediado pelo metaboreflexo muscular, obtido pela subtração da área sob a curva no período de oclusão circulatória (OCPE+) do período controle (OCPE)..... 51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Características dos sujeitos.....	47
------------------	-----------------------------------	----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1	Artigo em Inglês	61
ANEXO 2	Termo de Consentimento Informado – Esclarecido.....	83

RESUMO

Introdução. As alterações na função muscular esquelética estão bem documentadas na doença pulmonar obstrutiva crônica, mas não existem informações quanto à atividade das fibras aferentes metabossensitivas.

Objetivo. Testar a hipótese de que pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica possuem alteração nas respostas reflexas à estimulação das fibras aferentes metabossensitivas no músculo esquelético, quando comparados a sujeitos saudáveis.

Métodos e Resultados. Em 16 pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica moderada a grave e 13 sujeitos saudáveis de mesma idade, foram avaliados as respostas da frequência cardíaca, pressão arterial média, fluxo sanguíneo para a panturrilha, e resistência vascular na panturrilha ao exercício estático de preensão manual realizado a 30% da contração voluntária máxima, seguido por um período de recuperação, com ou sem oclusão circulatória. O controle da resistência vascular na panturrilha mediado pelo metaboreflexo muscular foi estimado por meio da subtração da área sob a curva na situação com oclusão da situação sem oclusão circulatória. As respostas da pressão arterial média e da frequência cardíaca foram similares nos pacientes e nos sujeitos saudáveis durante o exercício e recuperação. No grupo controle, a resistência vascular na panturrilha aumentou significativamente durante o exercício e permaneceu elevada acima dos valores dos valores basais durante a oclusão circulatória, enquanto que nos pacientes as mudanças nesta variável a partir do repouso não foram significativas nos dois protocolos. A estimativa do controle da resistência vascular na panturrilha mediado pelo metaboreflexo muscular foi significativamente menor nos pacientes (Controles: 31 ± 22 unidades, Pacientes: 8 ± 31 unidades, $p < 0.05$).

Conclusão. Pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica apresentam diminuição na

resposta da resistência vascular na panturrilha ao exercício de preensão manual e à ativação seletiva do metaboreflexo muscular quando comparados a sujeitos saudáveis. Estes achados são compatíveis com atenuação da atividade do metaboreflexo muscular em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica.

ABSTRACT

Rationale. Abnormal skeletal muscle function is well documented in chronic obstructive pulmonary disease, but there is no information about the activity of muscle metabosensitive afferents.

Objective. To test the hypothesis that patients with chronic obstructive pulmonary disease have abnormal reflex responses to stimulation of metabosensitive afferents in skeletal muscle when compared with healthy-matched subjects.

Methods, Measurements, and Main Results. In 16 patients with moderate-to-severe chronic obstructive pulmonary disease and 13 healthy control subjects of similar age, we evaluated heart rate, mean blood pressure, calf blood flow, and calf vascular resistance responses to static handgrip exercise at 30% of maximal voluntary contraction, followed by recovery with or without circulatory occlusion. Muscle metaboreflex control of calf vascular resistance was estimated by subtracting the area under the curve with circulatory occlusion from the area under the curve without circulatory occlusion. Mean blood pressure and heart responses were similar in patients and controls during exercise and recovery. In the control group, calf vascular resistance increased significantly during exercise and remained elevated above baseline during circulatory occlusion, whereas in patients changes from rest were not significantly different in both trials. Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance was significantly reduced in the patients (Controls: 31 ± 22 units, Patients: 8 ± 31 units, $p < 0.05$).

Conclusion. Patients with chronic obstructive pulmonary disease have a reduced calf vascular resistance response to handgrip exercise and to selective activation of muscle metaboreflex when compared with healthy subjects, consistent with an attenuated muscle metaboreflex activity.

Capítulo I

Revisão da literatura

Introdução

As informações oriundas dos músculos esqueléticos em atividade são de fundamental importância para o controle da função cardiovascular no exercício. A estimulação de pequenas fibras quimiosensíveis e mecanosensíveis musculares durante a 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. Nesta revisão, serão abordadas as respostas reflexas advindas da estimulação das fibras metabossensíveis 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 muscular e/ou ativação importante do sistema nervoso simpático, como a insuficiência cardíaca. Na segunda parte, revisaremos os mecanismos de intolerância ao exercício na doença pulmonar obstrutiva crônica e a provável contribuição da ativação neuro-humoral para a fisiopatologia desta doença.

Controle neural da circulação no exercício

Os ajustes cardiovasculares ao exercício resultam da interação entre mecanismos excitatórios e inibitórios, que tem como braço eferente as modificações no sistema nervoso autônomo. Tanto no exercício estático quanto no exercício dinâmico, a ativação pronunciada do sistema nervoso

simpático (SNS) constitui um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento na pressão arterial (PA) e pela vasoconstrição em leitos vasculares inativos (17,65). Embora a origem precisa do aumento na atividade do SNS não esteja firmemente estabelecida, três mecanismos principais têm sido propostos como geradores desta ativação: 1) o comando central; 2) o baroreflexo arterial; e 3) o reflexo pressórico do exercício (17,65).

O comando central, inicialmente chamado de “irradiação cortical” (36), refere-se à ação direta do córtex motor ou do subtálamo sobre neurônios de regiões associadas ao controle cardiovascular e respiratório (20). Tem sido sugerido que este mecanismo é o principal responsável pelas respostas cardiovasculares imediatas no início do exercício, como o aumento da frequência cardíaca (FC) mediado pela diminuição da atividade do sistema nervoso parassimpático (48). Além disso, experimentos recentes mostram que o comando central é capaz de modificar a função baroreflexa durante o exercício (54) e pode aumentar a atividade simpática renal e cardíaca no início do exercício estático (42,43).

O baroreflexo arterial, que tem como braço aferente as fibras nervosas localizadas no seio carotídeo e arco aórtico, é responsável pelos ajustes batimento-a-batimento na PA, por meio de modificações na FC, no volume sistólico (VS) e na resistência vascular periférica (62). Durante o exercício, diversas evidências mostram que o baroreflexo é ajustado para uma pressão arterial mais elevada, contribuindo diretamente para a ativação do SNS (62). Novas evidências mostram ainda que essa modificação na função baroreflexa é mediada tanto pela ação do Comando central quanto por informações oriundas dos músculos em atividade (45).

Por fim, o terceiro mecanismo, chamado de reflexo pressórico do exercício (RPE), refere-se às respostas reflexas advindas da estimulação de fibras quimiosensíveis e mecanosensíveis no músculo esquelético (44). A visão prevalente sustenta que estes três mecanismos interagem continuamente na regulação cardiovascular no exercício, embora a participação de cada um na

determinação do aumento da resposta simpática ao exercício parece variar de acordo com o tipo e intensidade de esforço (figura 1).

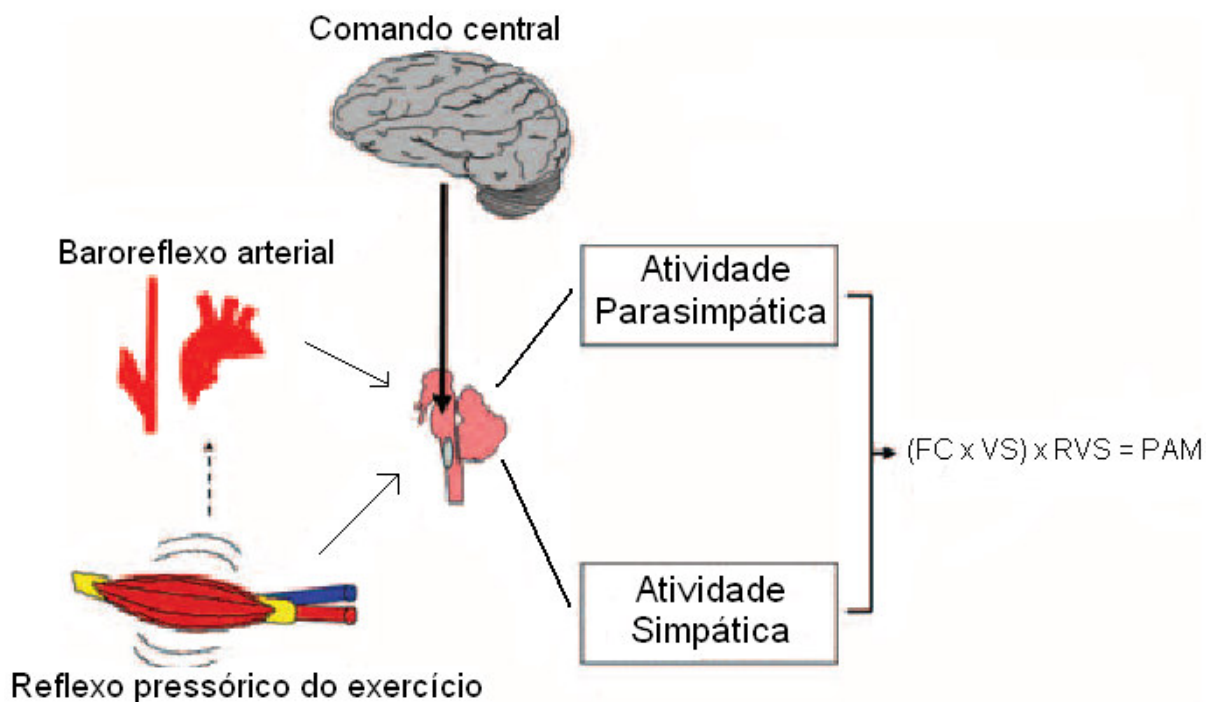


Figura 1: Ilustração esquemática dos mecanismos de controle neural da circulação do exercício. Sinais neurais oriundos do cérebro (comando central), das artérias aorta e carótida (baroreflexo arterial) e dos músculos esqueléticos em atividade (reflexo pressórico do exercício), interagem continuamente durante o exercício, modulando a atividade do sistema nervoso autônomo (SNA). As modificações no SNA contribuem para os ajustes na frequência cardíaca (FC), volume sistólico (VS) e na resistência vascular periférica (RVP), mediando assim o controle da pressão arterial média (PAM) durante o exercício. (Adaptado de Williamson e colaboradores. Exp Physiol 2006; 91:51-58.)

Reflexo pressórico do exercício: mecano- e metaboreceptores

Alam e Smirk (3) foram os primeiros a demonstrar experimentalmente a existência de um reflexo cardiovascular originado nos músculos esqueléticos. Estes autores mostraram que a resposta pressórica ao exercício dinâmico era mantida pela isquemia circulatória pós-exercício nos membros ativos, e sugeriram que esta resposta originava-se no estímulo de fibras aferentes musculares por metabólitos aprisionados nos músculos isquêmicos. Mas somente a partir da década de 70, com o emprego de técnicas de neurofisiologia, tornou-se possível o estudo mais aprofundado da origem e característica dos reflexos oriundos dos músculos em atividade. Coote e colaboradores (12), utilizando uma preparação em gatos anestesiados, forneceram uma das primeiras evidências consistentes da existência do reflexo pressórico do exercício (RPE). Neste experimento, a contração estática do tríceps sural induzida por estimulação elétrica das raízes ventrais resultou no aumento na PA, FC e ventilação, respostas que foram abolidas pela secção das raízes dorsais. Estes autores mostraram ainda que a magnitude da resposta pressórica induzida pela contração muscular estava linearmente relacionada com o pico de tensão gerada no tríceps sural em contração e mais importante, que a oclusão do suprimento arterial para o músculo em atividade desencadeava uma resposta pressórica bem maior que a resposta do membro com perfusão livre.

Posteriormente, McCloskey e Mitchell (44) apresentaram importantes evidências de que as respostas reflexas cardiovasculares e ventilatórias desencadeadas pela contração muscular eram causadas pela estimulação de pequenas fibras nervosas de condução lenta. Tradicionalmente, as fibras aferentes musculares são divididas em quatro grupos de acordo com a velocidade de condução. As fibras do tipo I e II são fibras mielinizadas que inervam os fusos musculares e órgãos tendinosos de Golgi, enquanto as fibras do tipo III (pouco-mielinizadas) e fibras do tipo

IV (não-mielinizadas) são constituídas por terminações nervosas livres localizadas no tecido muscular (30). Mais especificamente sabe-se que as fibras do tipo III localizam-se preferencialmente nas estruturas colágenas do tecido muscular e que as fibras do tipo IV estão associadas aos vasos sanguíneos e vasos linfáticos (7). No estudo de McCloskey e Mitchell (44), também realizado com uma preparação em gatos anestesiados, a aplicação de lidocaína na raiz dorsal contendo os axônios aferentes, que interrompe os impulsos das fibras delgadas III e IV, mas deixa livre a condução pelas fibras I e II, bloqueou as respostas pressórica e cronotrópica reflexas a contração. Por outro lado, a aplicação de corrente anódica sobre a raiz dorsal, que provoca interrupção da condução das fibras I e II, mas não das fibras II e IV, não interferiu nas respostas cardiovasculares induzidas pela contração.

Estudos subsequentes realizados por Kaufman e colaboradores (32,33,34), caracterizaram de forma elegante as propriedades sensitivas destas fibras em resposta à contração muscular estática. Estes autores mostraram que a maioria das fibras do tipo III parecem ser mecanorreceptores, ou seja, terminações que respondem rapidamente a deformação mecânica de seus campos receptivos (33). Já as fibras do tipo IV parecem se comportar como quimiorreceptores, que respondem ao acúmulo, no interstício muscular, de metabólitos gerados durante a contração muscular (33). De fato, estas fibras apresentaram características distintas em relação às fibras do tipo III em resposta a contração eletricamente induzida, como: maior período de latência (8-10s) entre o início da contração e o início do estímulo das fibras e também um aumento na atividade em resposta a contração muscular isquêmica, conseguida por oclusão vascular. Além disso, a atividade elétrica destas fibras do tipo IV pode ser mantida durante o período de isquemia circulatória pós-exercício, mostrando que estas fibras são capazes de sinalizar o desequilíbrio entre o fluxo sanguíneo e o metabolismo muscular a despeito da contração muscular ter acabado (33,34).

Já no final da década de 90, o mesmo grupo apresentou novas evidências quanto à propriedade de descarga destas fibras aferentes em um modelo de exercício dinâmico em gatos, no qual o estímulo elétrico da região mesencefálica associada à locomoção produzia um padrão rítmico de recrutamento motor (1,2). Nestes experimentos, ao contrário dos experimentos anteriores, as fibras do tipo II e IV apresentaram um padrão de resposta relativamente parecido tanto no exercício realizado com perfusão livre quanto no exercício realizado com isquemia muscular (1,2). Coletivamente, estes estudos mostram que as fibras do tipo III e IV apresentam em verdade características polimodais e que o padrão de descarga das mesmas varia com o tipo de contração, intensidade e característica do ambiente químico muscular (31). No entanto, ainda hoje é aceita a divisão do RPE em um componente metabólico, chamado de ‘metaboreflexo muscular’, mediado predominantemente por fibras do tipo IV, e em outro componente mecânico, chamado de ‘mecanoreflexo muscular’, que parece ser mediado por fibras do tipo III.

O metaboreflexo muscular: respostas cardiovasculares à técnica de oclusão circulatória pós-exercício em seres humanos

Desde os experimentos originais de Alam e Smirk (3), diversos estudos vêm empregando a técnica de isquemia ou oclusão circulatória pós-exercício (OCPE) para estudo do componente metabólico do RPE. Neste tipo de experimento, é possível estudar isoladamente a contribuição das fibras quimiosensíveis para as respostas cardiovasculares reflexas, na ausência de outras influências, como o comando central ou o mecanoreflexo muscular. A natureza reflexa da OCPE foi demonstrada em experimentos nos quais após a realização de anestesia epidural em humanos houve eliminação da resposta pressórica a este período (19).

Durante a ativação seletiva do metaboreflexo muscular por meio da OCPE, está amplamente estabelecido que existe ativação importante do SNS. De fato, em uma série de experimentos em que foi realizado o registro de atividade nervosa simpática para o músculo (ANSM), por meio da microneurografia, foi demonstrado que a ativação do SNS associada ao exercício estático ou dinâmico de pequenos grupos musculares é mantida durante o período de OCPE (22,83). Além disso, esta manutenção da ANSM acima dos valores basais durante este período está associada a uma concomitante vasoconstrição nos membros inativos (68,71). Estudos mais recentes têm sugerido que, durante o período de oclusão, também pode haver aumento da contratilidade miocárdica e do volume sistólico (14,15), achado não confirmado por outros autores (11).

Apesar de as respostas cardiovasculares à ativação do metaboreflexo muscular estarem relativamente bem caracterizadas, existem ainda controvérsias quanto ao estímulo exato responsável por este reflexo. Experimentos em animais têm demonstrado que uma série de substâncias podem estar envolvidas na estimulação das fibras metabossensitivas, entre elas: ácido láctico, íons hidrogênio, bradicinina, potássio, ácido araquidônico, adenosina e prostaglandinas (30,31). Mais recentemente, especial atenção vem sendo dada ao papel do ATP e os receptores purinérgicos como potenciais mediadores destas respostas (70,73).

Em seres humanos, um número considerável de evidências têm mostrado que as alterações cardiovasculares reflexas induzidas pela estimulação do metaboreflexo muscular estão intrinsecamente ligadas com o desenvolvimento de acidose durante o exercício (52,71,80). Estes trabalhos identificaram que o aumento da PA bem como da atividade simpática e resistência vascular nos membros inativos estava inversamente relacionada com o pH intracelular no músculo em contração e, principalmente, durante ativação seletiva do metaboreflexo muscular pela OCPE (Figura 2). Estes achados são suportados ainda pelo fato de que a redução da acidose

provocada pelo exercício por meio da infusão de dicloroacetato em indivíduos saudáveis atenua as respostas desencadeadas pela ativação do metaboreflexo muscular (18).

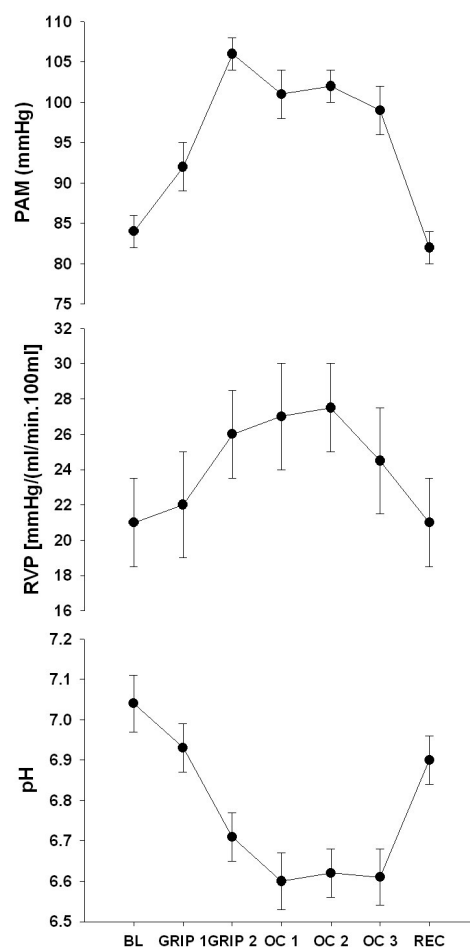


Figura 2: Exemplo representativo das respostas cardiovasculares e metabólica ao exercício estático de preensão manual, seguido de ativação seletiva do metaboreflexo muscular pela técnica de oclusão circulatória pós-exercício isométrico (OCPE). Durante os dois minutos de exercício (GRIP 1 e 2), há um aumento pronunciado da pressão arterial média (PAM) e da resistência vascular periférica (RVP) no membro não ativo, que é mantido durante todo o período de isquemia muscular (OC 1,2 e 3). Durante todo o protocolo as respostas da PAM e RVP

associam-se inversamente as alterações no pH intracelular, compatível com a idéia de que a acidose contribui para a gênese do metaboreflexo muscular. (Adaptado de Sinoway LI e colaboradores. J Appl Physiol 1989; 66:429-436).

A relação entre o desenvolvimento de acidose muscular e as respostas reflexas a ativação do metaboreflexo muscular também foi estudada em pacientes com doença de McArdle, que têm deficiência na enzima miofosforilase. Pryor e colaboradores (61) demonstraram que estes pacientes apresentam diminuição na resposta de ativação simpática durante o exercício, fato que foi atribuído à deficiência na produção de ácido láctico. No entanto, estes achados não foram confirmados por outros autores, possivelmente pelo baixo número de pacientes e pela elevada variabilidade individual nas medidas da ANSM (81). Em geral, existe consenso de que o estímulo das fibras quimiosensíveis é desencadeado por uma combinação de substâncias, entre elas o ácido láctico, sendo que a intensidade do estímulo varia com a intensidade e tipo de exercício realizado (31).

Significado funcional e importância do metaboreflexo muscular

A importância do metaboreflexo muscular para os ajustes cardiovasculares ao exercício, sobretudo ao exercício dinâmico, tem sido foco de intensas discussões por fisiologistas do exercício (55). As evidências mais consistentes quanto ao significado deste reflexo vêm de experimentos realizados em cães, por meio de uma preparação conhecida como “modelo de Seattle”. Nestes experimentos, realizados originalmente por Rowell e colaboradores (65), um oclisor vascular é instalado na aorta terminal de cães, o que permite modificações na perfusão dos membros em exercício, simulando uma situação de ativação do metaboreflexo muscular. Os

cães são submetidos a exercício em esteira rolante, sendo que reduções do fluxo sanguíneo para as patas traseiras em exercício são realizadas gradualmente e as respostas hemodinâmicas centrais e periféricas são mensuradas (56,57,69).

Estes experimentos mostraram que reduções parciais no fluxo sanguíneo dos membros em exercício eram acompanhadas por um aumento pronunciado da resposta pressórica, dependente da velocidade e inclinação da esteira (57). Além disso, essa resposta pressórica desencadeada pela isquemia muscular era capaz de restaurar aproximadamente 50% do fluxo sanguíneo para os membros isquêmicos (57). Estudos subsequentes do mesmo grupo mostraram, de forma elegante, que a resposta pressórica era desencadeada não apenas pela redução do fluxo para os membros, mas, principalmente, pela redução no aporte de oxigênio abaixo de um nível crítico, capaz de gerar o acúmulo de uma substância (possivelmente o ácido láctico), que estimularia as fibras quimiossensíveis (69). Neste e em outros experimentos, a resposta pressórica provocada pela estimulação do metaboreflexo muscular foi capaz de restaurar não apenas o fluxo, mas também aumentar a concentração de hemoglobina e o conteúdo arterial de oxigênio, aumentando de forma geral o aporte de oxigênio para os músculos isquêmicos (56,69).

Resumidamente, a visão prevalente em relação ao significado funcional do metaboreflexo muscular é de que este mecanismo é ativado quando há um desequilíbrio entre o aporte de oxigênio e o metabolismo muscular. Essa ativação desencadeia uma resposta pressórica com o intuito de restaurar a perfusão e o aporte de O₂ para os músculos isquêmicos. Em intensidades moderadas, a resposta pressórica advinda da ativação deste reflexo é conseguida principalmente por aumento no débito cardíaco (57), enquanto que em intensidades mais elevadas, existe um aumento concomitante da resistência vascular periférica (9). Segundo esquema proposto por Rowell (66), este reflexo não está tonicamente ativo, sendo ativado somente a partir de um

'limiar' de redução do fluxo sanguíneo e aporte de O_2 para a musculatura, que ocorre em intensidades moderada e elevada (figura 3).

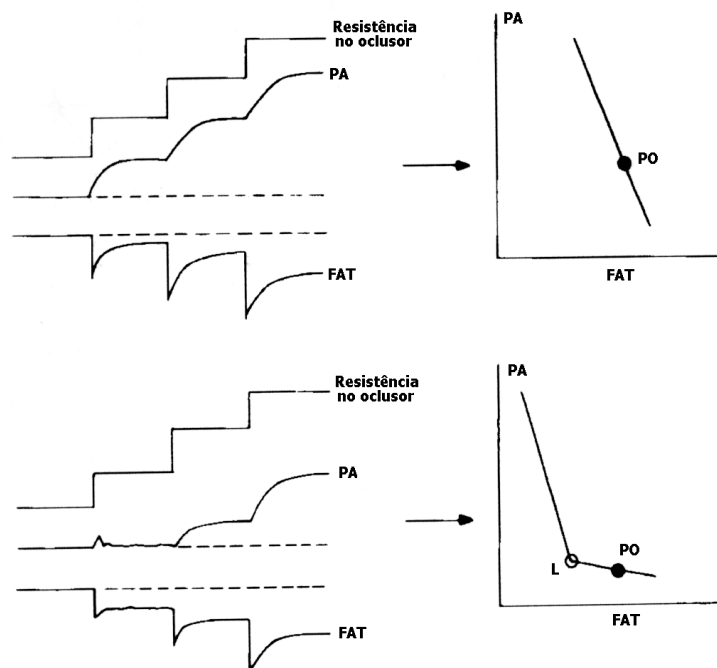


Figura 3. Ilustração esquemática do mecanismo de ação do metaboreflexo muscular, segundo modelo proposto por Rowell e colaboradores. Em intensidades moderada a pesada de exercício (painel superior), o metaboreflexo muscular está tonicamente ativo. Assim, qualquer redução no fluxo aórtico terminal (FAT) a partir do ponto de operação (PO) deste reflexo, ocasiona um aumento linear na pressão arterial. Já em intensidades leves (painel inferior), reduções parciais no FAT não causam nenhuma alteração da PA. Somente a partir de um limiar iquêmico (L), onde ocorreria desequilíbrio entre o aporte de oxigênio e o metabolismo muscular, é que passa a ocorrer a resposta pressórica linear. (Rowell LB, Sherrif DD. News Physiol Sci 1988; 3:250-253.)

Em seres humanos, no entanto, não existem evidências até o momento em favor da capacidade do metaboreflexo muscular de restaurar a perfusão no músculo em exercício. Utilizando modelo análogo ao ‘modelo de Seattle’, Joyner e colaboradores (29) avaliaram as respostas hemodinâmicas ao exercício rítmico de preensão manual com aplicação de pressão positiva externa com o intuito de reduzir a perfusão do membro em exercício. Apesar de tal modelo provocar aumento da resposta pressórica, não foi evidenciado aumento do fluxo sanguíneo para o músculo isquêmico. Este achado foi confirmado recentemente por outros autores (16). Em ambos estudos, os autores atribuíram estes resultados a uma possível vasoconstrição mediada por um aumento pronunciado na atividade simpática (16,29). No entanto, mais estudos são necessários para se investigar os mecanismos determinantes desta diferença nos resultados entre o modelo animal e o modelo em seres humanos.

O metaboreflexo muscular em condições patológicas

Insuficiência cardíaca. Recentemente, atenção considerável tem sido dada à caracterização das respostas cardiovasculares à ativação do metaboreflexo muscular em condições patológicas, especialmente na insuficiência cardíaca congestiva (ICC). De forma geral, experimentos em seres humanos e modelos animais têm demonstrado que o reflexo pressórico do exercício parece estar envolvido na gênese das alterações nas respostas cardiovasculares ao exercício na ICC (73). No entanto, existe ainda controvérsia importante quanto à contribuição das fibras quimiosensíveis musculares para estas respostas (47). Alguns investigadores sustentam que o metaboreflexo muscular está hiperativo em pacientes com ICC e é um dos principais mecanismos responsáveis pela exacerbação das respostas cardiovasculares e ventilatórias comumente encontradas nestes

pacientes (59,60). Por outro lado, uma série de evidências recentes tem mostrado que as respostas reflexas à estimulação seletiva do metaboreflexo muscular estão atenuadas nestes pacientes (50,76) e que outro mecanismo, possivelmente a hiperatividade de fibras mecanossensíveis (46) contribui predominantemente para exacerbação das respostas ao esforço.

Sterns e colaboradores (76) foram os primeiros a sugerir que existe atenuação do metaboreflexo muscular em pacientes com ICC. Utilizando a técnica de oclusão circulatória pós-exercício estático de preensão manual, estes autores demonstraram que indivíduos com ICC apresentam atenuação do controle da atividade simpática periférica mediada pelo metaboreflexo muscular (Figura 4). Estes achados foram confirmados por outros autores (50), que mostraram, que a atenuação do metaboreflexo muscular está diretamente ligada à gravidade da doença nestes pacientes. Em ambos os estudos, os investigadores atribuíram os achados a uma possível desensibilização das fibras quimiosensíveis, advinda, entre outros, das disfunções metabólicas musculares e da diminuição crônica na perfusão muscular (50,76). Mais recentemente, Kon e colaboradores (35) mostraram que, além da disfunção do controle da atividade simpática, pacientes com ICC apresentam atenuação da resposta da resistência vascular no membro inativo durante ativação seletiva do metaboreflexo muscular.

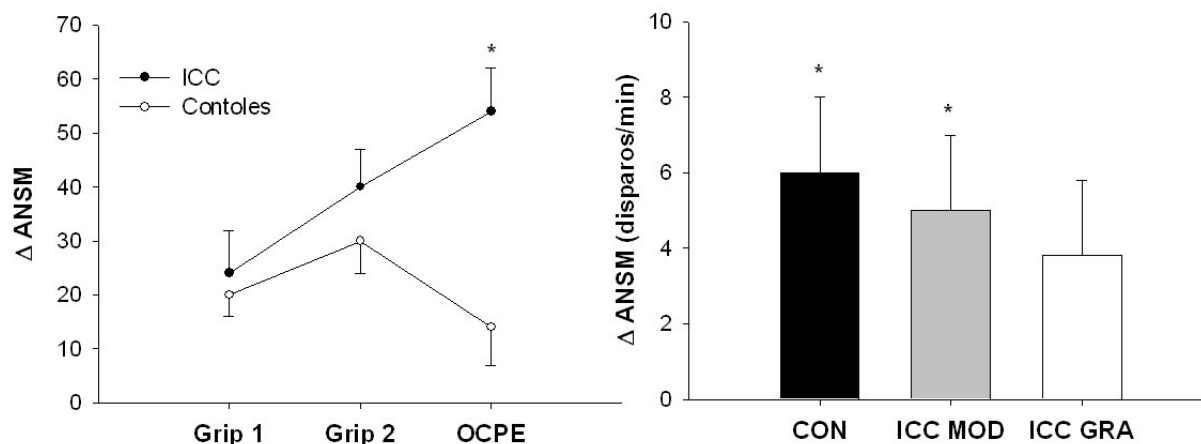


Figura 4: Resposta da atividade nervosa simpática para o músculo (ANSM) durante o exercício estático e durante oclusão circulatória pós-exercício (OCPE). Sterns e colaboradores (painel esquerdo) mostraram que durante a OCPE a ANSM permaneceu elevada nos sujeitos saudáveis, retornado aos valores basais nos pacientes com ICC. Da mesma forma, Negrão e colaboradores (painel direito), comparando o delta de resposta da ANSM durante o período de OCPE em relação aos valores basais, mostraram que pacientes com ICC grave apresentam diminuição do controle da atividade simpática periférica mediada pelo metaboreflexo muscular.

Experimentos com modelo animal também têm mostrado achados consistentes quanto à existência de alterações importantes deste reflexo na IC. O’Leary e colaboradores, em uma série de estudos utilizando o “modelo de Seattle” em cães, mostraram que a disfunção no metaboreflexo muscular parece contribuir importantemente para alteração nos ajustes cardiovasculares ao exercício na ICC (8,21). Estes autores mostraram que enquanto em cães saudáveis a ativação do metaboreflexo muscular gera aumentos importantes no débito cardíaco,

com pouca modificação da resistência vascular periférica, nos cães com ICC a resposta à isquemia gradual da musculatura esquelética em exercício é determinada por uma importante vasoconstrição periférica, sem alteração importante do débito cardíaco (21). Além disso, foi demonstrado que nestes cães com IC existe importante vasoconstrição coronária durante o período de estímulo do metaboreflexo muscular, que parece limitar ainda mais as respostas cardíacas ao exercício (8).

Confirmando observações prévias em seres humanos, estudos recentes em ratos infartados têm sugerido que o metaboreflexo muscular está atenuado na ICC. Li e colaboradores (38) e Smith e colaboradores (75), mostraram que a infusão de capsaicina na vasculatura arterial dos membros locomotores em ratos, substância que ativa seletivamente as fibras metabossensitivas musculares, provocou uma resposta pressórica significativamente atenuada em ratos infartados quando comparado a ratos saudáveis. Coletivamente, estes achados suportam a proposição de que embora o reflexo pressórico do exercício esteja hiperativo na ICC, parece haver dessensibilização do componente mediado pelas fibras quimiosensíveis (73). No entanto, pouco se sabe ainda quanto aos prováveis mecanismos responsáveis pela atenuação da atividade destas fibras.

Hipertensão arterial sistêmica. Novas evidências experimentais têm sugerido que o RPE e possivelmente o metaboreflexo muscular parece estar alterado também na hipertensão arterial sistêmica. Rondon e colaboradores (64) mostraram recentemente que sujeitos hipertensos que nunca foram submetidos a tratamento farmacológico apresentam redução no controle da atividade simpática periférica mediada pelo metaboreflexo muscular quando comparados à sujeitos normotensos. Em ratos espontaneamente hipertensos, Smith e colaboradores (74) mostraram que existe um aumento pronunciado da resposta pressórica ao exercício estático eletricamente induzido, compatível com uma atividade exagerada do reflexo pressórico do exercício. Neste

estudo, no entanto, não é possível detectar qual a contribuição das fibras quimiossensíveis para esta resposta.

Doença pulmonar obstrutiva crônica: mecanismos de intolerância ao exercício

A intolerância ao exercício é uma das características mais marcantes da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) que resulta da interação de múltiplos mecanismos (51). Embora tradicionalmente as alterações da função pulmonar tenham sido apontadas como fator primordial na gênese da baixa tolerância ao esforço nestes pacientes (53), atenção considerável vem sendo dada ao papel das alterações sistêmicas, como as disfunções na musculatura esquelética, como participantes fundamentais deste processo (5). As disfunções musculares na DPOC compreendem uma série de alterações na estrutura e função dos músculos esqueléticos, que manifestam-se na diminuição da força e nas anormalidades do metabolismo energético durante o esforço (5).

Estudos que realizaram biópsia muscular nestes pacientes têm documentado sistematicamente que pacientes com DPOC apresentam alteração na distribuição e composição das fibras musculares, caracterizada por diminuição na porcentagem de fibras do tipo I (4,63,84) (Figura 5). Além disso, alguns achados sugerem que existe diminuição nos níveis de mioglobina (49), na capilarização muscular, além de uma redução na razão capilar/mitocôndria nestes pacientes quando comparados a indivíduos saudáveis (28).

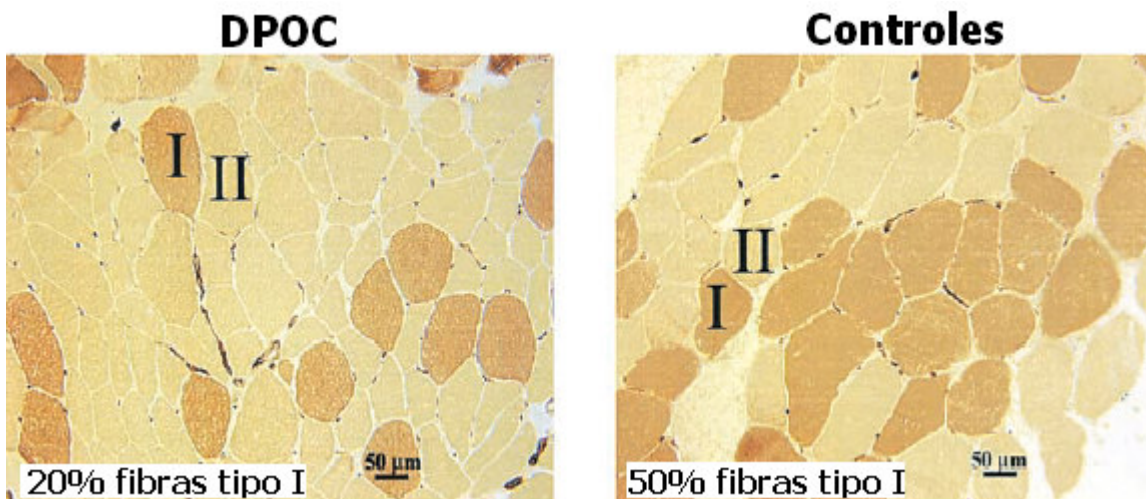


Figura 5: Exemplos representativos de imagens histológicas do músculo vasto lateral em pacientes com DPOC e sujeitos saudáveis. Pacientes com DPOC apresentam diminuição importante na no percentual de fibras do tipo I quando comparados a sujeitos saudáveis.(Retirado de Richardson e colaboradores Am J Respir Crit Care Med 2004; 169:89-96.)

Estas alterações na musculatura esquelética manifestam-se de forma mais importante durante o exercício. Em uma série de experimentos em que foi utilizada a espectroscopia por ressonância nuclear magnética, foi demonstrado que existe uma diminuição na capacidade oxidativa muscular nos pacientes com DPOC (37,78). Kutzusawa e colaboradores (37) mostraram que durante o exercício dinâmico de preensão manual a razão fosfocreatina/(fosfocreatina + fosfato inorgânico) foi consistentemente menor nos pacientes com DPOC quando comparados a sujeitos saudáveis. Da mesma forma, Tada e colaboradores (78) mostraram que existe uma queda prematura no pH intracelular durante o exercício concomitante à diminuição da fosfocreatina, ambos indicativos de uma disfunção na fosforilação oxidativa e ativação precoce da glicólise anaeróbica nos pacientes com DPOC.

Durante o exercício dinâmico, também tem sido sugerido que existe acidose láctica prematura nos pacientes com DPOC (40). De forma geral, uma série de mecanismos podem contribuir para esta alteração na atividade metabólica muscular, incluindo diminuição no aporte de oxigênio para a musculatura ou a menor eficiência do metabolismo oxidativo muscular. Embora as alterações intrínsecas no metabolismo energético estejam relativamente bem documentadas nos pacientes com DPOC, como mostrado pela diminuição expressiva das enzimas mitocondriais associadas ao metabolismo oxidativo (4,39), o papel do aporte de O_2 na determinação das respostas metabólicas parece relativamente controverso (41,63,72). Alguns autores sustentam que para uma mesma carga absoluta de trabalho, pacientes com DPOC apresentam respostas adequadas de fluxo sanguíneo muscular e do aporte de O_2 para os pernas em exercício quando comparados a indivíduos saudáveis (41,63). Por outro lado, foi sugerido que alguns pacientes apresentam estabilização do consumo de oxigênio das pernas durante o esforço, a despeito do aumento na carga de trabalho, que foi atribuída parcialmente à resposta do fluxo sanguíneo muscular em intensidades fadigantes (72).

É necessário destacar que nestes estudos que mensuraram o consumo de oxigênio regional, nos membros em exercício, as variáveis relacionadas ao aporte de oxigênio foram reportadas na mesma carga de trabalho absoluta para indivíduos saudáveis e pacientes com DPOC. Considerando que a carga máxima de trabalho é significativamente menor nos pacientes com DPOC, parece razoável supor que em cargas absolutas submáximas os valores de fluxo sanguíneo, por exemplo, podem ser semelhantes ou até aumentados nos pacientes com DPOC, como descrito por alguns autores (41,63). Dessa forma, embora a correção dos valores das variáveis hemodinâmicas pelos valores relativos ao pico do esforço ainda seja motivo de discussão, as informações advindas deste tipo de análise podem trazer informações relevantes quanto a real relevância dos mecanismos envolvidos no fornecimento adequado de oxigênio para

musculatura, sobretudo o fluxo sanguíneo muscular, para as respostas metabólicas ao exercício nestes pacientes.

No estudo de Simon e colaboradores (72), os autores especularam que a estabilização do consumo de oxigênio das pernas no exercício poderia ser explicada preferencialmente por alteração na distribuição do débito cardíaco durante o esforço. Utilizando como base os experimentos de Harms e colaboradores (23,24) em indivíduos saudáveis, esses autores levantaram a hipótese de que o trabalho ventilatório aumentado durante o exercício nos pacientes com DPOC poderia provocar um 'efeito de roubo' do fluxo sanguíneo pela musculatura ventilatória, comprometendo assim o aporte de oxigênio para os músculos locomotores em atividade. Contudo, mais estudos são necessários para elucidação do comportamento hemodinâmico nos músculos periféricos durante intensidades elevadas de exercício e sobretudo como funciona a interação entre as demandas perfusionais entre músculos respiratórios e locomotores.

O papel da ativação neuro-humoral na DPOC

Tem sido amplamente sugerido que a atenção neuro-humoral contribui de forma relevante para a fisiopatogenia da DPOC, sobretudo para gênese das manifestações sistêmicas. Recentemente foi demonstrado que pacientes com DPOC e hipoxemia apresentam atividade nervosa simpática para o músculo duas vezes maior que sujeitos saudáveis (25). Além disso, estudos que quantificaram a concentração de noradrenalina plasmática, mostraram que estes pacientes têm aumento importante da atividade simpática sistêmica (26,79). Da mesma forma, estudos que analisaram a variabilidade da frequência cardíaca (77,82) ou ainda captação ventricular do 131-metaiodobenzilguanidina (67), têm mostrado que pacientes com DPOC apresentam diminuição

da atividade parasimpática concomitante a um aumento pronunciado da atividade simpática cardíaca.

A origem destas alterações no sistema nervoso autônomo parece ser multifatorial (6), mas tem sido sugerido que a hipoxemia crônica e as alterações nos reflexos excitatórios contribuem importantemente para esta disfunção (25). Especificamente, está amplamente documentado que pacientes com DPOC apresentam disfunção do baroreflexo arterial (10,13,58). Patakas e colaboradores (58) demonstraram que a resposta da frequência cardíaca à infusão de fenilefrina foi significativamente menor em sujeitos com DPOC quando comparados a sujeitos saudáveis e que a pressão arterial pulmonar foi a variável que melhor associou-se a esta diminuição na sensibilidade baroreflexa. Estudos subsequentes confirmaram que esta anormalidade na função baroreflexa e indicaram que esta disfunção é parcialmente reversível pela suplementação de oxigênio (10) e pelo treinamento aeróbio (13). Coletivamente, estudos mostram que a disfunção destes mecanismos pode mediar, ao menos parcialmente, a ativação neuro-humoral crônica nestes pacientes.

Referências bibliográficas:

1. Adreani CM, Hill JM, Kaufman MP. Responses of group III e IV muscle afferents to dynamic exercise. *J Appl Physiol* 1997; 86:1811-1817.
2. Adreani CM, Kaufman MP. Effects of arterial occlusion on responses of group III e IV afferents to dynamic exercise. *J Appl Physiol* 1998; 84:1827-1833.
3. Alam M, Smirk RF. Observations in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles. *J Physiol* 1937; 89:372-383.
4. Allaire J, Maltais F, Doyon J-F, Noel M, LeBlanc P, Carrier G, Simard C, Jobin J. Peripheral muscle endurance and the oxidative profile of the quadriceps in patients with COPD. *Thorax* 2004; 59:673-678.
5. American Thoracic Society /European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159(Suppl):S1-S40.
6. Andreas S, Anker SD, Scalon PD, Somers VK. Neurohumoral activation as a link to systemic manifestations of chronic lung disease. *Chest* 2005; 128:3618-3624.
7. Andres KH, von Doring M, Schmidt RF. Sensory innervation of the Achilles tendon by group III e IV afferent fibers. *Anat Embryol (Berl)* 1985; 172:145-156.
8. Ansorge EJ, Augustyniak RA, Perinot ML, Hammond RL, Kim JK, Rodriguez J, Rossi NF, O'Leary DS. Altered muscle metaboreflex control of coronary blood flow and ventricular function in heart failure. *Am J Physiol* 2005; 288:H1381-H1388.

9. Augustyniak RA, Collins HL, Ansorge EJ, Rossi NF, O'Leary DS. Severe exercise alters the strength and mechanisms of the muscle metaboreflex. *Am J Physiol* 2001; 280:H1645-H1652.
10. Bartels M, Gonzalez J, Kim W, De Meersman R. Oxygen supplementation and cardiac-autonomic modulation in COPD. *Chest* 2000; 118:691-696.
11. Bastos BG, Williamson JW, Harrelson T, Nobrega AC. Left ventricular volumes and hemodynamic responses to postexercise ischemia in healthy humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32:1114-8.
12. Coote JH, Hilton SM, Perez-Gonzalez JF. The reflex nature of the pressor response to muscular exercise. *J Physiol* 1971; 215:789-804.
13. Costes F, Roche F, Pichot V, Vergnon JM, Garet JC, Barthelemy JC. Influence of exercise training on cardiac baroreflex sensitivity in patients with COPD. *Eur Respir J* 2004; 23:396-401.
14. Crisafulli A, Salis E, Pittau G, Lorrain L, Tocco F, Melis F, Pagliaro P, Concu AN. Modulation of cardiac contractility by muscle metaboreflex following efforts of different intensities in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006 (no prelo)
15. Crisafulli A, Scott AC, Wensel R, Davos CH, Francis DP, Pagliaro P, Coats AJ, Concu A, Piepoli MF. Muscle metaboreflex-induced increases in stroke volume. *Med Sci Sports Exerc.* 2003; 35:221-8
16. Daley JC, Khan MH, Hogeman CS, Sinoway LI. Autonomic and vascular responses to reduced limb perfusion. *J Appl Physiol* 2003; 95:1493-1498.
17. Delp MD, O'Leary DS. Integrative control of the skeletal muscle microcirculation in the maintenance of arterial pressure during exercise. *J Appl Physiol* 2004; 97:1112-1118

18. Ettinger S, Gray K, Whisler S, Sinoway L. Dichloroacetate reduces sympathetic nerve responses to sympathetic nerve responses to static exercise. *Am J Physiol* 1991; 261:H1653-H1658.
19. Freund PR, Rowell LB, Murphy TM, Hobbs SF, Butler SH. Blockade of the pressor response to muscle ischemia by sensory nerve block in man. *Am J Physiol.* 1979; 237:H433-H439.
20. Goodwin GM, McCloskey DI, Mitchell JH. Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *J Physiol* 1972; 226:173-190
21. Hammond RL, Augustyniak RA, Rossi NF, Churchill PC, Lapanowski K, O'Leary DS. Heart failure alters the strength and mechanisms of the muscle metaboreflex. *Am J Physiol* 2000; 278:H818-H828.
22. Hansen J, Thomas GD, Jacobsen TN, Victor RG. Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1994; 266: H2508-H2514.
23. 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; 85:609-18.
24. 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; 82:1573-83
25. Heindl S, Lehnert M, Criée CP, Hasenfuss G, Andreas S. Marked sympathetic activation in patients with chronic respiratory failure. *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 164:597-601.

26. Hofford JM, Milakofsky L, Vogel WH, et al. The nutritional status in advanced emphysema associated with chronic bronchitis: a study of amino acid and catecholamine levels. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:902-908.
27. Jakobsson PL, Jordfeldt L, Brunden A. Skeletal muscle metabolites and fiber types in patients with advanced chronic obstructive pulmonary disease (COPD), with and without chronic respiratory failure. *Eur Respir J* 1990; 3:192-196.
28. Jobin J, Maltais F, Doyon JF, LeBlanc P, Simard PM, Simard AA, Simard C. Chronic obstructive pulmonary disease: capillarity and fiber-type characteristics of skeletal muscle. *J Cardiopulm Rehabil.* 1998; 18:432-437.
29. Joyner MJ. Does the pressor response to ischemic exercise improve blood flow to contracting muscles in humans ? *J Appl Physiol* 1991; 71:1496-1501.
30. Kaufman MP, Foster HV. Reflexes controlling circulatory, ventilatory and airway response to exercise. *Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, 1996, ed. Rowell LB & Sheperd JT, pp.381-447. Oxford University Press, New York.
31. Kaufman MP, Hayes SG. The exercise pressor reflex. *Clin Auton Res* 2002; 12:429-439.
32. Kaufman MP, Longhurst JC, Rybicki KJ, Wallach JH, Mitchell JH. Effects of static muscular contractions on impulse activity of group III e IV afferents in cats. *J Appl Physiol* 1983; 55:105-112.
33. Kaufman MP, Rybicki KJ. Discharge properties of group III e IV muscle afferents: their response to mechanical and metabolic stimuli. *Circ Res* 1987; 61:160-165.

34. Kaufman MP, Rybicki KJ, Waldrop TG, Ordway GA. Effects of ischemia on responses of group III e IV afferents to contraction. *J Appl Physiol* 1984; 57:644-650.
35. Kon H, Nakamura M, Arakawa N, Hiramori K. Muscle metaboreflex is blunted with reduced vascular resistance response of nonexercised limb in patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 2004; 10: 503-510.
36. Krogh A, Lindhard J. The regulation of respiration during the initial stages of muscular work. *J Physiol* 1913; 47:112-136
37. Kutsuzawa T, Shioya S, Kurita D, Haida M, Ohta Y, Yamabayashi H. ³¹P-NMR study of skeletal muscle metabolism in patients with chronic respiratory impairment. *Am Rev Resp Dis* 1992; 146:1019-1024.
38. Li J, Sinoway AN, Gao Z, Maile MD, Pu M, Sinoway LI. Muscle mechanoreflex and metaboreflex responses after myocardial infarction in rats. *Circulation*. 2004; 110:3049-3054.
39. Maltais F, LeBlanc P, Whinttom F, Simard C, Marquis K, Bélanger M, Breton M, Jobin J. Oxidative enzyme activities of the vastus lateralis muscle and the functional status in patients with COPD. *Thorax* 2000; 55:848-853.
40. Maltais F, Simard A, Simard C, Jobin J, Desganés P, LeBlanc P. Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in normal subjects and in patients with COPD. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153:288-293.
41. Maltais F, Jobin J, Sullivan MJ, Bernard S, Whinttom F, Killian KJ, Desmeules M, Bélanger M, LeBlanc P. Metabolic and hemodynamic responses of lower limb during exercise in patients with COPD. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1573-1580.

42. Matsukawa K, Nakamoto T, Inomoto A. Gadolinium does not blunt the cardiovascular responses at the onset of voluntary static exercise in cats: a predominant role of central command. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 (no prelo)
43. Matsukawa K, Murata J, Wada T. Augmented renal sympathetic nerve activity by central command during overground locomotion in decerebrate cats. *Am J Physiol*. 1998; 275:H1115-21
44. McCloskey DI, Mitchell JH. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol* 1972; 224:173-186.
45. McIlveen SA, Hayes SG, Kaufman MP. Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex. *Am H Physiol* 2001; 280:H1454-H1463.
46. Middlekauff HR, chiu J, Hamilton MA, Fonarow GC, MacLellan WR, Hage A, Moriguchi J, Patel J. Muscle mechanoreceptor sensitivity in heart failure. *Am J Physiol* 2004; 287:H1937-H1943.
47. Middlekauff HR, Sinoway LI, Piepoli M, Coats AJ. Increased Mechanoreceptor/ Metaboreceptor Stimulation Explains the Exaggerated Exercise Pressor Reflex Seen in Heart Failure. *J Appl Physiol*. 2006 (no prelo)
48. Mitchell JH, Reeves DR, Rogers HB, Secher NH, Victor RG. Autonomic blockade and cardiovascular responses to static exercise in partially curarized man. *J Physiol* 1989; 413:433-445
49. Moller P, Hellstrom K, Hermansson IL. Myoglobin content in leg skeletal muscle in patients with chronic obstructive lung disease. *Respiration*. 1984; 45:35-38.

50. Negrão CE, Rondin MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barreto AC, Krieger EM, Middlekauff HR. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol* 2001; 208:H1286-H1292.
51. Nici L. Mechanisms and measures of exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med* 2000; 21:693-704.
52. Nishiyasu T, Ueno H, Nishiyasu M, Tan N, Morimoto K, Morimoto A, Deguchi T, Murakami N. Relationship between mean arterial pressure and muscle cell pH during forearm ischemia after sustained handgrip. *Acta Physiol Scand* 1994; 151:143-148.
53. O'Donnell DE. Ventilatory limitations in chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33:S647-S655.
54. Ogoh S, Wasmund WL, Keller DM, O-yurvarti A, Gallagher KM, Mitchell JH, Raven PB. Role of central command in carotid baroreflex resetting in humans during static exercise. *J Physiol* 2002; 543:349-364.
55. O'Leary DS, Joyner MJ. Point/Counterpoint: The muscle metaboreflex does/does not restore blood flow to contracting muscles. *J Appl Physiol* 2006; 100:357-361.
56. O'Leary DS, Augustyniak RA, ansorge EJ, Collins HL. Muscle metaboreflex improves O₂ delivery to ischemic active skeletal muscle. *Am J Physiol* 1999; 276:H1399-H1403.
57. O'Leary DS, Sheriff DD. Is the muscle metaboreflex important in control of blood flow to ischemic active skeletal muscle in dogs. *Am J Physiol* 1995; 268:H980-H986.
58. Patakas D, Louridas G, Kakavelas E. Reduced baroreceptor sensitivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1982; 37:292-295.

59. Piepoli M, Ponikowski P, Clark AL, Banasiak W, Capucci A, Coats AJ. A neural link to explain the "muscle hypothesis" of exercise intolerance in chronic heart failure. *Am Heart J* 1999;137:1050-1056.
60. Ponikowski PP, Chua TP, Francis DP, Capucci A, Coats AJ, Piepoli MF. Muscle ergoreceptor overactivity reflects deterioration in clinical status and cardiorespiratory reflex control in chronic heart failure. *Circulation*. 2001;104:2324-2330.
61. Pryor SL, Lewis SF, Haller RG, Bertocci LA, Victor RG. Impairment of sympathetic activation during static exercise in patients with muscle phosphorylase deficiency (McArdle's disease). *J Clin Invest* 1990; 85:1444-1449.
62. Raven PB, Fadel PJ, Ogoh S. Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. *Exp Physiol*. 2006; 91:37-49
63. Richardson RS, Leek BT, Gavin TP, Haseler LJ, Mudaliar SR, Henry R, Mathieu-Costello, Wahner PD. Reduced mechanical efficiency in chronic obstructive pulmonary disease but normal peak VO_2 with small muscle mass exercise. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:89-96.
64. Rondon MU, Laterza MC, Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrão CE. Abnormal muscle metaboreflex control of sympathetic activity in never-treated hypertensive subjects. *Am J Hypertens* 2006; 19:951-957.
65. Rowell LB, O'Leary DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 1990; 69:407-418.
66. Rowell LB, Sheriff DD. Are muscle "chemoreflexes" functionally important? *News Physiol Sci* 1988; 3:250-253.

67. Sakamaki F, Satoh T, Nagaya N, Kyotani S, Nakanishi N, Ishida Y. Abnormality of left ventricular sympathetic nervous function assessed by (123)I-metaiodobenzylguanidine imaging in patients with COPD. *Chest*. 1999; 116:1575-81
68. Seals DR. Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in humans. *J Appl Physiol* 1989; 66:2472-2478.
69. Sheriff DD, Wyss CR, Rowell LB, Scher AM. Does inadequate oxygen delivery trigger pressor response to muscle hypoperfusion during exercise? *Am J Physiol* 1987; 253:H1199-H1207.
70. Sinoway Li, Li J. A perspective on the muscle reflex: implications for congestive heart failure. *J Appl Physiol* 2005; 99:5-22.
71. Sinoway LI, Prophet S, Gorman I, Mosher T, Shenberger J, Dolecki M, Briggs R, Zelis R. Muscle acidosis during static exercise is associated with calf vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1989; 66: 429-436.
72. Simon M, Leblanc P, Jobin j, Desmeules M, Sullivan MJ, Maltais F. Limitation of lower limb VO₂ during cycling exercise in COPD patients. *J Appl Physiol* 2001; 90:1013-1019.
73. Smith SA, Mitchell JH, Gary MG. The mammalian exercise pressor reflex in healthy and disease. *Exp Physiol* 2006; 91:89-102.
74. Smith SA, Williams MA, Leal AK, Mitchell JH, Garry MG. Exercise Pressor Reflex Function is Altered in Spontaneously Hypertensive Rats. *J Physiol*. 2006 (no prelo)
75. Smith SA, Williams MA, Mitchell JH, Mammen PP, Garry MG. The capsaicin-sensitive afferent neuron in skeletal muscle is abnormal in heart failure. *Circulation*. 2005; 111:2056-65.

76. Sterns DA, Ettinger SM, Gray KS, Whisler SK, Mosher TJ, Smith MB, Sinoway LI. Skeletal muscle metaboreceptor responses are attenuated in heart failure. *Circulation* 1991; 84:2034-2039.
77. Stewart AG, Waterhouse JC, Howard P. Cardiovascular autonomic nerve function in patients with hypoxaemic chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 1991; 4:1207-14.
78. Tada H, Kato H, Misawa T, Sasaki F, Hayashi S, Hayashi T, Kutsumi Y, Ishizaki T, Nakai T, Miyabo S. ³¹P-nuclear magnetic resonance evidence of abnormal skeletal muscle metabolism with in patients with chronic lung disease and congestive heart failure. *Eur Respir J* 1992; 5:163-169.
79. Van Helvoort H, van de Pol M, Heijdra Y, Dekhuijzen PN. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 1555-1567.
80. Victor RG, Bertocci LA, Pryor SL, Nunnally RL. Sympathetic nerve discharge is coupled to muscle cell pH during exercise in humans. *J Clin Invest* 1988; 82:1301-1305.
81. Vissing J, MacLean DA, Vissing SE, Sander M, Saltin B, Haller RG. The exercise metaboreflex is maintained in the absence of muscle microdialysis in humans with Mcardle's disease. *J Physiol* 2001; 537:641-649.
82. Volterrani M, Scalvini S, Mazzuero G, Lanfranchi P, Colombo R, Clark AL, Levi G. Decreased heart rate variability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest*. 1994; 106:1432-7.
83. Wallin BG, Victor RG, Mark AL. Sympathetic outflow to resting muscles during static handgrip and postcontraction muscle ischemia. *Am J Physiol* 1989; 256:H105-H110.

84. Whinttom F, Jobin J, Simard PM, LeBlanc P, Simard C, Bernard S, Belleau R, Maltais F. Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in COPD patients: comparison with normal subjects and effects of exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:1467-1474.

Capítulo II

Atenuação do metaboreflexo muscular em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica

INTRODUÇÃO

Está bem estabelecido que os ajustes cardiovasculares ao exercício estático são parcialmente mediados pela ativação de fibras aferentes mecanossensitivas e metabossensitivas nos músculos esqueléticos ativos (1). Especificamente, a estimulação de fibras aferentes metabossensitivas por produtos da contração muscular provoca um potente aumento na atividade do sistema nervoso simpático e uma conseqüente resposta pressórica, fenômeno conhecido como metaboreflexo muscular (1,2). Foi postulado que a função primária desse reflexo é corrigir o desequilíbrio entre o fluxo sanguíneo e o metabolismo no músculo isquêmico em exercício (3).

A ativação seletiva do metaboreflexo muscular em seres humanos pode ser conseguida por meio da oclusão circulatória pós-exercício (OCPE+). Nesta técnica, a interrupção da perfusão muscular, imediatamente antes do fim do exercício, aprisiona os metabólitos formados no músculo anteriormente ativo, estimulando as fibras quimiosensitivas (4,5). Embora as substâncias químicas responsáveis pela ativação específica dessas fibras aferentes ainda não estejam firmemente estabelecidas (6), um número considerável de evidências suporta o fato de que a acidose muscular está fortemente ligada às respostas de vasoconstrição simpática e pressão arterial durante o período de OCPE+ (7,8,9).

Em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), a disfunção muscular esquelética e a contribuição da mesma para a fisiopatologia da intolerância ao exercício vêm recebendo atenção especial (10). Diversos estudos têm mostrado que pacientes com DPOC possuem um menor percentual de fibras musculares do tipo I, menores níveis de ATP intracelular

e fosfocreatina e ainda redução na atividade de enzimas oxidativas (11,12,13,14,15). Durante o exercício, alguns estudos também mostraram que estes pacientes apresentam uma pronunciada acidose láctica muscular precoce (16,17). Até o momento, no entanto, não existem evidências quanto à atividade do metaboreflexo muscular nos pacientes com DPOC. Dessa forma, o propósito do presente estudo foi testar a hipótese de que pacientes com DPOC possuem respostas reflexas anormais à estimulação do metaboreflexo muscular, quando comparados a sujeitos saudáveis. Assim, nós avaliamos as respostas da pressão arterial, frequência cardíaca e hemodinâmica da perna em repouso durante o exercício estático seguido de OCPE em pacientes com DPOC e sujeitos saudáveis.

MÉTODOS

Sujeitos

Dezesseis pacientes (11 homens) com DPOC moderada a grave (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* classes II-IV) (18) participaram do estudo. Os critérios de exclusão foram: exacerbação ou infecção nas últimas 4 semanas; doença cardíaca grave ou instável, avaliada pela história médica, exame físico e eletrocardiograma de repouso e exercício; doenças neurológicas ou locomotoras, diabetes mellitus, ou hipertensão arterial não controlada. O grupo controle consistiu de 13 sujeitos saudáveis (8 homens) de idade semelhante. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética da instituição e consentimento informado foi obtido de cada indivíduo.

Protocolo

Os sujeitos compareceram ao laboratório em duas ocasiões. No primeiro dia, depois após permanecerem em repouso, por 20 min na posição supina, foram retiradas amostras de sangue

venoso para determinação da concentração plasmática de noradrenalina por meio de cromatografia líquida de alta pressão e detecção eletroquímica. Além disso, foi coletada uma amostra de sangue da artéria radial para análise dos gases arteriais (Rapidlab 865, Chiron Diagnostics, East Walpole, MA). Posteriormente, foram realizados os testes de função pulmonar e o teste cardiopulmonar de esforço sintoma-limitado. Na segunda visita, pelo menos 72 horas após os testes iniciais, os sujeitos realizaram o protocolo de avaliação da atividade do metaboreflexo muscular. Em ambos os dias, pacientes com DPOC foram instruídos a interromper o uso de agonistas- β_2 inalatórios de ação rápida e anticolinérgicos de ação rápida por 8 horas, assim como de agonistas- β_2 de ação lenta e teofilina por 12 horas. Em 6 pacientes com DPOC e seis sujeitos do grupo controle, a medicação anti-hipertensiva foi suspensa por pelo menos 24 horas antes da realização dos experimentos.

Teste de função pulmonar e teste cardiopulmonar de esforço

As medidas da capacidade vital forçada e volume expiratório forçado no primeiro segundo foram obtidas por meio de um espirômetro computadorizado (Eric Jaeger, GmbH, Würzburg, Germany), seguindo as recomendações da American Thoracic Society (19), e os resultados foram expressos como percentual do previsto (20). O teste de aumento progressivo de cargas sintoma-limitado foi realizado em um cicloergômetro eletromagnético (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Germany), com incrementos a cada minuto de 5-10 watts para os pacientes com DPOC e 10-15 watts para os sujeitos do grupo controle. Durante o teste, as trocas gasosas foram mensuradas continuamente, respiração-a-respiração, por um sistema validado previamente (Metalyzer 3B, CPX System, Cortex, Leipzig, Germany) (21). A frequência cardíaca (FC) foi

determinada através do eletrocardiograma de 12 derivações. Vinte minutos antes do início dos testes, os pacientes com DPOC inalaram salbutamol spray 400 µg,

Metaboreflexo muscular

O metaboreflexo muscular foi avaliado com descrito previamente (22). Brevemente, após 15 minutos de repouso, os valores basais de frequência cardíaca, pressão arterial (PA) e fluxo sanguíneo para a panturrilha (FSP) foram registrados por 3 minutos. Em seguida, foi realizado o exercício estático de preensão manual a 30% da contração voluntária máxima por 3 minutos. Nos últimos 15 segundos de exercício, um manguito pneumático foi insuflado a uma pressão supra-sistólica por 3 min (OCPE+). Após, seguindo um desenho cruzado, os sujeitos realizaram o mesmo protocolo sem oclusão circulatória (PECO-). Durante o protocolo, a FC foi monitorada pela derivação II do eletrocardiograma e a PA foi mensurada por meio da técnica auscultatória convencional. A pressão arterial média (PAM) foi calculada da seguinte forma: diastólica + $1/3(\text{sistólica} - \text{diastólica})$. O FSP foi mensurado pela pletismografia de oclusão venosa (Hokanson, TL-400, Bellevue, U.S.A.).

Análise dos dados

Os valores estão apresentados com média \pm desvio padrão. As características dos sujeitos e os dados basais foram comparados por meio do teste t de Student. As respostas hemodinâmicas ao exercício e a OCPE+/OCPE- foram comparadas por meio da análise de variância de dupla entrada para medidas repetidas, seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. A significância estatística foi aceita quando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Como mostrado na Tabela 1, os grupos tiveram idade e índice de massa corpórea similares. Os pacientes tinham, em média, obstrução ventilatória grave e reduções moderadas na PaO₂ e SaO₂ e PaCO₂ normal. Como esperado, a tolerância ao exercício foi significativamente menor nos pacientes com DPOC. Os valores basais de PAM, FSP, RVP foram similares entre os grupos.

TABELA 1: Características dos sujeitos

	Controle (n = 13)	DPOC (n = 16)
Idade, anos	62 ± 6.7	64 ± 9
Estatura, cm	168 ± 7	163 ± 9
Peso, kg	71 ± 7	68 ± 14
IMC, kg/m ²	25 ± 3	25 ± 4
Função pulmonar		
VEF ₁ , l	3.0 ± 0.5	0.9 ± 0.4*
VEF ₁ , %prev	103 ± 16	35 ± 16*
CVF, L	3.8 ± 0.6	2.3 ± 0.5*
CVF, %prev	101 ± 14	67 ± 16*
VEF ₁ /CVF	0.8 ± 0.06	0.4 ± 0.1*
PO ₂ , mmHg	-	71±9
PCO ₂ , mmHg	-	40±6
SaO ₂ , %	-	94±2
TECP		
VO ₂ pico, l/min	1.9 ± 0.6	1.1 ± 0.3*
VO ₂ pico, ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹	27 ± 7.9	15.8 ± 4.3*
VCO ₂ pico, l/min	0.9 ± 0.3	2.2 ± 0.6*
R	1.1 ± 0.07	0.9 ± 0.09*
VE pico, l/min	80.9 ± 21.8	36.2 ± 12.1*
VE/VO ₂ pico	40 ± 6	32 ± 7*
VE/VCO ₂ pico	35 ± 5	35 ± 7
FC pico, bat/min	161 ± 16	135 ± 17*
FC %prev	102 ± 10	87 ± 13*
Hemodinâmica		
PAS, mmHg	126 ± 15	126 ± 13
PAD, mmHg	79 ± 9	81 ± 7
PAM, mmHg	95 ± 9	96 ± 8
FSP, ml.min ⁻¹ .100g ⁻¹	2.9 ± 1.1	2.8 ± 0.9

RVP, units	36.6 ± 12.7	38 ± 13.7
Força de preensão manual, N	25 ± 7	30 ± 7

Definição das abreviações: DPOC = doença pulmonar obstrutiva crônica; IMC = índice de massa corpórea; TECP = teste cardiopulmonar de esforço; VO_2 = consumo de oxigênio; VCO_2 = produção de gás carbônico; R = quociente respiratório; V_E = volume minuto; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; FSP = fluxo sanguíneo na panturrilha; RVP = resistência vascular na panturrilha

Como mostrado na Figura 1, a concentração plasmática de noradrenalina foi significativamente maior nos pacientes com DPOC.

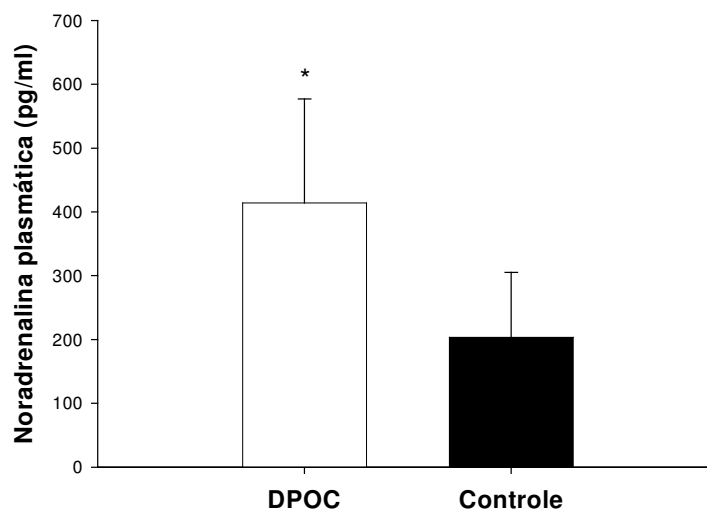


Figura 1. Média (\pm DP) da concentração plasmática de noradrenalina em pacientes com DPOC e sujeitos saudáveis. * $p < 0.01$ vs controles

As respostas da PAM, FC, FSP e RVP ao exercício de preensão manual, OCPE+/OCPE- e recuperação estão apresentadas na Figura 2.

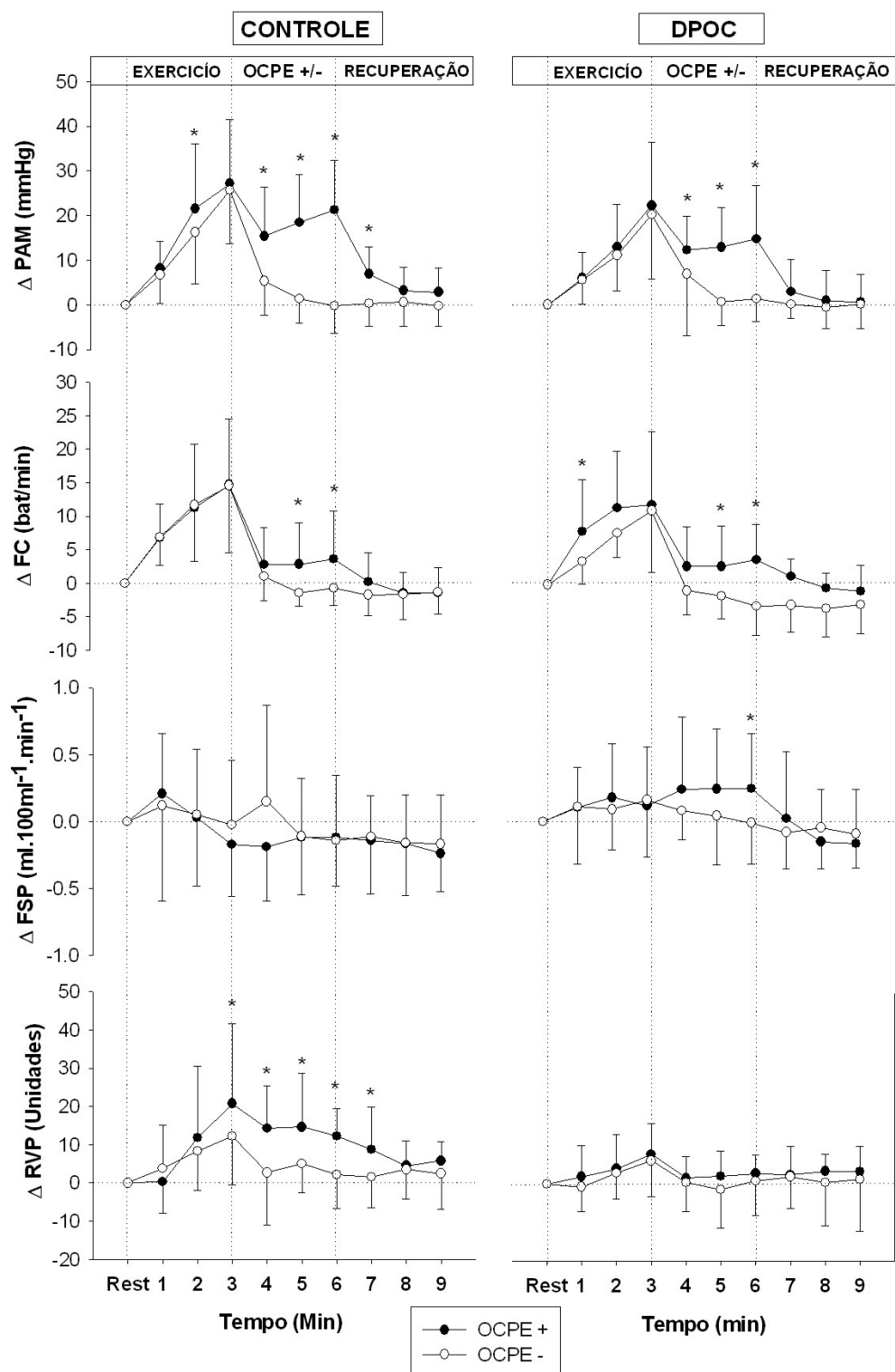


Figura 2. Respostas da pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), fluxo sanguíneo na panturrilha (FSP), e resistência vascular na panturrilha (RVP) em relação aos valores basais

durante o exercício estático de apreensão manual, durante os períodos de oclusão circulatória pós-exercício (OCPE+) ou controle (OCPE-) e durante a recuperação nos sujeitos saudáveis (painéis da esquerda) e nos pacientes com DPOC (painéis da direita). * $p < 0.05$ OCPE+ vs OCPE-

A PAM e a FC aumentaram significativamente durante o exercício e permaneceram elevadas durante a oclusão circulatória (OCPE+), quando comparado a situação controle (OCPE-) (Figura 2). As mudanças relativas aos valores basais para estas duas variáveis foram similares entre os grupos durante o exercício e OCPE+/OCPE-. O FSP não mudou significativamente em relação à linha de base em ambos os grupos nos dois protocolos. No entanto, os pacientes com DPOC exibiram um padrão de resposta distinto quando comparados aos sujeitos do grupo controle. O FSP diminuiu significativamente no final do exercício nos sujeitos saudáveis e durante todo o período de oclusão circulatória ($p < 0.05$). A RVP aumentou significativamente durante o exercício apenas no grupo controle (Figura 2). Da mesma forma, durante o período de oclusão circulatória (OCPE+), a RVP permaneceu elevada acima dos valores basais no grupo controle, enquanto que nos pacientes com DPOC, as mudanças relativas à linha de base para esta variável não foram significativas nas duas situações. Quando comparando a estimativa da diferença nas áreas sob a curva de RVP entre as duas situações (PECO+/PECO-), os pacientes com DPOC apresentaram valores menores ($p < 0.05$) comparados aos sujeitos do grupo controle (Figura 3).

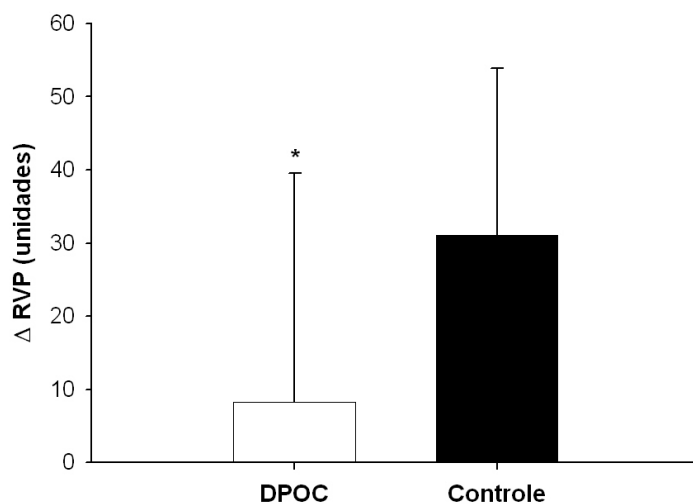


Figura 3. Estimativa do controle da resistência vascular na panturrilha (RVP) mediado pelo metaboreflexo muscular, obtido pela subtração da área sob a curva no período de oclusão circulatória (OCPE+) do período controle (OCPE-). $P < 0.05$ vs controles.

DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos os ajustes cardiovasculares ao exercício estático de preensão manual e à ativação seletiva do metaboreflexo muscular por meio da oclusão circulatória pós-exercício em pacientes com DPOC moderada a grave. Os principais achados foram que pacientes com DPOC apresentam atenuação do aumento da resistência vascular da panturrilha durante o exercício de preensão manual e uma resposta diminuída da RVP à oclusão circulatória, quando comparados aos sujeitos saudáveis. De forma geral, estes achados fornecem evidência, pela primeira vez, em favor de uma atividade anormal do metaboreflexo muscular em pacientes com DPOC.

Está bem estabelecido que, durante o exercício estático de preensão manual, existe um aumento tempo-dependente na atividade nervosa simpática para o músculo na panturrilha em repouso, que está fortemente associado a uma conseqüente redução no FSP e um aumento pronunciado na RVP (7,23,24). Essa vasoconstrição, mediada pelo aumento na atividade simpática, atua no sentido de redistribuir o fluxo sanguíneo para os músculos em atividade (2). No nosso estudo, a RVP aumentou, em média, 38% nos sujeitos saudáveis no final do exercício, enquanto que nos pacientes com DPOC houve um aumento não significativo de apenas 20%. Essa resposta alterada foi resultado principalmente de uma resposta anormal do FSP ao exercício nos pacientes com DPOC (Fig 2). Assim, embora os mecanismos subjacentes a estas respostas não estejam claros, eles possivelmente envolvem uma redução na resposta da atividade simpática ao exercício e/ou uma atenuação da vasoconstrição mediada pela atividade simpática nos pacientes com DPOC.

As evidências disponíveis demonstram claramente que a hipóxia crônica, uma condição comum na DPOC, está associada a alterações nas respostas reflexas à ativação simpática. Heistad e colaboradores (25) demonstraram, pela primeira vez, que pacientes cronicamente hipoxêmicos tinham diminuição na resposta de vasoconstrição do antebraço à aplicação de pressão negativa de membros inferiores. Da mesma forma, diversos estudos em animais têm mostrado que a hipóxia sistêmica crônica reduz a responsividade vascular a substâncias vasoconstritoras (26,27). Mais recentemente, foi demonstrado que, no músculo em repouso de ratos expostos a hipóxia crônica, existe atenuação na vasoconstrição reflexa em resposta à estimulação nervosa simpática direta (28). Importaneamente, está também bem documentado que pacientes com DPOC apresentam diminuição na sensibilidade baroreflexa (29,30), que pode ser parcialmente revertida pela suplementação a curto prazo de oxigênio (30).

Por outro lado, é relevante considerar que a ativação simpática crônica pode também estar associada a alterações na responsividade vascular a estímulos vasoconstritores, como acontece na insuficiência cardíaca (31). Em geral, condições fisiopatológicas associadas à ativação tônica do sistema nervoso simpático e liberação de noradrenalina produzem uma dessensibilização da sinalização α -adrenérgica promovida por estimulação agonista (32). Atenção considerável vem sendo dada ao potencial envolvimento da ativação neuro-humoral na fisiopatologia da DPOC (33). De fato, uma evidência direta de ativação simpática marcante, obtida por meio do registro da microneurografia em pacientes com DPOC, quando comparados a sujeitos controles, foi obtida recentemente (34). Em acordo com achados prévios (35,36), nossos pacientes com DPOC tiveram maiores níveis basais de noradrenalina plasmática que os sujeitos do grupo controle (Fig 1), compatível com ativação tônica do sistema nervoso simpático. Neste contexto, é possível especular que a hipóxia a longo prazo e a ativação simpática sobreposta podem levar à atenuação da reatividade vascular nestes pacientes, o que potencialmente poderia explicar nossos achados de diminuição nas respostas da RVP no membro em repouso durante o exercício. Contudo, mais estudos são necessários no sentido de esclarecer a interação entre estes fatores e a redução na responsividade vascular muscular ao exercício na DPOC.

Uma segunda explicação possível para atenuação da resposta reflexa da RVP nos pacientes com DPOC é uma eventual redução na resposta de ativação simpática no exercício nestes pacientes. De fato, embora nós não tenhamos medido a atividade nervosa simpática para o músculo, é possível considerar que a maior ativação simpática em repouso nestes pacientes poderia limitar a resposta ao exercício, devido a um “efeito teto”, resultando então na diminuição da vasoconstrição mediada na RVP. Interessantemente, no entanto, nossos pacientes tiveram valores basais de RVP similares aos sujeitos controles e, mais importante, tiveram uma resposta

pressórica preservada ao exercício estático de preensão manual. A visão prevalente sustenta que a resposta da pressão arterial ao exercício estático é determinada principalmente pela ativação simpática retardada, após uma contribuição inicial do comando central e da estimulação das fibras aferentes mecanossensíveis (2). Assim, por inferência, parece razoável sugerir que a ativação simpática estava ao menos parcialmente preservada nos pacientes com DPOC e que este mecanismo não parece ser o responsável pelas respostas observadas.

O achado mais notável do presente estudo foi a resposta diminuída da RVP durante a OCPE+ nos pacientes com DPOC, quando comparados aos sujeitos do grupo controle (Fig 2). Durante a OCPE+, é possível isolar a influência da estimulação das fibras metabossensíveis de outros reflexos aferentes e do comando central (4). Assim, como visto nos sujeitos saudáveis do grupo controle, a ativação do metaboreflexo muscular durante a oclusão circulatória leva a uma vasoconstrição mediada pelo sistema simpático no membro em repouso, mantendo a RVP acima dos níveis basais. Em contraste, nos pacientes com DPOC, a mudança na RVP em relação aos níveis basais foi apenas discreta durante a OCPE+, o que é compatível com um controle atenuado da RVP mediado pelo metaboreflexo muscular (Fig 3).

Tem sido sugerido que o metabolismo oxidativo nos músculos esqueléticos está significativamente atenuado nos pacientes com DPOC em repouso e mais notavelmente durante o exercício (10,17). Estudos que utilizaram a espectroscopia por ressonância nuclear magnética demonstraram que pacientes com DPOC apresentam um decréscimo acima do normal no pH muscular e na razão fosfocreatina/fosfato inorgânico durante o exercício de preensão manual, consistente com uma mudança no metabolismo energético muscular em favor da glicólise anaeróbica (16,37). Nessas condições, seria esperado uma ativação prematura e pronunciada das fibras aferentes metabossensíveis durante o exercício e durante a oclusão circulatória em pacientes com DPOC, levando a hiperativação do metaboreflexo muscular. Ao contrário,

observamos uma resposta atenuada e não hiperativa. As razões para esta aparente discrepância não estão claras neste momento. Contudo, é possível hipotetizar, como sugerido em pacientes com insuficiência cardíaca (38), que as fibras aferentes metabossensíveis estão desensibilizadas nestes pacientes, quando comparadas aos sujeitos saudáveis.

Embora controverso (39), diversos estudos têm demonstrado que as respostas reflexas à ativação seletiva do metaboreflexo muscular pela OCPE+ após o exercício de preensão manual estão atenuadas em pacientes com insuficiência cardíaca (22,38,40). Presumivelmente, considerando as importantes similaridades na fisiopatologia da disfunção muscular esquelética na DPOC e na insuficiência cardíaca (41), algumas das causas responsáveis pela atividade anormal do metaboreflexo muscular podem ser similares nas duas doenças. Nesse contexto, é possível especular que a exposição crônica à hipóxia, acidificação, e stress oxidativo muscular aumentado (42) podem levar à desensibilização das fibras aferentes quimiosensíveis nos pacientes com DPOC, levando à atenuação das respostas a ativação do metaboreflexo muscular. No entanto, mais estudos são necessários para investigar os mecanismos dessa disfunção reflexa, bem como da relação entre esta anormalidade e a já bem documentada disfunção muscular na DPOC.

Em conclusão, este estudo demonstra que pacientes com DPOC apresentam redução na resposta da resistência vascular na panturrilha ao exercício estático de preensão manual e à ativação seletiva do metaboreflexo muscular, quando comparados a sujeitos saudáveis, achado que é consistente com uma atenuação da atividade do metaboreflexo muscular. Mais estudos devem ser feitos para se elucidar as causas intrínsecas da atenuação da atividade do metaboreflexo muscular na DPOC e o potencial impacto dessa alteração na fisiopatologia da intolerância ao exercício nesta doença.

Referências:

1. Kaufman MP, Foster HV. Reflexes controlling circulatory, ventilatory and airway response to exercise. Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems, 1996, ed. Rowell LB & Sheperd JT, pp.381-447. Oxford University Press, New York.
2. Rowell LB, O'Leary DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 1990; 69:407-418.
3. Rowell LB, Sheriff DD. Are muscle "chemoreflexes" functionally important? *News Physiol Sci* 1988; 3:250-253.
4. Wallin BG, Victor RG, Mark AL. Sympathetic outflow to resting muscles during static handgrip and postcontraction muscle ischemia. *Am J Physiol* 1989; 256:H105-H110.
5. Hansen J, Thomas GD, Jacobsen TN, Victor RG. Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1994; 266: H2508-H2514.
6. Sinoway Li, Li J. A perspective on the muscle reflex: implications for congestive heart failure. *J Appl Physiol* 2005; 99:5-22.
7. Sinoway LI, Prophet S, Gorman I, Mosher T, Shenberger J, Dolecki M, Briggs R, Zelis R. Muscle acidosis during static exercise is associated with calf vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1989; 66: 429-436.
8. Victor RG, Bertocci LA, Pryor SL, Nunnally RL. Sympathetic nerve discharge is coupled to muscle cell pH during exercise in humans. *J Clin Invest* 1988; 82:1301-1305.

9. Nishiyasu T, Ueno H, Nishiyasu M, Tan N, Morimoto K, Morimoto A, Deguchi T, Murakami N. Relationship between mean arterial pressure and muscle cell pH during forearm ischemia after sustained handgrip. *Acta Physiol Scand* 1994; 151:143-148.
10. American Thoracic Society /European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159(Suppl):S1-S40.
11. Jakobsson PL, Jordfeldt I, Brunden A. Skeletal muscle metabolites and fiber types in patients with advanced chronic obstructive pulmonary disease (COPD), with and without chronic respiratory failure. *Eur Respir J* 1990; 3:192-196.
12. Whinttom F, Jobin J, Simard PM, LeBlanc P, Simard C, Bernard S, Belleau R, Maltais F. Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in COPD patients: comparison with normal subjects and effects of exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:1467-1474.
13. Allaire J, Maltais F, Doyon J-F, Noel M, LeBlanc P, Carrier G, Simard C, Jobin J. Peripheral muscle endurance and the oxidative profile of the quadriceps in patients with COPD. *Thorax* 2004; 59:673-678.
14. Maltais F, LeBlanc P, Whinttom F, Simard C, Marquis K, Bélanger M, Breton M, Jobin J. Oxidative enzyme activities of the vastus lateralis muscle and the functional status in patients with COPD. *Thorax* 2000; 55:848-853.
15. Fiaccadori E, Canale SD, Vitali P, Coffrini E, Ronda N, Guariglia A. Skeletal muscle energetics, acid-base equilibrium and lactate metabolism in patients with severe hypercapnia and hypoxemia. *Chest* 1987; 92:883-887.

16. Kutsuzawa T, Shioya S, Kurita D, Haida M, Ohta Y, Yamabayashi H. ^{31}P -NMR study of skeletal muscle metabolism in patients with chronic respiratory impairment. *Am Rev Resp Dis* 1992; 146:1019-1024.
17. Maltais F, Simard A, Simard C, Jobin J, Desganés P, LeBlanc P. Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in normal subjects and in patients with COPD. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153:288-293.
18. Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Lung Disease (GOLD) Workshop Summary. *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 163:1256-1276.
19. American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-1136.
20. Knudson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. The maximal expiratory flow-volume curve. Normal standards, variability, and effects of age. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113:587-600.
21. 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.
22. Kon H, Nakamura M, Arakawa N, Hiramori K. Muscle metaboreflex is blunted with reduced vascular resistance response of nonexercised limb in patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 2004; 10: 503-510.
23. Seals DR. Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in humans. *J Appl Physiol* 1989; 66:2472-2478.
24. Saito M, Mano T, Iwase S. Changes in muscle sympathetic nerve activity and calf blood flow during static handgrip exercise. *Eur J Appl Physiol* 1990; 60:277-281.

25. Heistad DD, Abboud FM, Mark AL, Schmid PG. Impaired reflex vasoconstriction in chronically hypoxemic patients. *J Clin Invest* 1972; 51: 331-337.
26. Doyle MP, Walker BR. Attenuation of systemic vasoreactivity in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol* 1991; 260:R1114-R1122.
27. Bartlett IS, Marshall JM. Effects of chronic systemic hypoxia on contraction evoked by noradrenaline in the rat iliac artery. *Exp Physiol* 2003; 88:497-507.
28. Coney AM, Bishay M, Marshall JM. Influence of endogenous nitric oxide on sympathetic vasoconstriction in normoxia, acute and chronic systemic hypoxia in the rat. *J Physiol* 2004; 555:793-804.
29. Patakas D, Louridas G, Kakavelas E. Reduced baroreceptor sensitivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1982; 37:292-295.
30. Bartels M, Gonzalez j, Kim W, De Meersman R. Oxygen supplementation and cardiac-autonomic modulation in COPD. *Chest* 2000; 118:691-696.
31. Feng Q, Sun X, Lu X, Edvinsson L, Hedner T. Decreased responsiveness of vascular postjunctional α_1 -, α_2 – adrenoceptors and neuropeptide Y1 receptors in rats with heart failure. *Acta Physiol Scand* 199; 166:285-291.
32. Seals DR, Dinunno FA. Collateral damage: cardiovascular consequences of chronic sympathetic activation with human aging. *Am J Physiol* 2004; 287:H1895-1905.
33. Andreas S, Anker SD, Scalon PD, Somers VK. Neurohumoral activation as a linck to systemic manifestations of chronic lung disease. *Chest* 2005; 128:3618-3624.
34. Heindl S, Lehnert M, Criée CP, et al. Marked sympathetic activation in patients with chronic respiratory failure. *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 164:597-601.

35. Hofford JM, Milakofsky L, Vogel WH, et al. The nutritional status in advanced emphysema associated with chronic bronchitis: a study of amino acid and catecholamine levels. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:902-908.
36. Van Helvoort H, van de Pol M, Heijdra Y, Dekhuijzen PN. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 1555-1567.
37. Tada H, Kato H, Misawa T, Sasaki F, Hayashi S, Hayashi T, Kutsumi Y, Ishizaki T, Nakai T, Miyabo S. ³¹P-nuclear magnetic resonance evidence of abnormal skeletal muscle metabolism with in patients with chronic lung disease and congestive heart failure. *Eur Respir J* 1992; 5:163-169.
38. Sterns DA, Ettinger SM, Gray KS, Whisler SK, Mosher TJ, Smith MB, Sinoway LI. Skeletal muscle metaboreceptor responses are attenuated in heart failure. *Circulation* 1991; 84:2034-2039.
39. Smith SA, Mitchell JH, Gary MG. The mammalian exercise pressor reflex in healthy and disease. *Exp Physiol* 2006; 91:89-102.
40. Negrão CE, Rondin MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barreto AC, Krieger EM, Middlekauff HR. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol* 2001; 208:H1286-H1292.
41. Gosker HR, Wouters EF, Vusse GJ, Schols AM. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure: underlying mechanisms and therapy perspectives. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1033-1047.
42. Michaud A, LeBlanc P, Hayot M, Préfaut C. Hypoxaemia enhances peripheral muscle oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005; 60:834-841.

Anexo I

Blunted muscle metaboreflex control in patients with chronic obstructive pulmonary disease

**BRUNO T. ROSEGUINI, CRISTIANO N. ALVES, GASPAR R. CHIAPPA,
RICARDO STEIN, MARLI M. KNORST, JORGE P. RIBEIRO**

Cardiology and Pulmonary Divisions, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and Department of Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

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

Running title: Muscle metaboreflex in COPD

Descriptor: 146 – Respiratory pathophysiology – exercise

Word count for the body of the manuscript: 2209

Key words: blood flow, exercise, metaboreceptors

Impact of research: In this study we report, for the first time, that patients with chronic obstructive pulmonary disease have a reduced vascular response to handgrip exercise and to selective activation of muscle metaboreflex when compared with healthy subjects, consistent with an attenuated muscle metaboreflex activity. These findings add to the understanding of the pathophysiology of the limitation of functional capacity of patients with chronic obstructive lung disease.

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

ABSTRACT (word count 245)

Rationale. Abnormal skeletal muscle function is well documented in chronic obstructive pulmonary disease, but there is no information about the activity of muscle metabosensitive afferents.

Objective. To test the hypothesis that patients with chronic obstructive pulmonary disease have abnormal reflex responses to stimulation of metabosensitive afferents in skeletal muscle when compared with healthy-matched subjects.

Methods, Measurements, and Main Results. In 16 patients with moderate-to-severe chronic obstructive pulmonary disease and 13 healthy control subjects of similar age, we evaluated heart rate, mean blood pressure, calf blood flow, and calf vascular resistance responses to static handgrip exercise at 30% of maximal voluntary contraction, followed by recovery with or without circulatory occlusion. Muscle metaboreflex control of calf vascular resistance was estimated by subtracting the area under the curve with circulatory occlusion from the area under the curve without circulatory occlusion. Mean blood pressure and heart responses were similar in patients and controls during exercise and recovery. In the control group, calf vascular resistance increased significantly during exercise and remained elevated above baseline during circulatory occlusion, whereas in patients changes from rest were not significantly different in both trials. Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance was significantly reduced in the patients (Controls: 31 ± 22 units, Patients: 8 ± 31 units, $p < 0.05$).

Conclusion. Patients with chronic obstructive pulmonary disease have a reduced calf vascular resistance response to handgrip exercise and to selective activation of muscle metaboreflex when compared with healthy subjects, consistent with an attenuated muscle metaboreflex activity.

It is well recognized that cardiovascular adjustments to static exercise are partially mediated by activation of mechanosensitive and metabosensitive afferents within the active skeletal muscle (1). Specifically, stimulation of metabosensitive afferents by products of muscle contraction evokes a powerful increase in sympathetic nervous system activity and a consequent pressor response known as the muscle metaboreflex (1,2). It is postulated that the primary function of this reflex is to correct a mismatch between blood flow and metabolism in ischemic exercising muscle (3).

Selective activation of muscle metaboreflex in humans can be achieved by post-exercise circulatory occlusion (PECO+). In this technique, interruption of perfusion immediately before the termination of exercise is thought to trap metabolites within the formerly active muscle, thus stimulating chemosensitive fibers (4,5). Although the specific chemical products that activate these metabosensitive afferents remain controversial (6), considerable evidence supports the notion that muscle acidosis is strictly linked to sympathetic vasoconstriction and blood pressure responses during PECO+ (7,8,9).

In patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), skeletal muscle dysfunction and its contribution to the pathophysiology of exercise intolerance is a matter of extensive investigation (10). Several studies have shown that patients with COPD have lower percentage of type I muscle fibers, lower levels of intracellular ATP and phosphocreatine, along with reduced activity of oxidative enzymes (11,12,13,14,15). During exercise, some studies have also shown that these patients develop faster and greater muscular lactic acidosis (16,17). At present, however, no evidence exists concerning the activity of muscle metaboreflex in patients with COPD. Accordingly, the purpose of the present study was to test the hypothesis that patients with COPD have abnormal reflex responses to stimulation of metabosensitive afferents in

skeletal muscle when compared with healthy-matched subjects. Thus, we evaluated blood pressure, heart rate and resting limb haemodynamic responses to static exercise followed by PECO+ in patients with COPD and healthy controls.

METHODS

Subjects

Sixteen patients (11 men) with moderate to severe COPD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease classes II-IV) (18) participated in the study. Exclusion criteria were: exacerbation or infection in the past 4 weeks; severe or unstable cardiac disease revealed by medical history, physical examination, and resting as well as exercise electrocardiogram; locomotor or neurological disease, diabetes mellitus, or uncontrolled hypertension. The control group consisted of 13 (8 men) healthy age-matched subjects. The research protocol was approved by the institutional ethics committee and signed informed consent was obtained from each individual.

Protocol

Subjects came to the laboratory for two visits. On day 1, after individuals had spent 20 min of quiet rest in the supine position, venous blood samples were drawn for plasma norepinephrine determination by high-pressure liquid chromatography and electrochemical detection. In addition, arterial blood was drawn from the radial artery for blood gas analysis (Rapidlab 865, Chiron Diagnostics, East Walpole, MA). Later, pulmonary function test and symptom-limited cardiopulmonary exercise test were performed. In the second visit, at least 72 hours after the tests, subjects performed the protocol for the evaluation of muscle metaboreflex activity. In both days, patients with COPD were asked to withdrawn from inhaled short-acting β_2 -agonists and

short-acting anticholinergic agents for 8 hours, as well as long-acting β_2 -agonists and theophylline for 12 hours. In addition, in 6 patients and 6 control subjects, antihypertensive medication was withheld for at least 24 hours before the study.

Pulmonary Function and Cardiopulmonary Exercise Tests

Measurements of forced vital capacity and forced expiratory volume in 1 second were obtained with a computerized spirometer (Eric Jaeger, GmbH, Würzburg, Germany) as recommended by American Thoracic Society (19), and results were expressed as percentage of predicted (20). Symptom-limited incremental exercise test was performed on an electrically braked cycle ergometer (ER-900, Ergoline, Jaeger, Würzburg, Germany) with minute increments of 5-10 watts for COPD patients and 10-15 watts for healthy controls. During the test gas exchange was measured breath-by-breath by a previously validated system (Metalyzer 3B, CPX System, Cortex, Leipzig, Germany) (21). Heart rate (HR) was determined from a 12 lead electrocardiogram. Salbutamol, spray 400 μg , was inhaled 20 minutes before the tests in patients with COPD.

Muscle Metaboreflex

Muscle metaboreflex was evaluated as described elsewhere (22). In short, after 15 min of rest, baseline data for HR, blood pressure (BP) and calf blood flow (CBF) were collected over 3 min. Static handgrip exercise was then performed at the intensity of 30% of maximal voluntary contraction for 3 min. During the last 15 s of exercise, a pneumatic cuff on the upper arm was inflated to suprasystolic pressure for 3 min (PECO+). In addition, in a crossover design, subjects performed the same protocol without circulatory occlusion (PECO-). During the protocol, HR

was monitored by lead II of the electrocardiogram and BP was measured using standard auscultatory technique. Mean blood pressure (MBP) was calculated as diastolic + 1/3 (systolic – diastolic). CBF was measured by venous occlusion plethysmography (Hokanson, TL-400, Bellevue, U.S.A.).

Data Analysis

Values are reported as mean \pm SD. Subjects' characteristics and baseline data were compared by Student's t-test. Hemodynamic responses to exercise and to PECO+/PECO- were compared by analysis of variance for repeated measures and Tukey-Kramer's *post hoc* for pairwise comparisons. Significance was accepted when $p < 0.05$.

RESULTS

As shown in Table 1, groups had similar age and body mass index. Patients had severe ventilatory obstruction and mild reduction in resting PaO₂ and SaO₂ but normal PaCO₂. As expected, exercise tolerance was markedly reduced in COPD patients. Baseline MBP, CBF and CVR were similar between the two groups. As shown in Figure 1, plasma norepinephrine was significantly higher in COPD patients.

MBP, HR, CBF, and CVR responses to handgrip exercise, PECO+/PECO- and recovery are shown in Figure 2. MBP and HR increased significantly during exercise and remained elevated during circulatory occlusion (PECO+) when compared with control trial (PECO-) (Figure 2). Changes from baseline for both variables were similar between groups during the exercise part of the protocol. CBF did not change significantly from baseline in the two trials in both groups. However, patients with COPD exhibited a distinct response pattern when compared with control

subjects. CBF was significantly reduced in healthy controls at the end of exercise and during the entire circulatory occlusion period ($p < 0.05$). CVR increased significantly during exercise only in the control group (Figure 2). Likewise, during circulatory occlusion (PECO+), CVR remained elevated above baseline in the control group, whereas in the COPD patients, changes from rest were not significantly in both trials. When comparing the estimated difference in the areas under the curves of CVR between the two trials during PECO+/PECO- period, patients with COPD had lower ($p < 0.05$) changes when compared with healthy subjects (Figure 3).

DISCUSSION

In the present study we evaluated the cardiovascular adjustments to static handgrip exercise and selective activation of the muscle metaboreflex through post-exercise circulatory occlusion in patients with moderate-to-severe COPD. The major new findings are that patients with COPD present an attenuated increase in calf vascular resistance during handgrip exercise and a blunted CVR to circulatory occlusion when compared with healthy matched controls. Overall, these findings provide the first evidence for an abnormal muscle metaboreflex activity in COPD.

It is well known that during static handgrip exercise there is a time-dependent increase in muscle sympathetic nerve activity to the resting calf that is tightly coupled with a reduction in CBF and a pronounced increase in CVR (7,23,24). This sympathetic mediated vasoconstriction acts to redistribute blood flow toward exercising muscles (2). In our study, CVR increased, on average, by 38% in healthy controls at the end of exercise, whereas in patients with COPD it increased non-significantly by only 20%. This impaired response was mainly the result of an abnormal CBF response to exercise in COPD patients (Fig 2). Thus, although the mechanisms underlying this response are unclear, they likely involve a reduced sympathetic outflow response to exercise and/or a blunted sympathetic evoked vasoconstriction in COPD patients.

Available evidence clearly demonstrates that chronic hypoxia, a common condition in COPD, impairs reflex responses to sympathetic activation. Heistad et al (25) first demonstrated that chronically hypoxemic patients had a depressed forearm vasoconstriction response to lower body negative pressure. Likewise, several animal studies have shown that chronic systemic hypoxia reduces vascular responsiveness to vasoconstrictor substances (26,27). More recently, it has been demonstrated that in resting muscle of chronic hypoxic rats there is an impaired reflex vasoconstriction in response to direct sympathetic stimulation (28). Importantly, it is also well documented that patients with COPD have an abnormally reduced baroreflex sensitivity (29,30) that can be partially reversed by short-term oxygen supplementation (30).

On the other hand, it is relevant to consider that chronic sympathetic activation may also impair vascular responsiveness to vasoconstrictor stimuli, as seen in chronic heart failure (31). In general, pathophysiological states associated with tonic activation of sympathetic nervous system and release of norepinephrine produce an agonist-promoted desensitization of α -adrenergic signaling (32). Considerable attention has been paid on the potential involvement of neurohumoral activation in the pathophysiology of COPD (33). In fact, direct evidence of marked sympathetic activation thorough microneurography recordings in patients with COPD when compared with healthy subjects was recently published (34). In agreement with previous findings (35,36), our COPD patients had higher basal levels of norepinephrine than healthy controls (Fig 1), compatible with tonic activation of the sympathetic nervous system. In this context, it is possible to speculate that long-term hypoxia and superimposed chronic sympathetic activation would lead to an attenuated vascular reactivity in these patients, which could potentially explain our findings of limited CVR responses in resting limb during exercise. However, more studies are

necessary to clarify the interaction among these factors with muscle vascular responsiveness to exercise in COPD.

A second possible explanation to blunted reflex response in CVR in the COPD group is an eventual impaired sympathetic outflow increase during exercise in these patients. In fact, although we did not measure muscle sympathetic nerve activity, it is possible to consider that higher sympathetic activity at rest would limit its increment in response to exercise due to a ceiling effect, thus resulting in a decreased CVR mediated vasoconstriction. Interestingly, however, our patients had baseline values of CVR similar to control subjects and most important, a well-preserved pressor response to static handgrip exercise. The prevailing view sustains that blood pressure response to static exercise is mainly determined by a delayed sympathetic nervous system activation following an initial contribution of central command and mechanosensitive afferents fibers stimulation (2). Thus, by inference, it is reasonable to suggest that sympathetic activation was at least partially preserved in patients with COPD and this mechanism does not seem to account for the observed responses.

The most noticeable finding of this study was the reduced CVR response to PECO₂ in COPD patients when compared with healthy matched controls (Fig 2). During PECO₂ it is possible to isolate the influence of metabosensitive afferents stimulation from that of other afferent reflex effects and central command (4). As seen in the healthy control group, muscle metaboreflex activation during circulatory arrest leads to sympathetic mediated vasoconstriction in the resting limb, maintaining CVR above baseline levels. In contrast, in patients with COPD changes in CVR from baseline were only modest during PECO₂, which is compatible with an attenuated muscle metaboreflex control of CVR (Fig 3).

It has been suggested that oxidative metabolism of the skeletal muscle is significantly attenuated in patients with COPD at rest and most notably during exercise (10,17). Studies using

nuclear magnetic resonance spectroscopy have demonstrated a greater than normal decrease in muscle pH and in the ratio of phosphocreatine/Pi in COPD patients during handgrip exercise, consistent with a shift toward anaerobic glycolysis in muscle energetic metabolism (16,37). Under these conditions, it would be expected a premature and greater activation of metabosensitive afferents during exercise and circulatory arrest in patients with COPD, thus leading to overactivation of the muscle metaboreflex. Instead, we observed an attenuated rather than enhanced muscle metaboreflex activity. The reasons for this apparent discrepancy are not clear at this moment. However, it can be hypothesized, as suggested for heart failure patients (38), that metabosensitive afferents are desensitized in these patients when compared with healthy subjects.

Although controversial (39), several studies have demonstrated that reflex responses to selective activation of muscle metaboreflex by PECO₂ after static handgrip are blunted in patients with chronic heart failure (22,38,40). Presumably, considering the important similarities in the pathophysiology of skeletal muscle dysfunction in COPD and chronic heart failure (41), some of the causes underlying abnormal muscle metaboreflex activity may be similar in these two diseases. In this context, it is possible to speculate that chronic exposure to hypoxia, acidification, and enhanced muscle oxidative stress (42) would lead to desensitization of chemosensitive afferents in patients with COPD, thus leading to attenuated responses to muscle metaboreflex activation. However, more studies are necessary to investigate the mechanisms of this reflex dysfunction as well as the relationship between this abnormality and the well documented impaired skeletal muscle function in COPD

In conclusion, this study demonstrates that patients with COPD have a reduced calf vascular resistance response to handgrip exercise and to selective activation of muscle metaboreflex when compared with healthy subjects, consistent with an attenuated muscle metaboreflex activity. Further studies should be done to address the intrinsic causes of blunted muscle metaboreflex

activity in COPD and the potential impact of this on the pathophysiology of exercise intolerance in this disease.

Acknowledgments: We are grateful to Graziella Aliti, RN, MSc, and Eneida R. Rabelo, RN, ScD, for their careful technical expertise and assistance.

References:

1. Kaufman MP, Foster HV. Reflexes controlling circulatory, ventilatory and airway response to exercise. Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems, 1996, ed. Rowell LB & Sheperd JT, pp.381-447. Oxford University Press, New York.
2. Rowell LB, O'Leary DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 1990; 69:407-418.
3. Rowell LB, Sheriff DD. Are muscle "chemoreflexes" functionally important? *News Physiol Sci* 1988; 3:250-253.
4. Wallin BG, Victor RG, Mark AL. Sympathetic outflow to resting muscles during static handgrip and postcontraction muscle ischemia. *Am J Physiol* 1989; 256:H105-H110.
5. Hansen J, Thomas GD, Jacobsen TN, Victor RG. Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1994; 266: H2508-H2514.
6. Sinoway Li, Li J. A perspective on the muscle reflex: implications for congestive heart failure. *J Appl Physiol* 2005; 99:5-22.
7. Sinoway LI, Prophet S, Gorman I, Mosher T, Shenberger J, Dolecki M, Briggs R, Zelis R. Muscle acidosis during static exercise is associated with calf vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1989; 66: 429-436.
8. Victor RG, Bertocci LA, Pryor SL, Nunnally RL. Sympathetic nerve discharge is coupled to muscle cell pH during exercise in humans. *J Clin Invest* 1988; 82:1301-1305.

9. Nishiyasu T, Ueno H, Nishiyasu M, Tan N, Morimoto K, Morimoto A, Deguchi T, Murakami N. Relationship between mean arterial pressure and muscle cell pH during forearm ischemia after sustained handgrip. *Acta Physiol Scand* 1994; 151:143-148.
10. American Thoracic Society /European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159(Suppl):S1-S40.
11. Jakobsson PL, Jordfeldt I, Brunden A. Skeletal muscle metabolites and fiber types in patients with advanced chronic obstructive pulmonary disease (COPD), with and without chronic respiratory failure. *Eur Respir J* 1990; 3:192-196.
12. Whinttom F, Jobin J, Simard PM, LeBlanc P, Simard C, Bernard S, Belleau R, Maltais F. Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in COPD patients: comparison with normal subjects and effects of exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:1467-1474.
13. Allaire J, Maltais F, Doyon J-F, Noel M, LeBlanc P, Carrier G, Simard C, Jobin J. Peripheral muscle endurance and the oxidative profile of the quadriceps in patients with COPD. *Thorax* 2004; 59:673-678.
14. Maltais F, LeBlanc P, Whinttom F, Simard C, Marquis K, Bélanger M, Breton M, Jobin J. Oxidative enzyme activities of the vastus lateralis muscle and the functional status in patients with COPD. *Thorax* 2000; 55:848-853.
15. Fiaccadori E, Canale SD, Vitali P, Coffrini E, Ronda N, Guariglia A. Skeletal muscle energetics, acid-base equilibrium and lactate metabolism in patients with severe hypercapnia and hypoxemia. *Chest* 1987; 92:883-887.
16. Kutsuzawa T, Shioya S, Kurita D, Haida M, Ohta Y, Yamabayashi H. ³¹P-NMR study of skeletal muscle metabolism in patients with chronic respiratory impairment. *Am Rev Resp Dis* 1992; 146:1019-1024.

17. Maltais F, Simard A, Simard C, Jobin J, Desganés P, LeBlanc P. Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in normal subjects and in patients with COPD. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153:288-293.
18. Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Lung Disease (GOLD) Workshop Summary. *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 163:1256-1276.
19. American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-1136.
20. Knudson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. The maximal expiratory flow-volume curve. Normal standards, variability, and effects of age. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113:587-600.
21. 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.
22. Kon H, Nakamura M, Arakawa N, Hiramori K. Muscle metaboreflex is blunted with reduced vascular resistance response of nonexercised limb in patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 2004; 10: 503-510.
23. Seals DR. Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in humans. *J Appl Physiol* 1989; 66:2472-2478.
24. Saito M, Mano T, Iwase S. Changes in muscle sympathetic nerve activity and calf blood flow during static handgrip exercise. *Eur J Appl Physiol* 1990; 60:277-281.
25. Heistad DD, Abboud FM, Mark AL, Schmid PG. Impaired reflex vasoconstriction in chronically hypoxemic patients. *J Clin Invest* 1972; 51: 331-337.
26. Doyle MP, Walker BR. Attenuation of systemic vasoreactivity in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol* 1991; 260:R1114-R1122.

27. Bartlett IS, Marshall JM. Effects of chronic systemic hypoxia on contraction evoked by noradrenaline in the rat iliac artery. *Exp Physiol* 2003; 88:497-507.
28. Coney AM, Bishay M, Marshall JM. Influence of endogenous nitric oxide on sympathetic vasoconstriction in normoxia, acute and chronic systemic hypoxia in the rat. *J Physiol* 2004; 555:793-804.
29. Patakas D, Louridas G, Kakavelas E. Reduced baroreceptor sensitivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1982; 37:292-295.
30. Bartels M, Gonzalez j, Kim W, De Meersman R. Oxygen supplementation and cardiac-autonomic modulation in COPD. *Chest* 2000; 118:691-696.
31. Feng Q, Sun X, Lu X, Edvinsson L, Hedner T. Decreased responsiveness of vascular postjunctional α_1 -, α_2 – adrenoceptors and neuropeptide Y1 receptors in rats with heart failure. *Acta Physiol Scand* 199; 166:285-291.
32. Seals DR, Dinunno FA. Collateral damage: cardiovascular consequences of chronic sympathetic activation with human aging. *Am J Physiol* 2004; 287:H1895-1905.
33. Andreas S, Anker SD, Scalon PD, Somers VK. Neurohumoral activation as a link to systemic manifestations of chronic lung disease. *Chest* 2005; 128:3618-3624.
34. Heindl S, Lehnert M, Criée CP, et al. Marked sympathetic activation in patients with chronic respiratory failure. *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 164:597-601.
35. Hofford JM, Milakofsky L, Vogel WH, et al. The nutritional status in advanced emphysema associated with chronic bronchitis: a study of amino acid and catecholamine levels. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:902-908.
36. Van Helvoort H, van de Pol M, Heijdra Y, Dekhuijzen PN. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 1555-1567.

37. Tada H, Kato H, Misawa T, Sasaki F, Hayashi S, Hayashi T, Kutsumi Y, Ishizaki T, Nakai T, Miyabo S. ³¹P-nuclear magnetic resonance evidence of abnormal skeletal muscle metabolism with in patients with chronic lung disease and congestive heart failure. *Eur Respir J* 1992; 5:163-169.
38. Sterns DA, Ettinger SM, Gray KS, Whisler SK, Mosher TJ, Smith MB, Sinoway LI. Skeletal muscle metaboreceptor responses are attenuated in heart failure. *Circulation* 1991; 84:2034-2039.
39. Smith SA, Mitchell JH, Gary MG. The mammalian exercise pressor reflex in healthy and disease. *Exp Physiol* 2006; 91:89-102.
40. Negrão CE, Rondin MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barreto AC, Krieger EM, Middlekauff HR. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol* 2001; 208:H1286-H1292.
41. Gosker HR, Wouters EF, Vusse GJ, Schols AM. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure: underlying mechanisms and therapy perspectives. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1033-1047.
42. Michaud A, LeBlanc P, Hayot M, Préfaut C. Hypoxaemia enhances peripheral muscle oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005; 60:834-841.

Figure Legends

Figure 1. Mean (\pm SD) plasma norepinephrine concentrations in patients with COPD and healthy controls. * $p < 0.01$ vs controls

Figure 2. Mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), calf blood flow (CBF), and calf vascular resistance (CVR) changes from baseline during static handgrip exercise, post-exercise circulatory occlusion (PECO+) or control (PECO-) periods and recovery in healthy subjects (left panels) and in patients with COPD (right panels). * $p < 0.05$ PECO+ vs PECO-

Figure 3. Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance (CVR), obtained by the subtraction of the area under the curve in circulatory occlusion period (PECO+) from control period (PECO-). $P < 0.05$ vs controls.

TABLE 1: SUBJECTS CHARACTERISTICS

	Control (n = 13)	COPD (n = 16)
Age, yr	62 ± 6.7	64 ± 9
Height, cm	168 ± 7	163 ± 9
Weight, kg	71 ± 7	68 ± 14
BMI, kg/m ²	25 ± 3	25 ± 4
Pulmonary function		
FEV ₁ , l	3.0 ± 0.5	0.9 ± 0.4*
FEV ₁ , %pred	103 ± 16	35 ± 16*
FVC, L	3.8 ± 0.6	2.3 ± 0.5*
FVC, %pred	101 ± 14	67 ± 16*
FEV1/FVC	0.8 ± 0.06	0.4 ± 0.1*
PO ₂ , mmHg	-	71±9
PCO ₂ , mmHg	-	40±6
SaO ₂ , %	-	94±2
CPET		
VO ₂ peak, l/min	1.9 ± 0.6	1.1 ± 0.3*
VO ₂ peak, ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹	27 ± 7.9	15.8 ± 4.3*
VCO ₂ peak, l/min	0.9 ± 0.3	2.2 ± 0.6*
R	1.1 ± 0.07	0.9 ± 0.09*
VE peak, l/min	80.9 ± 21.8	36.2 ± 12.1*
VE/VO ₂ peak	40 ± 6	32 ± 7*
VE/VCO ₂ peak	35 ± 5	35 ± 7
HR peak, beats/min	161 ± 16	135 ± 17*
HR %pred	102 ± 10	87 ± 13*
Hemodynamics		
SBP, mmHg	126 ± 15	126 ± 13
DBP, mmHg	79 ± 9	81 ± 7
MBP, mmHg	95 ± 9	96 ± 8
CBF, ml.min ⁻¹ .100g ⁻¹	2.9 ± 1.1	2.8 ± 0.9
CVR, units	36.6 ± 12.7	38 ± 13.7
Handgrip Force, N	25 ± 7	30 ± 7

Definition of abbreviations: COPD = chronic obstructive pulmonary disease; BMI = body mass index; CPET = cardiopulmonary exercise test; VO₂ = oxygen uptake; VCO₂ = carbon dioxide output; R = respiratory exchange ratio; V_E = minute ventilation; SBP = Systolic blood pressure; DBP = Diastolic blood pressure; MBP = mean blood pressure; CBF = calf blood flow; CVR = calf vascular resistance;

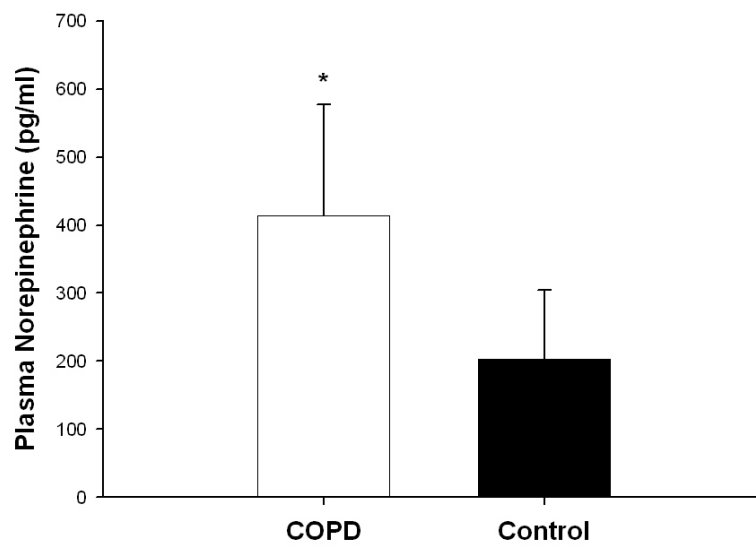
Figure 1.

Figure 2.

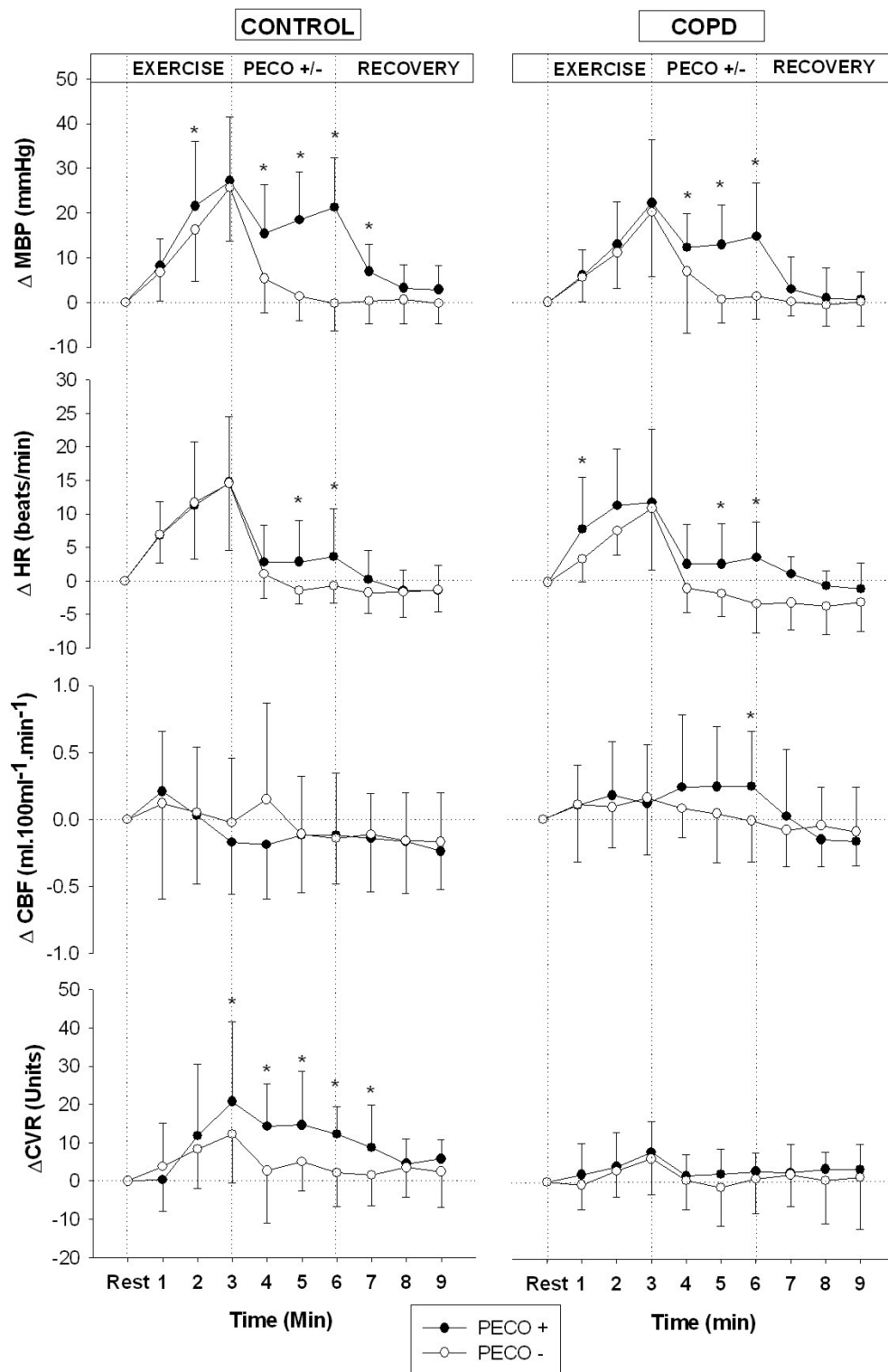
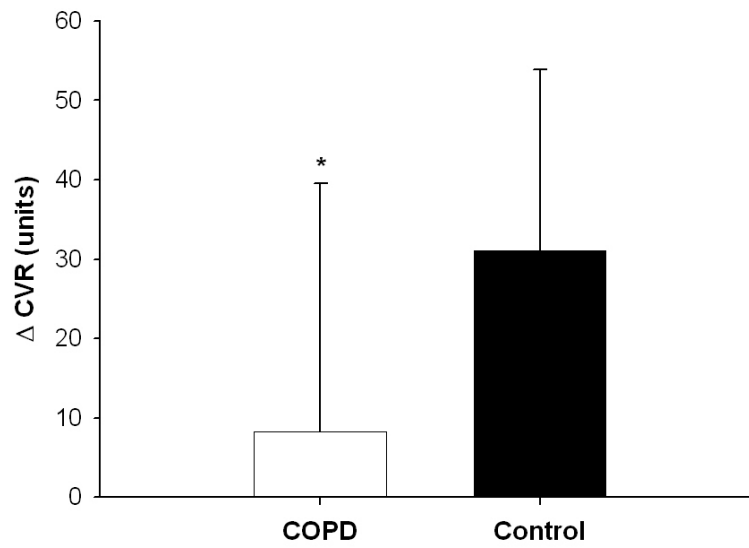


Figure 3.

Anexo II

Termo de Consentimento Informado – Esclarecido

TÍTULO: CARACTERIZAÇÃO DAS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES A INDUÇÃO DO METABOREFLEXO MUSCULAR EM PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

OBJETIVOS: A finalidade do estudo é de verificar as respostas cardiovasculares à ativação do metaboreflexo muscular em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica e compará-las com as respostas de indivíduos saudáveis.

Além disso será estudada a relação entre a atividade do metaboreflexo muscular e a capacidade de exercício e a ativação nervosa simpática em repouso em pacientes com DPOC e indivíduos saudáveis. Pretende-se, dessa forma, fornecer informações adicionais para o entendimento dos mecanismos fisiológicos responsáveis pela intolerância ao exercício na DPOC.

Pacientes: O Sr(a) será convidado a continuar em acompanhamento no ambulatório de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica deste hospital, sob os cuidados da mesma equipe especializada responsável pelo seu atendimento, no que diz respeito ao seu problema (DPOC). A partir de então realizará todas as avaliações clínicas de rotina, além dos seguintes procedimentos:

1 - Testes cardiopulmonar: esse tipo de teste consiste em avaliar sua verdadeira capacidade de exercitar-se. Deverá ser realizado em bicicleta ergométrica para poder dar melhor tranquilidade. Durante o teste poderá sentir cansaço, falta de ar, tontura, dor no peito. Quando sentir um desses sintomas o teste deverá ser imediatamente interrompido. Durante o teste, o Sr(a) estará sendo monitorizado por equipamento de eletrocardiograma, acompanhado por um médico cardiologista para evitar qualquer risco.

2 – Avaliação do metaboreflexo muscular. Neste protocolo o Sr(a) realizará exercício rítmico com a mão dominante apertando-se um dinamômetro (handgrip) por três minutos. Imediatamente antes do final do exercício será inflando um manguito no braço em exercício com o intuito de interromper a circulação para o membro. A oclusão circulatória será mantida por três minutos. Durante todo o teste será feita a monitorização da frequência cardíaca, da pressão arterial e do fluxo sanguíneo para a panturrilha. Durante a realização da oclusão circulatória é possível que o senhor sinta formigamento ou leve dor no antebraço e mão.

3 - Coleta de sangue: esse procedimento deverá ser realizado com intuito de analisar a dosagem de catecolaminas plasmáticas bem como as concentrações de albumina, cálcio, fosfato, colesterol e hemoglobina . Trata-se de um procedimento invasivo, que há necessidade de retirar uma amostra de sangue. Esse procedimento será realizado por uma enfermeira do Serviço de Cardiologia, que utilizará utensílios esterilizados e descartáveis, de modo que não venha ocorrer nenhum risco para o senhor(a).

O abaixo assinado e identificado, sob a responsabilidade do médico que assina este documento, declara ter recebido uma explicação clara e completa sobre a pesquisa acima mencionada a que se submete de livre e espontânea vontade, reconhecendo que:

- 1° - Foram explicadas as justificativas e os objetivos da pesquisa.
- 2° - Foram explicados os procedimentos que serão utilizados, incluindo os que ainda são experimentais. Junto a outros procedimentos ou testes que se fizerem necessários.
- 3° - Foram descritos os desconfortos e riscos esperados.
Os procedimentos a serem executados poderão apresentar os seguintes efeitos :

Cansaço, falta de ar e tontura, dor de cabeça ou dor no peito.
Formigamento ou dor no antebraço e mão

Caso venha sentir algum desses sintomas, acima relacionado, deverá ser informado prontamente ao pesquisador responsável **Dr. Jorge Pinto Ribeiro** no telefone número **2101 8287** no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

- 4° - Foi dada garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, sobre os meus direitos como participante do mesmo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar ao **Fisioterapeuta Bruno Tesini Roseguini** (investigador) no telefone **2101 8287**.

- 5° - Foi dada a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do Estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento.
- 6° - Foi dada a garantia de não ser identificado e de ser mantido o caráter confidencial de informação em relação à minha privacidade.
- 7° - Foi assumido o compromisso de proporcionar-me informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade em continuar participando.
- 8° - Assino o presente documento, em duas vias de igual teor, ficando uma em minha posse.

A minha assinatura neste *Consentimento Livre e Esclarecido* dará autorização ao pesquisador do estudo, ao comitê de ética desse hospital, e a organização governamental de saúde de utilizarem os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha privacidade.

Por este instrumento tomo parte voluntariamente do presente estudo

Porto Alegre, _____, _____, _____.
(dia) (mês) (ano)

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do Médico Responsável: _____

Nome do médico responsável: _____

CREMERS N°: _____

Declaro que este formulário foi lido para
(nome do paciente) em ____/____/____ (data) pelo
..... (nome do pesquisador) enquanto eu estava
presente.

Assinatura da Testemunha

Nome