



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

Alessandro da Costa Machado

**CONTROLE REFLEXO DA VENTILAÇÃO DURANTE O
EXERCÍCIO EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO REDUZIDA:
INTERAÇÃO ENTRE O QUIMIORREFLEXO CAROTÍDEO E O
METABORREFLEXO MUSCULAR**

**Niterói/RJ,
2020**

Alessandro da Costa Machado

**CONTROLE REFLEXO DA VENTILAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO
EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE
EJEÇÃO REDUZIDA: INTERAÇÃO ENTRE O QUIMIORREFLEXO
CAROTÍDEO E O METABORREFLEXO MUSCULAR**

Metaborreflexo e Quimiorreflexo

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal Fluminense, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Cardiovasculares. Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Moreira Silva
Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Lucas da Nóbrega

Niterói/RJ,

2020

Ficha catalográfica automática - SDC/BFM
Gerada com informações fornecidas pelo autor

M149c Machado, Alessandro da Costa
Controle Reflexo da Ventilação Durante o Exercício em
Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de
Ejeção Reduzida : Interação entre o Quimiorreflexo
Carotídeo e o Metaborreflexo Muscular / Alessandro da Costa
Machado ; Bruno Moreira Silva, orientador ; Antonio Claudio
Lucas da Nobrega, coorientador. Niterói, 2020.
96 f. : il.

Tese (doutorado)-Universidade Federal Fluminense, Niterói,
2020.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22409/PPGCCV.2020.d.86650912115>

1. Controle Neural da Ventilação. 2. Quimiorreflexo
Carotídeo. 3. Metaborreflexo Muscular. 4. Insuficiência
Cardíaca. 5. Produção intelectual. I. Silva, Bruno Moreira,
orientador. II. Nobrega, Antonio Claudio Lucas da,
coorientador. III. Universidade Federal Fluminense. Faculdade
de Medicina. IV. Título.

CDD -

Alessandro da Costa Machado

**CONTROLE REFLEXO DA VENTILAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO
EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE
EJEÇÃO REDUZIDA: INTERAÇÃO ENTRE O QUIMIORREFLEXO
CAROTÍDEO E O METABORREFLEXO MUSCULAR**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal Fluminense, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Cardiovasculares. Área de concentração: Cardiologia.

Aprovada em 20 de MARÇO de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bruno Moreira Silva
Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. Antonio Claudio Lucas da Nobrega
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Pedro Paulo da Silva Soares
Universidade Federal Fluminense

Prof^a. Dra. Alessandra Choqueta Arruda
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Allan Robson Kluser Sales
Instituto do Coração – Faculdade de Medicina USP

Prof^a. Dra. Renata Rodrigues Teixeira de Castro
Universidade Iguçu

Aos meus pais, Jordiano (*in memoriam*) e Maria das Graças, à minha amada esposa, Kelly Weires, aos meus irmãos, Leonardo e Murilo, e aos sobrinhos Heitor, Arthur e Esther.

AGRADECIMENTOS

A realização desse projeto teve a contribuição direta e indireta de muitas pessoas.

Primeiramente quero agradecer aos meus pais. Pela educação e orientação na minha formação como pessoa. Pelo esforço e dedicação que permitiram o acesso as melhores condições para minha formação profissional. Pelo carinho e amor incondicional recebido ao longo de minha vida, sem vocês tudo seria muito mais difícil.

Aos meus irmãos, que sempre me apoiaram em todos as etapas e projetos ao longo da vida. Muito obrigado pela convivência.

A minha querida e amada esposa. Que me incentivou e apoiou na realização e conclusão deste projeto tão importante para minha vida e para a minha carreira profissional, sem você a vida seria menos divertida. Obrigado pelas revisões no texto, por me lembrar de que precisava dormir e me retirar da frente do computador. Pelo amor, carinho e compreensão nos sobressaltos comuns da vida. Enfim, pela oportunidade de convivência nesses últimos 15 anos.

A todos os professores que contribuíram com a minha educação e formação profissional, muito obrigado.

Aos professores Bruno Silva e Antônio Cláudio pela parceria científica, e por terem apoiado a realização simultânea deste projeto com a especialização médica em cardiologia.

Aos professores Igor Fernandes, Alessandra Choqueta, Natalia Galito e Eliete Franz pelas discussões científicas no Laboratório de Ciências do Exercício.

Aos colegas e amigos contemporâneos do LACE que me ajudaram das mais diferentes formas, na coleta e análise de dados, nas revisões, na formatação de textos e apresentações, nos momentos de *happy hour*. Enfim, toda a equipe LACE, muito obrigado!

Aos colegas professores da Universidade Federal da Integração Latino Americana - UNILA pelo acolhimento e compreensão na conciliação da atividade docente ao desenvolvimento do doutorado. Aos colegas da unidade coronariana do Hospital Santa Martha pelo incentivo à conclusão deste projeto. Enfim, a todos os colegas de trabalho, muito obrigado!

Aos pacientes do ambulatório de insuficiência cardíaca do Hospital Antônio Pedro.

RESUMO

Machado, Alessandro. **Controle reflexo da ventilação durante o exercício em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida: interação entre o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular.** Tese (Doutorado em Ciências Cardiovasculares). – Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2020.

A resposta ventilatória exacerbada ao exercício é uma característica típica da insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (IC-FEr). Os distúrbios respiratórios ao exercício na IC-FEr incluem a alta frequência respiratória (Fr) com volume corrente reduzido (Vt). Esse padrão taquipneico está associado à rigidez pulmonar, alto trabalho e custo respiratório. A resposta às anormalidades respiratórias é provavelmente mediada, em parte, por uma interação complexa entre os reflexos envolvidos no controle neural da respiração, como a presença de uma resposta ventilatória (\dot{V}_E) aumentada à ativação de aferências musculares sensíveis aos metabólitos (hiper-resposta do metaborreflexo), bem como uma resposta exagerada da \dot{V}_E à inalação de ar hipóxico em repouso (hiper-resposta do quimiorreflexo carotídeo). Assim, testamos se a ativação simultânea do quimiorreflexo carotídeo e do metaborreflexo muscular gera maiores respostas respiratórias do que a soma das respostas dos reflexos isolados (ou seja, interação hiperaditiva ou sinérgica). Dez pacientes pedalarão por 4 minutos com carga de trabalho máxima de 60% e depois recuperaram passivamente por 2 minutos sob: a) a inalação de O₂ a 21% (quimiorreflexo ativo) e com circulação livre nas pernas (metaborreflexo desativado) para isolar o efeito da ativação do quimiorreflexo; b) a inalação de O₂ a 100% (quimiorreflexo desativado) com a circulação nas pernas ocluída (metaborreflexo ativado) para isolar o efeito da ativação do metaborreflexo muscular; c) a inalação de O₂ 21% (quimiorreflexo ativo) e com circulação nas pernas ocluída (metaborreflexo ativo) para ativar os dois reflexos; ou d) a inalação de O₂ a 100% (quimiorreflexo desativado) e com a circulação nas pernas livre (metaborreflexo desativado) para inativar ambos os reflexos (ou seja, condição controle). A ativação isolada dos reflexos não modificou a ventilação minuto (\dot{V}_E) e o padrão respiratório em relação à condição controle. A ativação simultânea dos reflexos não modificou o volume corrente (Vc), mas aumentou a \dot{V}_E , a Fr e diminuiu o tempo inspiratório (Ti) e o expiratório (Te) em comparação ao controle. Conseqüentemente, a ativação simultânea dos reflexos induziu maiores alterações da \dot{V}_E , Fr, Ti e Te do que a soma de alterações nos reflexos isolados. Portanto, o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular interagiram de modo hiperaditivo na regulação do padrão respiratório de pacientes com IC-FEr.

Palavras-chave. Respiração, hipóxia, oclusão circulatória, exercício, doenças cardíacas.

ABSTRACT

Machado, Alessandro. **Ventilation reflex control during exercise in heart failure reduction ejection fraction patients: interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex.** Thesis (Doctor in Cardiovascular Science). – Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2020.

Exacerbated ventilation (\dot{V}_E) response to exercise is a typical characteristic of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF). The exercise disordered breathing in HFrEF include high respiratory frequency (f_R) with a reduced tidal volume (TV). This tachypneic pattern is associated to lung stiffness, high work and cost of breathing. The respiratory abnormalities response is possibly mediated, in part, by a complex interplay between reflexes involved in the neural control \dot{V}_E , such as enhanced \dot{V}_E response to activation of muscle afferents sensitive to metabolites (i.e., enhanced metaboreflex), as well as enhanced \dot{V}_E response to inhalation of hypoxic air at rest (i.e., enhanced carotid chemoreflex). Thus, we tested whether simultaneous carotid chemoreflex and muscle metaboreflex activation mediates greater respiratory responses than sum of isolated reflexes responses (i.e., hyperadditive interaction or synergic effect). Ten patients cycled for 4 min at 60% maximal workload and then recovered for 2 min under either: a) 21% O₂ inhalation (chemoreflex on) with legs' circulation free (metaboreflex off) to isolate chemoreflex activation; b) 100% O₂ inhalation (chemoreflex off) with legs' circulation occluded (metaboreflex on) to isolate metaboreflex activation; c) 21% O₂ inhalation (chemoreflex on) with legs' circulation occluded (metaboreflex on) to activate both reflexes; or d) 100% O₂ inhalation (chemoreflex off) with legs' circulation free (metaboreflex off) to inactivate both reflexes (i.e., control). Isolated reflexes activation did not modify minute ventilation (\dot{V}_E) and respiratory pattern versus control. Simultaneous reflexes activation did not modify tidal volume, but increased \dot{V}_E , f_R and decreased inspiratory (T_I) and expiratory (T_E) times versus control. Consequently, simultaneous reflexes activation induced greater \dot{V}_E , f_R , T_I and T_E changes than sum of isolated reflexes changes. Therefore, the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex interacted in a hyperadditive fashion for respiratory pattern regulation in patients with HFrEF.

Keywords. Breathing, hypoxia, circulatory occlusion, exercise, heart disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Metabolismo Energético Muscular	20
Figura 2. Ilustração da integração do sistema transporte de gases da atmosfera ao músculo durante o exercício	23
Figura 3. Ilustração do protocolo experimental	42
Figura 4. Representação do protocolo experimental	44
Figura 5. Ilustração do protocolo do teste de sensibilidade do quimiorreflexo carotídeo	45
Figura 6. Controle da pressão expiratória de O ₂ e CO ₂	49
Figura 7. Pressão arterial	51
Figura 8. Ventilação minuto na recuperação.....	52
Figura 9. Volume corrente na recuperação	54
Figura 10. Frequência respiratória na recuperação	55
Figura 11. Tempo inspiratório na recuperação	56
Figura 12. Tempo expiratório na recuperação	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características da amostra.....	48
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Artéria Pulmonar
AT1	Receptor de angiotensina 1 (<i>angiotensin receptor</i>)
ATP	Trifosfato de adenosina (<i>adenosine triphosphate</i>)
ADP	Adenosina difosfato
AMP	Adenosina monofosfato
BRA	Bloqueador do receptor de angiotensina (<i>angiotensin receptor blocker</i>)
C(a-v)O ₂	Diferença artério-venosa de oxigênio
CO ₂	Gás carbônico
CVF	Capacidade vital forçada
CDI	Cardiodesfibrilador implantável
Cr	Creatinina
DC	Débito Cardíaco
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
ECC	Exercício de carga constante
ECG	Eletrocardiograma
FEV1	<i>Forced expiratory volume in the first second</i>
FEVD	Fração de ejeção do ventrículo direito
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
FL	Fluxo sanguíneo livre
Fr	Frequência respiratória
FiO ₂	Fração inspirada de O ₂
Gjejum	Glicemia de jejum
HAP	Hipertensão de artéria pulmonar
HIPER	Hiperóxia
IC	Insuficiência cardíaca
IC-FEp	Insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada
IC-FEr	Insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida
IECA	Inibidor da enzima conversora de angiotensina
IMC	Índice de massa corporal
LA	Limiar anaeróbio
MMII	Membros inferiores
NOR	Normóxia
NTS	Núcleo do trato solitário
NYHA	Associação do coração de New York (<i>New York Heart Association</i>)
O ₂	Oxigênio
OCIR	Oclusão circulatória
OUES	<i>Oxygen uptake efficiency slope</i>
PA	Pressão arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica

Pi	Fosfato Inorgânico
PCr	Fosfocreatinina
PaCO ₂	Pressão arterial de gás carbônico
PaO ₂	Pressão arterial de oxigênio
PAO ₂ – PaO ₂	Pressão alveolar de oxigênio - pressão arterial de oxigênio
PetCO ₂	Pressão expiratória de gás carbônico
PetO ₂	Pressão expiratória de oxigênio
POAP	Pressão de oclusão da artéria pulmonar
PuO ₂	Pulso de oxigênio
QO ₂	Fluxo de oxigênio muscular
QCO ₂	Produção muscular de gás carbônico
R	Quociente respiratório
RTN	Núcleo retrotrapezóide
SatO ₂	Saturação de oxigênio
T1/2	Tempo de redução do consumo de oxigênio a 50% do pico
Ti	Tempo inspiratório
Te	Tempo expiratório
Ttot	Tempo total do ciclo respiratório
TRC	Terapia de ressincronização cardíaca
TECP	Teste de exercício cardiopulmonar
Vd/Vc	Volume do espaço morto/volume corrente
Ṡ _E	Ventilação pulmonar
Ṡ _E /Ṡ _{CO₂}	Ventilação pulmonar/taxa de eliminação de gás carbônico
Ṡ _E /Ṡ _{O₂}	Ventilação pulmonar/consumo de oxigênio
Ṡ _{O₂}	Consumo de oxigênio
Ṡ _{O₂} Pico	Consumo de oxigênio no pico do exercício
Ṡ _{OE}	Ventilação oscilatória do exercício
VS	Volume sistólico
Vc	Volume corrente
VVM	Ventilação voluntária máxima
Ṡ/Q	Ventilação/Perfusão

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
Lista de Ilustrações	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas e siglas	x
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVO	16
2.1 Objetivo Geral	16
3. Revisão da Literatura	16
3.1 Insuficiência Cardíaca	16
3.2 Teste de Exercício Cardiopulmonar na Insuficiência Cardíaca	19
Metabolismo Energético Muscular	20
Variáveis do Teste de Exercício Cardiopulmonar	23
3.3 Teste de Exercício Cardiopulmonar na Avaliação da Intolerância ao Esforço	30
3.4 Controle Neural da Ventilação durante o Exercício	32
Comando Central (<i>neural feedforward</i>)	33
Aferências Periféricas (<i>neural feedback</i>)	35
Respostas Humorais (<i>humoral-feedback</i>)	37
4. MÉTODOS	40
4.1 Amostra	40
4.2 Protocolos Experimentais	40
Teste de Exercício Cardiopulmonar	41
Exercício com Carga Constante	41
Sensibilidade do Quimiorreflexo Carotídeo	44
4.3 Análise de Dados	46
4.4 Análise Estatística	47
5. RESULTADOS	48
6. DISCUSSÃO	58
6.1 Sumário dos Resultados	58
Ativação isolada do Quimiorreflexo Carotídeo	58
Ativação isolada do Metaborreflexo Muscular	59
Ativação simultânea do Metaborreflexo Muscular e Quimiorreflexo Carotídeo	61
6.2 Limitações	62
6.3 Implicações	63
6.4 Conclusão	63
7. REFERÊNCIAS	64
APÊNDICE	81
ANEXO	83

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (IC-FEr) é uma síndrome clínica caracterizada por uma incapacidade aguda ou crônica do coração em fornecer a perfusão aos órgãos e sistemas com uma taxa adequada às demandas do corpo (1, 2). A hipoperfusão leva a adaptações fisiológicas que se refletem no conjunto de sinais e sintomas clínicos característicos da doença (2). Dentre esses, a dispneia, a falta de ar, cansaço e a fadiga induzidas pela atividade física são os sintomas mais relevantes da IC-FEr (3). A estimativa da prevalência da doença na Europa e Estados Unidos é de aproximadamente 2% da população, aumentando de modo crescente com o envelhecimento, superando os 10% em pessoas com mais de 70 anos (4). Apesar dos avanços no tratamento, a morbidade da doença é alta (5), apresentando taxas de até 22% de re-internação após 30 dias da alta hospitalar (6). A mortalidade no primeiro ano após o diagnóstico pode chegar a 17% (7), e a sobrevivência após 3 anos do diagnóstico pode ser de apenas 60% (8, 9), o que demonstra a necessidade de investigações sobre os mecanismos fisiopatológicos de progressão da insuficiência cardíaca (IC).

A IC-FEr cursa com distúrbios no controle respiratório durante o exercício que inclui a frequência respiratória (Fr) alta com volume corrente (V_c) normal ou reduzido (10). Esse padrão taquipneico pode provocar queda da pressão parcial de dióxido de carbono ($PaCO_2$) no sangue arterial, o que tende a comprometer o fluxo sanguíneo cerebral, visto que os vasos sanguíneos cerebrais são sensíveis ao dióxido de carbono (CO_2) arterial e, quando este se encontra reduzido, há tendência à vasoconstrição (11). Além disso, o padrão taquipneico piora a competição pelo fluxo sanguíneo entre os músculos respiratórios e os músculos esqueléticos em exercício, o que aumenta o trabalho e custo da respiração (12). Isso contribui para a menor tolerância ao exercício e a piora do prognóstico (13). Entretanto, os mecanismos envolvidos nessa disfunção ainda não são completamente conhecidos.

Os sintomas da IC-FEr são determinados por uma complexa interação entre múltiplos fatores, dentre os quais se encontra a interação entre reflexos neurais que participam do controle cardiorrespiratório durante o exercício (14). Esses mecanismos neurais em indivíduos jovens saudáveis geram ajustes cardiovasculares e ventilatórios proporcionais à intensidade de exercício (13, 15). Entretanto, na IC-FEr (13, 15) há um desajuste que provoca aumento excessivo da atividade simpática para a

musculatura esquelética, com consequente maior resposta vasoconstrictora (13, 16) e com resposta ventilatória desproporcional à intensidade do exercício (17).

Dentre as aferências neurais, foi demonstrado que há uma hipersensibilidade dos quimiorreceptores periféricos na IC-FEr (18), que, inclusive, é um fator de risco independente de morte (19). Evidências de modelos animais indicam que a hipoperfusão tecidual observada na IC-FEr resulta no *upregulation* da sinalização angiotensina II/receptor AT1 e no *downregulation* da sinalização óxido nítrico sintase/óxido nítrico nos corpos carotídeos, que em conjunto, suprimem correntes de saída de potássio dependentes de voltagem gerando amplificação da resposta quimiorreflexa à hipóxia (20). A disfunção do quimiorreflexo carotídeo gera então efeitos nos sistemas respiratório, circulatório e neuro-hormonal, que contribuem para o aumento da ventilação (\dot{V}_E), alteração no padrão respiratório cíclico e hiperatividade simpática. Como consequência, a disfunção autonômica está acompanhada de mau funcionamento barorreflexo arterial e cardiopulmonar e de maior prevalência de arritmias ventriculares que pioram o prognóstico da IC-FEr (19, 21).

Outra característica interessante dos quimiorreceptores periféricos é que, além de serem sensíveis a variações na pressão parcial de oxigênio no sangue arterial (P_{aO_2}), também são sensíveis a variações sanguíneas na concentração de CO_2 (22), noradrenalina (22), potássio (22), glicose (22) e angiotensina II (22), e todos se alteram durante o exercício, o que poderia influenciar a sensibilidade do quimiorreflexo carotídeo. Em um estudo com jovens saudáveis (23), a inibição dos quimiorreceptores carotídeos com hiperóxia reduziu a atividade nervosa simpática muscular durante o exercício, porém não houve efeito no repouso (23). Em animais com IC-FEr (24), a inibição transitória dos quimiorreceptores carotídeos pela infusão de solução hiperóxica ou dopamina provocou a vasodilatação periférica no repouso e no exercício. Além disso, esta resposta foi abolida após o bloqueio de receptores adrenérgicos do tipo alfa, sugerindo que a vasodilatação decorrente da inibição dos quimiorreceptores carotídeos ocorreu devido à redução da atividade simpática. Essas evidências demonstram a contribuição dos quimiorreceptores carotídeos para a regulação cardiovascular e respiratória em condições de exercício em normóxia, o que ainda requer mais investigação em humanos, particularmente com IC-FEr.

Outra importante aferência periférica são os metaborreceptores musculares que são estimulados pelo acúmulo de metabólitos na musculatura esquelética e

conduzem sinais aferentes predominantemente via fibras do tipo IV (metaborreflexo) (25). Esses sinais neurais são conduzidos pelos nervos periféricos e medula até o núcleo do trato solitário (NTS) onde ocorrem sinapses gabaérgicas (26).

O efeito da ativação do metaborreflexo na IC-FEr permanece controverso na literatura. Há estudos que suportam tanto o aumento quanto a diminuição das respostas hemodinâmicas com a sua ativação. Tal discrepância pode ser atribuída ao modelo de exercício usado nos estudos [pequeno grupo muscular (preensão manual) (27-31) vs. grande (cicloergometro)] (27-31) e aos desfechos levados em consideração na interpretação (circulação vs. \dot{V}_E) (27-32). Mas cabe destacar, no que tange ao controle da \dot{V}_E em exercício com grandes grupos musculares, há resultados consistentes quanto ao efeito da oclusão circulatória pós-exercício (modelo que mantém ativado o metaborreflexo sem a ativação de outros reflexos), o que mantém a \dot{V}_E em níveis mais elevados em pacientes com IC-FEr em contraste com controles saudáveis (27-31).

Apesar do conhecido efeito isolado do metaborreflexo e do quimiorreflexo carotídeo no controle das respostas hemodinâmicas e respiratórias durante o exercício na IC-FEr, ainda são desconhecidos os efeitos da interação entre esses reflexos. A investigação da interação entre esses reflexos poderá contribuir para melhorar compreensão da manifestação clínica do sintoma da dispneia, ponto central no comprometimento da qualidade de vida dos pacientes com IC-FEr. Assim, os resultados adicionarão informações relevantes sobre os mecanismos fisiopatológicos da hiperpneia do exercício na IC-FEr, e poderá contribuir com *insights* para novos alvos terapêuticos. É nesse contexto que se insere a lacuna científica desta tese, a pesquisa da interação entre o metaborreflexo muscular e do quimiorreflexo carotídeo no controle das respostas hemodinâmicas e respiratórias. A hipótese central é a de que a ativação do metaborreflexo muscular aumenta a contribuição do quimiorreflexo carotídeo para a regulação da \dot{V}_E em pacientes com IC-FEr. Em outras palavras, acredita-se haver um sinergismo (efeito hiperaditivo) entre os reflexos, particularmente para o controle da \dot{V}_E , algo nunca estudado em pacientes com IC-FEr. Caso os resultados mostrem o efeito hiperaditivo entre os reflexos para o controle da \dot{V}_E , \dot{V}_E ou V_c , essas evidências contribuirão para desvendar mecanismos do padrão de hiperventilação taquipneica na IC-FEr durante o exercício físico, o que pode ter implicações para o tratamento destes pacientes.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da interação entre a ativação do quimiorreflexo carotídeo e do metaborreflexo muscular para o controle da \dot{V}_E na IC-FEr.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Insuficiência Cardíaca

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica de etiologia diversa, caracterizada pela incapacidade aguda ou crônica do coração gerar um débito cardíaco adequado às demandas metabólicas tissulares. Esse descompasso leva a alterações fisiopatológicas em diversos órgãos e sistemas, que são caracterizadas pelos sinais e sintomas típicos da doença (33). A doença tem alto custo social e econômico: o tratamento hospitalar responde por mais de 50% do gasto total com todas as outras doenças cardiovasculares (34, 35), apresenta alto índice de afastamento temporário, de aposentadoria precoce e alta mortalidade (35, 36), com índices de sobrevida em 5 anos que variam de 35% a 50% (8, 37).

No mundo há aproximadamente 26 milhões de pessoas com a doença (38). A prevalência de IC nos Estados Unidos e na Europa é em torno de 2% (37, 38), com valores crescentes conforme o envelhecimento. Enquanto nos países da América Latina fica entre 1 a 2%, com incrementos seguindo as faixas etárias (4). A insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (IC-FEp) representa 50% dos casos de IC (39). Há variações nesses números em função da maioria dos estudos adotarem metodologias de classificação distintas, ou seja, utilizam valores de corte diferentes para fração de ejeção do ventrículo esquerdo (4). As projeções para 2020, em função do envelhecimento populacional, são para uma prevalência superior da IC-FEp em relação à IC-FEr (40).

Apesar dos avanços tecnológicos na prevenção, diagnóstico precoce e no tratamento há uma prevalência crescente por várias razões. Primeiro, a IC é uma síndrome clínica que representa a fase final de outras doenças cardiovasculares, como doença arterial coronariana, hipertensão ou doença cardíaca valvular (33). Em

segundo lugar, houve uma redução da taxa de mortalidade com os avanços terapêuticos (36). Terceiro, o envelhecimento contribui para o aumento dos fatores de risco (36).

O diagnóstico da IC está ancorado nos sintomas clínicos e na medida da função do ventrículo esquerdo, principalmente a fração de ejeção (FEVE) obtida pelo ecocardiograma (33). A utilização de parâmetros ecocardiográficos levou a divisão desta síndrome em dois subtipos: 1) insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (IC-FEr), FEVE < 40%; 2) insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (IC-FEp), FEVE > 50%. Recentemente, pacientes com FEVE entre 40-49% foram alocados em grupo intermediário, ainda pouco estudado (41).

Ainda não foi definido se a IC-FEr e a IC-FEp são doenças distintas ou representam espectro clínico de uma síndrome com etiopatogenia diversa (42). Estudos sobre IC apontam diferenças entre os subtipos no que tange a fisiopatologia, os perfis epidemiológicos e etiológicos. Adicionalmente, modelos de pesquisa em animais são melhor caracterizados na IC-FEr (43) e o tratamento farmacológico se mostrou incapaz de reduzir a mortalidade na IC-FEp (41). Assim, apesar de serem classificadas na mesma entidade nosológica, nos ensaios clínicos e nas investigações fisiológicas são estudadas de modo separado. Neste contexto, a presente tese se concentrou no subgrupo IC-FEr.

Existem outras duas escalas com utilidade clínica na classificação dos pacientes com IC-FEr. Uma delas foi elaborada pela *New York Heart Association* (NYHA), na qual se avalia o grau de tolerância ao exercício. A escala varia da ausência de sintomas até a presença de sintomas em repouso (Quadro 1). Essa classificação auxilia a avaliação e o manejo terapêutico do paciente. Além disso, existe uma associação entre a progressão na escala com a piora do prognóstico (41).

Quadro 1: Classificação Funcional segundo a *New York Heart Association*.

Classe	Definição	Descrição
I	Ausência de dispneia	Assintomático
II	Atividades físicas habituais causam dispneia	Sintomas leves
III	Atividades físicas menos intensas que as habituais causam sintoma de dispneia, ausente repouso	Sintomas moderados
IV	Incapacidade para realizar qualquer atividade sem apresentar desconforto respiratório. Sintomas em repouso	Sintomas graves

Fonte: Quadro adaptado de Diretriz Insuficiência Cardíaca SBC 2018.

A outra classificação foi elaborada pela *American College of Cardiology/American Heart Association* com ênfase no desenvolvimento e progressão da doença (Quadro 2). Essa permite a identificação precoce de pessoas em risco para a doença, a classificação de estágios iniciais à avançados da doença, e também pode auxiliar na escolha de terapias específicas, como o transplante cardíaco (41).

Quadro 2: Estágios da Insuficiência cardíaca (IC-FEr) segundo *American College of Cardiology/American Heart Association*.

Estágio	Descrição	Abordagens
A	Risco de desenvolver IC-FEr. Sem doença estrutural ou sintomas de IC-FEr	Controle de fatores de risco para IC-FEr: tabagismo, dislipidemia, hipertensão, etilismo, diabetes e obesidade Monitorar cardiotoxicidade
B	Doença estrutural cardíaca presente. Sem sintomas de IC-FEr	Considerar IECA, betabloqueador e antagonistas mineralocorticoides
C	Doença estrutural cardíaca presente. Sintomas prévios ou atuais de IC-FEr	Tratamento clínico otimizado; Medidas adicionais; Considerar TRC, CDI e tratamento cirúrgico; Considerar manejo por equipe multidisciplinar
D	IC-FEr refratária ao tratamento clínico. Requer intervenção especializada	Todas as medidas acima Considerar transplante cardíaco e dispositivos de assistência ventricular

Fonte: Quadro adaptado de Diretriz Insuficiência Cardíaca SBC 2018. IECA – Inibidor da enzima de conversão da angiotensina; TRC – Terapia de ressincronização cardíaca; CDI – Cardiodesfi-brilador implantável.

A definição do subtipo de IC-FEr e as escalas de classificação são importantes na definição das estratégias de tratamento, composto por medidas não farmacológicas e farmacológicas. As terapias não farmacológicas estão centradas em ações educativas sobre o processo saúde-doença da insuficiência cardíaca, e por definição têm abordagem multiprofissional. Incluem orientações sobre: a ingesta de sódio, ingesta hídrica, dieta, controle do peso, interrupção do tabagismo e treinamento com exercícios físicos (33).

Os fármacos têm como alvo o controle das adaptações neuro-humorais da doença, a hipofunção parassimpática, a hiperativação simpática e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (44, 45). No início esses fatores aumentam o inotropismo, cronotropismo e resistência vascular periférica, e desse modo, contribuem para manutenção do débito cardíaco e da perfusão periférica. Entretanto, a ativação neuro-humoral contínua promove o remodelamento cardíaco e vascular patológico. No coração ocorre morte celular, inflamação e fibrose intersticial, hipertrofia de miócitos, alteração do fluxo do cálcio sarcoplasmático e da expressão gênica nas células

cardíacas. Na periferia ocorre disfunção endotelial, remodelamento da camada íntima, miopatia da musculatura esquelética e outras alterações patogênicas (46).

A compreensão desses mecanismos fisiopatológicos embasou o desenvolvimento de novos fármacos e/ou a testagem de outros já existentes para o tratamento da IC. Diversas classes de fármacos se mostraram capazes de modificar a história natural da doença com redução da morbi-mortalidade: 1) os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (47, 48); 2) a combinação vasodilatador direto com um nitrovasodilatador (49-53); 3) os betabloqueadores (21, 54-56); 4) os antagonistas mineralocorticoides (57, 58); e 5) os bloqueadores do receptor de angiotensina (BRA) (59, 60). Ainda nesse grupo de fármacos, recentemente vieram o bloqueador dos canais I_f do nó sinusal (61, 62) e o LCZ 696 (63), uma associação de BRA com um inibidor dos receptores da neprilisina (64, 65). Adicionalmente, existe a terapia de ressincronização cardíaca e de implante de cardiodesfibrilador. A primeira com benefícios na sobrevivência, melhoria da qualidade de vida e redução das hospitalizações. A segunda na prevenção da morte súbita por fenômenos arrítmicos ventriculares (66, 67).

Apesar de todas as opções farmacológicas e abordagens tecnológicas disponíveis para o tratamento da IC-FEr, a doença ainda apresenta alta morbidade e mortalidade (4, 37). O que justifica a contínua busca por novos fármacos e tecnologias. As pesquisas por novas moléculas continuam, algumas ainda em estudos de fase II ou III que incluem novos antagonistas do receptor mineralocorticoide, ativadores da guanilato ciclase ou ativadores da miosina. Além de uma variedade de novos alvos terapêuticos e a terapia de transferência gênica (45). Deste modo, se faz necessário estudos que avancem na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da IC-FEr, que no futuro poderão conduzir a novos alvos terapêuticos.

3.2 Teste de Exercício Cardiopulmonar na Insuficiência Cardíaca

A limitação ao exercício é o principal sintoma que incapacita o paciente com IC-FEr. O teste de exercício cardiopulmonar (TECP) auxilia na avaliação da resposta fisiológica disfuncional, na classificação da gravidade dos sintomas, no prognóstico, na estratificação do risco de morte e no tratamento de reabilitação com exercício físico.

O TECP utiliza intensidades crescentes de exercício físico para provocar um estresse metabólico sistêmico e com isso avaliar a integração do sistema pulmonar,

cardiovascular e do metabolismo energético celular. Para isso realiza a medida da capacidade de captação de O₂ e eliminação de gás CO₂ (função cardiopulmonar), o fluxo de O₂ para os músculos (função cardiovascular), o equilíbrio entre a oferta e consumo de O₂ ($\dot{V}O_2$) para o miocárdio (função cardíaca) e o metabolismo da musculatura esquelética.

Metabolismo Energético Muscular

A energia utilizada pela musculatura esquelética durante o exercício provém da molécula de adenosina trifosfato (ATP) (68). O ATP é hidrolisado em adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico (Pi) liberando energia para as contrações musculares (68, 69). Entretanto, as reservas de ATP muscular são suficientes para um número limitado de contrações (68, 69). A continuidade do exercício depende de um complexo sistema de ressíntese de ATP, composto por várias vias de reações moleculares, distintas e interdependentes, ativadas quase que simultaneamente. Contudo, ganham preponderância na geração de ATP em tempos diferentes (68) (Figura1).

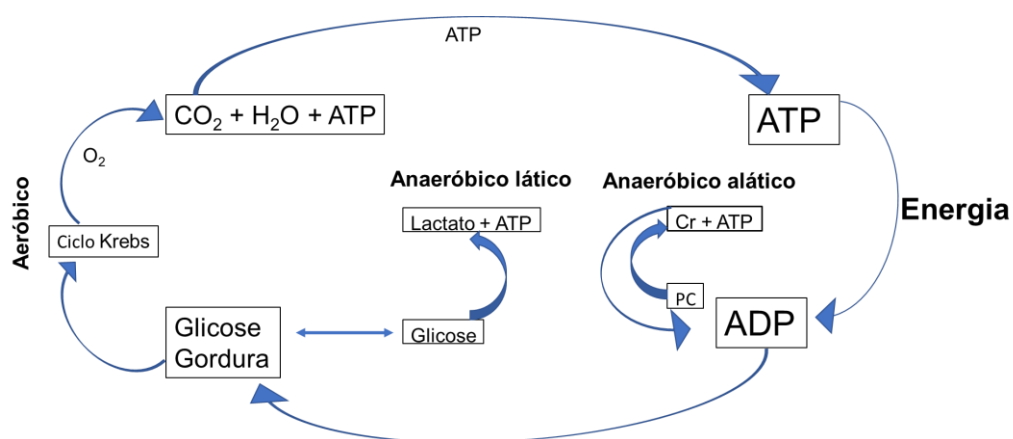


Figura 1. Metabolismo Energético Muscular. O sistema de ressíntese de ATP com ilustração do sistema anaeróbico láctico e alático, e do sistema aeróbico. ATP – Adenosina trifosfato, Cr – creatina, PC – fosfocreatina. Adaptado de Int.J.Sports Med.13(1992)S106-110.

O rápido aumento do ADP após as primeiras contrações musculares estimula a quebra da molécula de fosfocreatina (PCr) com liberação de ATP e creatina (Cr). Essa via predomina nos segundos iniciais (69) do exercício, e acontece sem a necessidade de O₂ (via anaeróbia alática) (68). Adicionalmente, o aumento da relação ADP/ATP, em qualquer momento do exercício, ativa a adelinato cinase que converte

2 ADPs em ATP e adenosina monofosfato (AMP). O acúmulo de produtos (ADP, AMP, Pi e outros) estimulam a glicogenólise e glicólise muscular (70).

A metabolização do glicogênio, da glicose e de outros substratos energéticos levam a formação do ácido pirúvico que segue por duas vias metabólicas: 1) na via anaeróbia é reduzido a lactato com saldo de 2 ATPs; 2) na via aeróbia passa pelo ciclo de Krebs e cadeia transportadora de elétrons com saldo de 38 ATPs, produção de água e CO₂ (68). Na primeira são necessárias poucas reações enzimáticas, enquanto na segunda ocorrem várias reações enzimáticas sequenciais e depende do fluxo de O₂ muscular (QO₂). Esse sistema de ressíntese de ATP interage continuamente fornecendo energia para as contrações musculares (68). A predominância de um sistema sobre outro depende da disponibilidade dos substratos energéticos, das enzimas catalizadoras das reações bioquímicas, da proporção das fibras musculares (tipo I ou II), da intensidade e do tempo de exercício. Por exemplo: 1) a limitação do QO₂ e/ou da disponibilidade do *pull* de enzimas do ciclo de Krebs aumenta o fluxo do piruvato para a via anaeróbia; 2) o aumento da oferta alimentar de creatina contribui para maior geração de ATP pela via anaeróbia alática (68, 69).

Os analisadores metabólicos geram a medida $\dot{V}O_2$ a partir do produto da \dot{V}_E pela diferença entre a fração inspirada e expirada de O₂. Isso sugere que o $\dot{V}O_2$ depende do comportamento da \dot{V}_E , entretanto, em 1870, o fisiologista alemão Adolph Fick demonstrou que a transferência de massa de O₂ do ar para o sangue é dependente do débito cardíaco (DC) e da diferença na concentração arteriovenosa de O₂ [C(a-v)O₂], sintetizada na equação:

$$\dot{V}O_2 = DC \times C(a - v)O_2$$

Na qual o $\dot{V}O_2$ é o consumo de O₂ medido no pulmão, DC é o débito cardíaco, C(a-v)O₂ é a diferença entre o conteúdo arterial e venoso de O₂. Mais recentemente, Casaburi et al. (71, 72) e Weissman et al. (73) mostraram que o aumento do $\dot{V}O_2$ acompanhava alterações do DC, não sendo afetado por mudanças no padrão ventilatório durante o exercício.

A produção muscular de CO₂ (QCO₂) aumenta com a progressão do esforço, sendo também influenciada pela proporção de carboidratos como substrato energético (maior produção de CO₂ por unidade de ATP que os ácidos graxos) e pelo CO₂ extra proveniente da reação do ácido lático com o bicarbonato (74). A manutenção da homeostase da pressão arterial de CO₂ (PaCO₂) regula a taxa de eliminação do CO₂

a partir de ajustes na \dot{V}_E . Esse efeito pode ser observado pela relação linear entre a \dot{V}_E e o $(\dot{V}CO_2)$ ao longo do TECP (74). A maior inclinação (*slope*) da reta demonstra piora da eficiência ventilatória na eliminação do CO_2 . Isso ocorre nas doenças da vasculatura pulmonar (hipertensão da artéria pulmonar), da membrana alveolo-capilar/aumento espaço morto (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica) e a redução do débito cardíaco (IC-FEr), principalmente quando há redução da fração de ejeção do VD (FEVD) como na IC-FEr com hipertensão de artéria pulmonar (HAP) secundária (74, 75). Desse modo, a taxa de produção de CO_2 ($\dot{V}CO_2$) medida no pulmão é também influenciada pela função cardiovascular (32), exibindo relação mais estreita com a fração de ejeção do ventrículo direito (FEVD) (75).

O transporte do O_2 e do CO_2 através dos sistemas pulmonar, cardiovascular e celular de ressíntese de ATP foi esquematizado no diagrama de Wasserman da Figura 2, essa engrenagem ilustra a interação e integração fisiológica frente ao estresse metabólico do exercício (32). No paciente com IC-FEr, a observação da Figura 2 e a equação de Fick sugerem que o principal limitador ao exercício é a disfunção cardiovascular. Além disso, esse déficit interfere na função pulmonar, muscular esquelética, neuroautônômica e renal (32), o que maximiza o estresse metabólico provocado pelo exercício.

A interpretação do TECP no contexto da IC-FEr deve considerar os efeitos de uma doença crônica e sua repercussão em múltiplos órgãos e sistemas. A \dot{V}_E é afetada por uma mecânica pulmonar e capacidade de difusão dos gases comprometidas (76). Não é incomum a presença de anemia, seja pela IC-FEr em si ou por doença renal subjacente, o que interfere na capacidade de transporte de O_2 . O débito cardíaco está comprometido pela redução da FEVE, pela incompetência cronotrópica, inotrópica e regurgitação mitral funcional. O aumento da frequência cardíaca reduz o tempo diastólico, enquanto as contrações musculares elevam a pré-carga, isto contribui para um grande aumento das pressões de enchimento ventricular, o que piora a função diastólica de um ventrículo que já tem a função diastólica prejudicada (77). Adicionalmente, a disfunção na vasoreatividade contribui para o aumento da pós-carga, aumentando o trabalho da sístole ventricular (77).

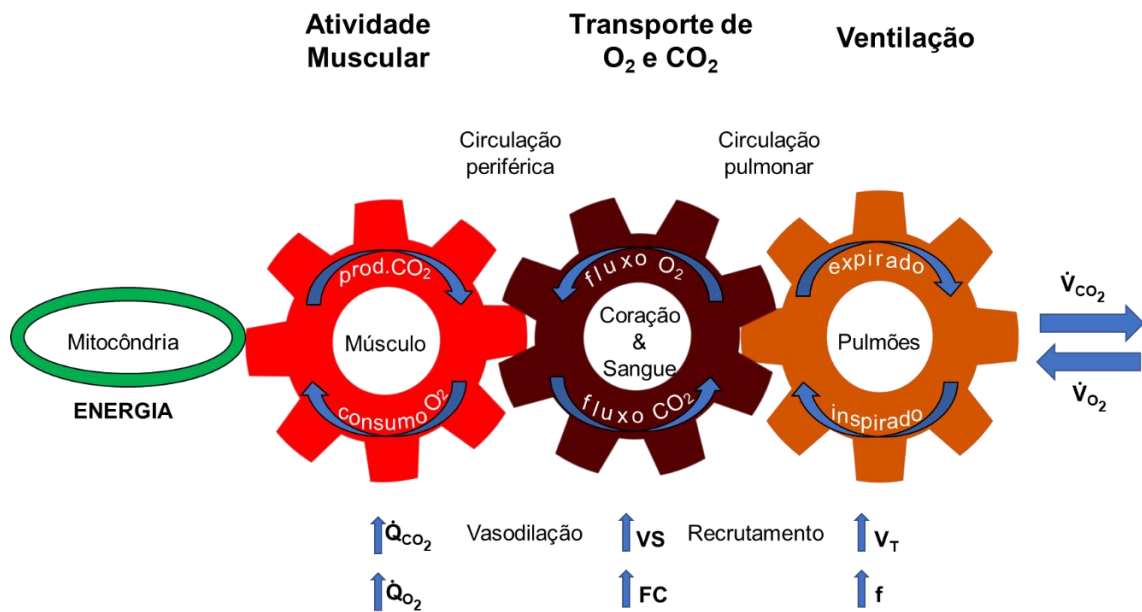


Figura 2. Ilustração da integração do sistema transporte de gases da atmosfera ao músculo durante o exercício. Do lado direito para o esquerdo ocorre a captação do O_2 atmosférico pelos pulmões, transportados pelo sistema cardiovascular até a mitocôndria, e do lado esquerdo para o direito o transporte do CO_2 pelo sistema cardiovascular até os pulmões, onde é eliminado para a atmosfera. QO_2 – consumo de O_2 , QCO_2 – produção CO_2 , VS – volume sistólico, FC – frequência cardíaca, V_T – volume corrente, f – frequência respiratória. Adaptado de Wasserman et al., Chest, 1991.

Outra consequência da disfunção na vasorreatividade é a redução da oferta de O_2 à periferia por alteração da condução, difusão e utilização de O_2 . Na IC há a diminuição da densidade capilar periférica, disfunção da simpátólise funcional, redução do volume mitocôndria, e a perda seletiva de fibra tipo I (predominantemente aeróbia) com aumento proporcional da fibra tipo II (predominantemente anaeróbia). O que em conjunto afeta a capacidade oxidativa do músculo (78). Por outro lado, há uma resposta exagerada da \dot{V}_E (desproporcional ao exercício) que aumenta a necessidade de fluxo sanguíneo para a musculatura respiratória, provocando uma competição pelo fluxo com a musculatura esquelética em exercício e piora ainda mais oferta de O_2 na microcirculação (78, 79).

Variáveis do Teste de Exercício Cardiopulmonar

O TECP oferece um conjunto de variáveis respiratórias e hemodinâmicas que analisadas isoladamente ou combinadas contribuem para avaliação diagnóstica e prognóstica da IC-FEr. A seguir, faremos uma breve revisão do significado e da utilidade dessas variáveis na IC-FEr.

A \dot{V}_E pulmonar é obtida pelo produto da frequência respiratória pelo volume corrente, sendo expressa em l/min. A \dot{V}_E aumenta de modo progressivo e contínuo com o incremento da intensidade do exercício. A PaCO_2 é a responsável pela regulação da \dot{V}_E em intensidades abaixo do segundo limiar ventilatório. A IC-FEr pode apresentar um padrão oscilatório da \dot{V}_E durante o exercício que é denominada de \dot{V}_E periódica ou oscilatória (80). A \dot{V}_E oscilatória do exercício é definida pela presença de oscilações da \dot{V}_E frequentes, regulares e com amplitude > 5 l/min (81) ou amplitude $> 15\%$ das oscilações do repouso, e permanência mínima de 60% do tempo de exercício (82). A sua presença triplica a mortalidade na IC-FEr (81, 82). A fisiopatologia ainda não é completamente estabelecida, com hipóteses relacionadas à redução da complacência pulmonar (congestão) (83) e ao aumento da sensibilidade dos quimiorreceptores centrais e periféricos (84, 85).

O estudo da \dot{V}_E e do seu padrão na IC-FEr são de interesse clínico. A respiração periódica, descrita por *Cheyne e Stokes*, no estado de repouso, tem sido reconhecida como padrão característico da IC-FEr há mais de 2 séculos (77). A respiração de *Cheyne e Stokes*, a \dot{V}_E oscilatória do exercício, e a apneia do sono tem sido compreendidas como espectros clínicos de uma mesma patologia. A presença de \dot{V}_E oscilatória em um paciente com diagnóstico prévio de apneia do sono tem efeito aditivo na redução da sobrevida (82). Esses padrões de ventilação podem ser diagnosticados através do TECP, o que pode auxiliar no manejo clínico desta população.

A reserva ventilatória pode ser calculada pela razão entre a \dot{V}_E máxima do exercício com a \dot{V}_E voluntária máxima (VVM) do repouso, ambas em ml/min. A VVM pode ser medida ou estimada ($\dot{V}_{EF1 \times 37}$) (86). A reserva ventilatória é impactada por fatores mecânicos, musculatura ventilatória, genética, idade e doença (87). A reserva ventilatória maior que 0,80 é compatível com o diagnóstico de limitação ventilatória ao exercício, a exceção de atletas, que podem alcançar valores maiores em exercícios intensos (88).

O $\dot{V}O_2$ pode ser expresso em ml/min ou L/min (absoluto) ou $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (relativo). O maior valor de $\dot{V}O_2$ alcançado após o aumento progressivo da carga de trabalho e com a formação de um platô na curva $\dot{V}O_2$ -tempo é denominado de $\dot{V}O_2$ máximo. Entretanto, é comum não haver a formação dessa curva em platô em pessoas sedentárias e pacientes com IC-FEr. Nesses casos, o maior valor obtido ao final do TECP é definido como $\dot{V}O_2$ pico. Quando há presença de sinais clínicos de

exaustão, lactato > 8mEq/l, R maior ou igual 1,15, FC e \dot{V}_E próxima aos valores preditos, o significado fisiológico do $\dot{V}O_2$ pico se aproxima muito do $\dot{V}O_2$ máximo (89, 90). O $\dot{V}O_2$ pico ocorre normalmente dentro do último minuto do exercício (mais comum nos últimos 30 segundos). Entretanto, na IC-FEr, em função da disfunção cardiovascular, ocorre atraso do $\dot{V}O_2$ muscular o que pode deslocar o $\dot{V}O_2$ pico para a fase imediatamente após o fim do exercício (77).

O $\dot{V}O_2$ pico é o padrão ouro na avaliação da aptidão física (88), sendo esta uma variável com grande relevância clínica pois a sua redução aumenta o risco de morte cardiovascular e por todas as causas (89, 91), enquanto a sua elevação reduz o risco de morte (91, 92). Existem fórmulas que, a partir da idade, sexo, dados antropométricos e características do exercício, fazem a estimativa do valor do $\dot{V}O_2$ pico (90, 93). Entretanto, a presença de doenças e o envelhecimento elevam o erro da fórmula, superando os 20% (93), o que aumenta a importância da realização de medida direta pelo TECP.

Na IC-FEr o $\dot{V}O_2$ pico e o percentual do $\dot{V}O_2$ pico previsto (anormal < 85% previsto) estão entre as variáveis com forte capacidade de prever e discriminar a probabilidade de morte (94). Esses índices também são utilizados na estratificação de candidatos ao transplante cardíaco (95). O $\dot{V}O_2$ pico é influenciado por fatores como idade, gênero e massa muscular, o que torna necessário o ajuste por esses fatores (96). A equação de Wasserman-hansen faz esse balanço, a presença do $\dot{V}O_2$ pico < 47% do predito é um ótimo ponto de corte para determinação de risco de morte na IC-FEr (93, 96).

Em estudo clássico, Mancini et. al (97) avaliaram pacientes candidatos ao transplante cardíaco com os mesmos índices cardíacos em repouso, e observaram que a presença do $\dot{V}O_2$ pico < ou igual $14 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ estava associado a mortalidade de 30% em um ano, enquanto que valores > $14 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ a mortalidade era de 6%. Atualmente, o $\dot{V}O_2$ pico é utilizado como critério para indicação ao transplante de pacientes com disfunção cardíaca grave, que estão sintomáticos apesar do tratamento (98): 1) $\dot{V}O_2$ pico $\leq 12 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ sob uso de betabloqueador; 2) $\dot{V}O_2$ pico $\leq 14 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ nos intolerantes ao betabloqueador; 3) $\dot{V}O_2$ pico $\leq 50\%$ do previsto em pacientes com < 50 anos e mulheres; 4) $\dot{V}O_2$ pico ajustado para massa magra $\leq 19 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ em pacientes com índice de massa corporal > 30 (98).

O $\dot{V}O_2$ pico foi utilizado por Weber et al. (99) para estratificação funcional dos pacientes com IC-FEr em 4 classes: A) $\dot{V}O_2 > 20 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$; B) $\dot{V}O_2 = 16\text{-}20 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$; C) $\dot{V}O_2 = 10\text{-}15 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$; D) $\dot{V}O_2 < 10 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$. Essa classificação se mostrou mais objetiva e reprodutível que classes da NYHA (99). Recentemente, o acompanhamento por três anos de pacientes nas classes A, B, C e D de Weber mostrou uma taxa de transplante e necessidade de suporte circulatório mecânico respectivamente de 3%, 7%, 17% e 36% (100). A classe B de Weber se mostra semelhante a II da NYHA, entretanto esse grupo de pacientes é muito heterogêneo, de modo que a sua estratificação apenas pelo $\dot{V}O_2$ é menos precisa.

Um novo escore de estratificação foi proposto por Myers et al. (101), utilizando outras variáveis do TECP além do $\dot{V}O_2$ pico. A aplicação do mesmo foi capaz de distinguir dentro da classe B de Weber dois grupos (valores similares de $\dot{V}O_2$ pico): grupo 1 com escore normal apresenta baixo risco de eventos adversos, semelhantes a classe A; grupo 2 com escore anormal com 3 vezes maior risco de eventos adversos, semelhante a classe C (100). Isso mostra a importância de se realizar uma análise multivariável do TECP.

Os equivalentes ventilatórios de O_2 ($\dot{V}_E/\dot{V}O_2$) e CO_2 ($\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$) são a razão simples da \dot{V}_E pela taxa de captação de O_2 e liberação de CO_2 pulmonar. O comportamento desses índices após o início do exercício é descendente, seguido de fase de estabilização. O $\dot{V}_E/\dot{V}O_2$ passa a ascendente (aumento \dot{V}_E isolado) a partir do limiar anaeróbio (LA) ou limiar ventilatório (LV), enquanto o $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ se mantém estável (\dot{V}_E proporcional à $\dot{V}CO_2$) até o ponto de compensação respiratória ou segundo limiar, ponto a partir do qual passa haver acidose metabólica e resposta hiperventilatória. De modo geral, o aumento na razão desses índices reflete uma piora da eficiência ventilatória (\dot{V}_E -perfusão) pelo aumento do espaço morto fisiológico ou do espaço morto anatômico (88).

O valor do $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ aumentado no LA se relaciona ao quadro de hiperventilação e/ou distúrbio ventilação-perfusão (\dot{V}/Q). Na IC-FEr essa alteração do $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ no LA pode ser um indicativo de distúrbio \dot{V}/Q e se relaciona a um pior prognóstico (102). O diagnóstico preciso do distúrbio \dot{V}/Q depende da realização de medidas invasivas dos gases arteriais. Isso permite o cálculo da diferença da pressão alvéolo-arterial de O_2 ($PAO_2 - PaO_2$) e a razão do espaço morto com o volume corrente (\dot{V}_D/\dot{V}_C) (102). O incremento da intensidade do exercício leva a queda da

\dot{V}_D/\dot{V}_C . O aumento ou falha na queda dessa relação é compatível com distúrbio \dot{V}/Q . Entre as possíveis causas estão anormalidades na difusão, débito cardíaco reduzido, *shunt* anatômico, hipoxemia e outros (103). A piora da eficiência ventilatória (\dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} alto) está associada ao aumento da resistência vascular pulmonar em repouso e no exercício, sendo inversamente relacionada a FEVD na IC-FEr (75).

O \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} *slope* é uma variável formada a partir da regressão linear entre os valores \dot{V}_E ao longo do exercício no eixo Y e da \dot{V}_{CO_2} no eixo X, ambas expressas em l/min (104). O *slope* aumenta com a piora da eficiência ventilatória. Na IC-FEr, a resposta da \dot{V}_E excessiva à intensidade do exercício reflete uma desproporção na \dot{V}_E -perfusão pulmonar (105-107), disfunção dos quimiorreceptores e dos ergorreceptores (108). Recentemente, diversos estudos (109-111) têm demonstrado que o \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} *slope* tem valor prognóstico independente e até maior que o $\dot{V}O_2$ pico na IC-FEr. Em estudo com 448 pacientes com IC-FEr submetidos à TECP e acompanhados por 2 anos, o \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} *slope* foi a variável com maior poder para prever eventos cardíacos (morte, transplante e implante de dispositivos de assistência ventricular) (112). Nesse estudo foram definidas 4 classes para \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} *slope*: I $\leq 29,9$; II 30-35,9; III 36-44,9; IV > 45 ; com sobrevida livre de eventos cardíacos respectivamente de 97,2%, 85,2%, 72,3% e 44%. A adição do \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} *slope* foi capaz de reclassificar para alto risco os candidatos ao transplante com risco baixo e intermediário pelo critério do $\dot{V}O_2$ pico (108, 110, 111). Valores acima de 43 para essa variável exibem maior acurácia na indicação de candidatos ao transplante cardíaco (108).

O quociente respiratório (R) ou razão de trocas respiratórias é o resultado da razão entre a \dot{V}_{CO_2} e o $\dot{V}O_2$. Esse é o melhor indicador não invasivo para avaliação do grau de esforço, se máximo ou próximo ao máximo. Acima de 1 reflete esforço intenso, maior ou igual 1,1 é o parâmetro de exaustão ou esforço máximo (113).

O limiar anaeróbico (LA) é momento em que ocorre o início da acidose metabólica a partir do aumento da concentração de ácido láctico (114). O LA é influenciado pela capacidade de transporte e utilização do O_2 no músculo, tipo de fibra muscular recrutada (tipo I ou II) e possivelmente outros fatores. Normalmente, o LA ocorre entre 50-60% do $\dot{V}O_2$ pico no indivíduo sedentário, enquanto em indivíduos treinados ocorre em maior percentual (88). Entretanto, encontramos uma ampla faixa de valores preditos de normalidade (35-70% do $\dot{V}O_2$ pico) na literatura, na IC-FEr é comum ser $< 40\%$ do $\dot{V}O_2$ pico (115). O LA $< 11\text{ml}/\text{kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ aumenta em mais de 4

vezes o risco de morte em 6 meses na IC-FEr (95). O fato do LA ocorrer antes do pico confere uma vantagem na avaliação prognóstica, pois não se faz necessário levar o paciente IC-FEr até a exaustão. A definição do LA é feita pela análise do comportamento dos equivalentes ventilatórios, da \dot{V}_E , da pressão expirada de CO₂ (PetCO₂) e O₂ (PetO₂), além do *V-slope*, sendo este o método mais utilizado atualmente (116, 117). O LA está reduzido na doença cardíaca, pulmonar, descondicionamento e anormalidade esqueléticas (miopatia mitocondrial, disfunção muscular) (94, 116, 117).

A PetCO₂ é a pressão do CO₂ ao final da expiração, sendo um reflexo da \dot{V}_E -perfusão dentro do sistema pulmonar. O valor fisiológico varia de 36-42 mmHg, apresentando variações de 3-8 mmHg durante o TECP. A presença de comportamento não fisiológico (variações acima de 8 mmHg) está associado à gravidade da IC-FEr. O comportamento da PetCO₂ no repouso pode refletir a dinâmica de trocas pulmonares e difusão do CO₂ ao nível alveolar. Quando a PetCO₂ for < 33 mmHg após 2 minutos de repouso pode ser indicativo de maior risco de morte na IC-FEr (102, 118).

O pulso O₂ (PuO₂) é uma variável derivada da equação de Fick, considerando que a diferença arteriovenosa de O₂ tende a se manter constante (exceto nas anemias, hemoglobinopatias, cardiopatias cianóticas e DPOC) durante o exercício incremental, assume-se que a razão $\dot{V}O_2/FC$ (ml/batimento) é igual ao volume sistólico (119). A resposta do PuO₂ ao longo do exercício (PuO₂ vs. tempo) é crescente, apresentando o formato de uma parábola. A formação de um platô do PuO₂, em baixa carga de exercício, sugere a presença de disfunção ventricular esquerda (119) ou redução do acoplamento do ventrículo direito com o retorno venoso (77). Por outro lado, a evolução com platô e curva descendente pode estar associada à isquemia miocárdica (119, 120). Na IC-FEr a presença de um PuO₂ < 85% do predito está associado a um pior prognóstico. Ademais, essa variável adiciona poder discriminatório ao $\dot{V}O_2$ pico para o transplante cardíaco, pacientes com $\dot{V}O_2$ pico entre 10-14ml.kg⁻¹min⁻¹ e PuO₂ < 85% do predito tem mortalidade semelhante àqueles com $\dot{V}O_2$ pico < 10 ml.kg⁻¹min⁻¹ (95). Por outro lado, a presença de $\dot{V}O_2$ pico < 14,3 ml.kg⁻¹min⁻¹ e PuO₂ < 85% do predito se observa mortalidade mais elevada do que em cada condição isoladamente (121). Entretanto, a presença de déficit cronotrópico grave, por

estimulação elétrica (marcapasso) ou arritmia como FA, inviabiliza o uso dessa variável para o diagnóstico (95).

O aumento da carga de exercício deve ser acompanhado de aumento proporcional de $\dot{V}O_2$, sendo esperado o aumento de 10ml/min no $\dot{V}O_2$ para cada incremento de um watt. A perda dessa linearidade, por exemplo, o aumento menor que 5ml/min, pode ser sinal de isquemia miocárdica (120). Assim surge outra variável, a razão entre o delta do $\dot{V}O_2$ ($\dot{V}O_2$ pico – repouso) com o delta carga (carga pico – repouso). O valor normal durante o exercício é de $10 \pm 1,5$ ml/min/w (122), a redução na IC-FEr pode indicar maior dependência do metabolismo anaeróbio (77) ou suspeita de isquemia miocárdica (disfunção ventricular esquerda) (120).

A inclinação da eficiência da captação do O_2 (do inglês – *oxygen uptake efficiency slope* - OUES) é obtido pela regressão linear entre o $\dot{V}O_2$ (eixo Y) e o logaritmo na base 10 da \dot{V}_E (eixo X) (123). O OUES é útil na estratificação de gravidade da IC-FEr, e valores $< 1,47$ l/min aumentam o risco de óbito (124). Assim como o $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ slope, o OUES apresenta vantagem por não necessitar que o teste seja máximo para obter acurácia prognóstica (124), apresentando uma variação $< 2\%$ quando se analisa os dados aos 75%, 90% ou 100% do tempo do TECP (123).

O melhor índice de avaliação da função cardíaca durante o exercício é o débito cardíaco, entretanto ele não é medido diretamente. O incremento do DC no início do exercício é mais influenciado pelo aumento do volume sistólico, enquanto em intensidades maiores há maior dependência de incrementos da FC (88). A reserva da frequência cardíaca é obtida pela subtração entre a FC máxima predita e a FC pico. No exercício exaustivo é esperado não haver reserva FC ou ser bem pequena, porém com o uso de betabloqueadores ela pode estar aumentada. Já a FC de recuperação é um importante marcador de mortalidade para o diagnóstico de isquemia (125), além de estar relacionada a alterações no balanço autonômico. Na IC-FEr, a FC recuperação < 16 bpm em condições de recuperação ativa é um fator independente de mortalidade, mesmo em uso de betabloqueador (126). Ademais, candidatos ao transplante cardíaco com $\dot{V}O_2$ entre 10,1-13,9 ml.kg⁻¹min⁻¹ e que apresentam FC de recuperação reduzida e $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ slope aumentado têm prognóstico semelhante àqueles com $\dot{V}O_2 < 10$ ml.kg⁻¹min⁻¹ sem essas alterações (95, 126).

Por fim, o tempo necessário para que o $\dot{V}O_2$ pico reduza à 50% (T1/2) até o terceiro minuto da recuperação também se mostrou útil na avaliação da IC-FEr.

Quanto maior o tempo desta variável pior é o prognóstico da IC-FEr (127, 128), além de existir associação do aumento progressivo do T1/2 com a piora do $\dot{V}O_2$ pico (128). O valor normal em pacientes não cardiopatas é < 90 segundos (127).

3.3 Teste de Exercício Cardiopulmonar na Avaliação da Intolerância ao Esforço

A dispneia induzida pelo esforço é um sintoma de etiologia variada e fisiopatologia complexa, envolvendo mecanismos neuro-humorais e a própria mecânica respiratória (14, 129). A abordagem diagnóstica está centrada na avaliação clínica detalhada dos sintomas, o que em 70% dos casos é suficiente para a definição da etiologia (130). Entretanto, há casos que necessitam de exames complementares, e um dos exames utilizados é o TECP.

O $\dot{V}O_2$, a $\dot{V}CO_2$ e a \dot{V}_E correlacionadas entre si e com outras variáveis são úteis para o diagnóstico das alterações fisiopatológicas que explicam a dispneia induzida pelo exercício. O diagrama da Figura 2 ilustra alguns fatores que limitam o exercício, e podem explicar algumas etiologias de dispneia. De modo sintético, o diagnóstico diferencial contempla 4 categorias etiológicas: A) cardiovascular; B) pulmonar; C) vascular periférica; e D) etiologias diversas (psicogênica, anemia, hipoxemia, disfunção mitocondrial entre outras) (107, 130).

A diferenciação entre as categorias passa por uma análise sequencial dos resultados do TECP, na qual se compara o valor alcançado de cada variável com valores preditos de acordo com a idade, sexo, altura, peso, etnia e nível de atividade física (90, 93, 118). Existem diversos algoritmos disponíveis para essa finalidade, o principal deles é o de Wasserman e colaboradores (131). Faremos uma análise das 4 categorias acima a partir de conceitos de fisiologia do exercício, das variáveis do TECP e do diagrama da Figura 2.

A categoria A contempla as etiologias que afetam o fluxo de sangue através das câmaras cardíacas e sistema vascular, e em consequência alteram o transporte de O_2 e CO_2 para a periferia e o pulmão, respectivamente. A interrupção prematura do exercício pode vir associada à marcadores de baixa oferta O_2 ($\dot{V}O_2$ máx. reduzido, LA precoce, redução do PuO_2 e da relação $\Delta \dot{V}O_2/\Delta$ carga), de distúrbio da \dot{V}_E -perfusão pulmonar ($\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ slope e VD/Vc aumentadas, $PetCO_2$ reduzido), alterações no miocárdio (isquemia ou arritmia no ECG), no controle autonômico

cardíaco (baixa reserva cronotrópica, recuperação lenta da FC), e hemodinâmicas (resposta pressórica inadequada). A presença de baixa reserva ventilatória e dessaturação são indicativos de doença mista com a categoria B (107, 110, 120, 124).

Na categoria B estão as etiologias que afetam a captação de O_2 e eliminação do CO_2 por alterações no fluxo de ar no pulmão ou o fluxo de sangue nos vasos pulmonares. Quando predominam as alterações do fluxo de sangue, os sintomas de dispneia são acompanhados dos mesmos marcadores de baixa oferta de O_2 e distúrbio da \dot{V}_E -perfusão da categoria A. Entretanto, nesses casos é característico a queda da saturação de O_2 que reflete uma maior extração periférica e são incomuns as alterações miocárdicas, do controle autonômico e hemodinâmicas. Enquanto a alteração do fluxo de ar pulmonar cursa com distúrbio da \dot{V}_E -perfusão, redução da reserva ventilatória e queda da saturação durante o exercício. O $\dot{V}O_2$ pico está reduzido, com o LA, o PuO_2 e a relação delta $\dot{V}O_2$ /delta carga tendendo a normalidade (32, 102, 107, 130, 132).

A categoria C apresenta alterações no transporte de O_2 do coração até a mitocôndria e do CO_2 até o VD. No TECP o $\dot{V}O_2$ pico está reduzido e com LA precoce, entretanto o PuO_2 , relação delta $\dot{V}O_2$ /delta carga, resposta autonômica e hemodinâmica são normais. Do mesmo modo, não há distúrbio da \dot{V}_E -perfusão, queda da saturação e a reserva respiratória está preservada (107, 117, 130, 133)

Na categoria D estão distúrbios diversos que não afetam diretamente a captação de O_2 e eliminação de CO_2 , nem o fluxo sanguíneo ao longo do sistema. Por exemplo, a dispneia psicogênica (hiperventilação) afetará a \dot{V}_E -perfusão ($\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ *slope* e VD/V_c aumentados, $PetCO_2$ reduzido), porém sem dessaturação e com reserva ventilatória normal. A hipóxia leva a hipoxemia e dessaturação, sem outros marcadores característicos da categoria B. O descondicionamento apresenta baixo $\dot{V}O_2$ máximo, LA precoce e delta $\dot{V}O_2$ /delta carga reduzido, porém com PuO_2 , resposta autonômica e hemodinâmica normais. O diagnóstico preciso da etiologia da dispneia, no entanto, pode depender da realização de medidas invasivas (117, 129, 131).

A realização do TECP invasivo com a colocação de cateter no VD, na artéria pulmonar (AP) e em artéria periférica possibilita a realização de medidas hemodinâmicas adicionais, como: pressão da AP, pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP), diferença arteriovenosa de O_2 , DC pela equação de Fick ou diretamente pelo método da termodiluição. Essas medidas associadas à outras não

invasivas do TECP permitem a distinção mais precisa entre causas centrais e periféricas como por exemplo: distinção entre IC-FEr e miopatia mitocondrial, HAP, insuficiência do VD, IC-FEp (134, 135).

O TECP com imagem ecocardiográfica permite combinar as observações não invasivas da fisiologia cardiopulmonar com medidas dos volumes das câmaras cardíaca, geometria, *status* das válvulas e função sistólica e diastólica (136). A medida da reserva funcional cardíaca associada às medidas clássicas do TECP amplia a compreensão da fisiopatologia da circulação pulmonar durante o exercício. Isto permite a identificação da disfunção do VD como causa do distúrbio da perfusão pulmonar responsável pelo valor reduzido do delta $\dot{V}O_2$ /delta carga trabalho. Entretanto, ainda carece de uma padronização, depende da presença de janela acústica e sofre interferência dos movimentos respiratórios (137).

O sintoma da dispneia ao esforço é uma queixa clínica comum, cuja causa é geralmente determinada pela história, exame físico e testes básicos de triagem realizados em repouso, incluindo eletrocardiograma (ECG), espirometria, hemograma, bioquímica sérica e radiografia de tórax. Embora os distúrbios cardiovasculares e pulmonares sejam responsáveis pela maioria dos casos de dispneia crônica, os processos que apresentam esse sintoma são diversos. Assim, a população de pacientes submetidos ao TECP para avaliação da dispneia pode incluir indivíduos com uma variedade de problemas, desde patologias neuromusculares, hormonais, miopáticas, metabólicas até psicogênicas. O TECP pode contribuir para o esclarecimento da etiologia de 10-20% dos quadros de dispneia. A interpretação dos resultados é influenciada pelos conhecimentos de fisiologia cardiorrespiratória de quem realiza o exame (131).

3.4 Controle Neural da Ventilação durante o Exercício

O princípio fisiológico da homeostase do meio interno foi proposto por Claude Bernard há mais de um século (138). Nesse período esse conceito foi ratificado experimentalmente com várias respostas fisiológicas, por exemplo, durante o exercício há aumento da produção de CO_2 , íons H^+ e outros metabólitos ao mesmo tempo que ocorrem ajustes no sistema respiratório e cardiovascular que contribuem com o incremento na captação de O_2 e eliminação de CO_2 . No exercício com intensidade moderada, ao nível do mar, a PaO_2 , $PaCO_2$ e o pH são mantidas estáveis

a partir de ajustes na \dot{V}_E , havendo uma relação quase linear entre a \dot{V}_E e a carga do exercício. Enquanto em intensidades moderadas a intensas há uma queda gradativa da PaCO_2 que coincide com o aumento do lactato, enquanto a PaO_2 é mantida estável. Desse modo, a homeostase do sistema respiratório é alcançada quando a \dot{V}_E alveolar e a difusão alvéolo-capilar acompanham o aumento da taxa metabólica do exercício (74).

Desde então os fisiologistas têm buscado explicar os mecanismos envolvidos no controle da hiperpneia do exercício. Para isso foram desenvolvidos diversos modelos experimentais que avaliam a resposta ventilatória nas diferentes fases do exercício, intensidade e modalidade de exercício. Isso proporcionou o desenvolvimento de algumas teorias e hipóteses que buscam explicar os mecanismos neurais envolvidos no ajuste da \dot{V}_E durante o exercício. Elas se dividem classicamente em 3 hipóteses: 1) comando central (*neural feedforward*), 2) aferências periféricas (*neural feedback*), 3) respostas humorais (*humoral feedback*) (138, 139).

Comando Central (*neural feedforward*)

A hipótese do comando central tenta explicar os ajustes ventilatórios que surgem instantaneamente às contrações musculares do início do exercício, de modo que, as alterações na \dot{V}_E não poderiam ser deflagradas por aferências periféricas ou estimulação humoral por metabólitos (140). Por essa teoria, o abrupto aumento da troca gasosa pulmonar na transição repouso-exercício é deflagrado pela ação de irradiações corticais. O estímulo irradiado (*feedforward*) a partir de diversas regiões corticais (córtex pré-motor, córtex motor primário, subtalâmico, mensencefálico, substância cinzenta periaquedutal) (138, 141), núcleo fastigial do cerebelo e áreas locomotoras hipotalâmicas se projetam direta ou indiretamente para os centros reguladores na medula e tronco cerebral, responsáveis pelo controle cardiovascular e ventilatório (139, 142).

Evidências a favor dessa hipótese foram obtidas com experimentos de eletroestimulação de áreas hipotalâmicas, em modelos animais e humanos, que geram respostas motoras, cardiovasculares e ventilatórias (143, 144). Outras evidências provêm de experimentos com a ressecção do nervo vago, corpo carotídeo e barorreceptores de gatos, nos quais foi observado a resposta ventilatória imediata tanto com eletroestimulação de núcleos subtalâmicos quanto com o início do exercício

real (142). Resultados similares foram vistos com animais não lesionados submetidos ao exercício espontâneo, nos quais houve a ativação de áreas do núcleo hipotalâmico, regiões locomotoras subtalâmicas e no núcleo do trato solitário (145). Em humanos, alguns experimentos têm utilizado o exercício espontâneo ou imaginado, em indivíduos hipnotizados para testar a hipótese do comando central, mostrando aumento da \dot{V}_E durante o exercício imaginado sob hipnose (144, 146, 147). Outros usaram a tomografia de emissão de pósitrons para evidenciar a ativação do córtex motor primário durante o exercício, especialmente a região envolvida no controle voluntário da respiração (148). Desse modo, a hiperventilação voluntária ativa áreas motoras secundárias e sensório-motoras primárias que normalmente são estimuladas em trabalhos de aprendizagem motora (149).

Nesse sentido, alguns efeitos creditados ao comando central poderiam ser interpretados como resultado de aprendizado ventilatório com o exercício. O sistema nervoso central antecipa as necessidades do presente e futuro com base em experiências passadas (150). Assim, o comando central pode ativar os bancos da memória, áreas motoras primárias e secundárias, que acionam o hipotálamo e deflagram respostas motoras e cardiorrespiratórias. Em um experimento no qual uma sessão de exercício foi realizada com aumento artificial do espaço morto externo provocou aumento da \dot{V}_E . Na sessão seguinte, com a mesma intensidade de exercício, porém sem a adição do espaço morto, ocorreu hiperventilação semelhante à primeira sessão (151).

A transição repouso-exercício exige respostas fisiológicas rápidas, sendo este o princípio que ancora a hipótese do comando central (152). Entretanto, há evidências contrárias. Por exemplo, a resposta da \dot{V}_E está atenuada quando o exercício é executado na posição supina em comparação a sentada (153, 154), o que sugere uma possível influência da distribuição do fluxo sanguíneo muscular e do débito cardíaco na resposta do transiente inicial da \dot{V}_E . Adicionalmente, experimentos com exercício induzido por eletroestimulação (redução e/ou eliminação comando central) mostram respostas ventilatórias adequadas à intensidade de exercício (155, 156). Essas evidências sugerem que o comando central não seria fundamental para o controle da \dot{V}_E . Exercício com variação sinusoidal da carga de exercício provoca resposta sinusoidal na \dot{V}_E , e com atraso em relação à carga, ou seja, em relação ao comando motor. Os mecanismos envolvidos nesse atraso ainda são desconhecidos (157).

Por outro lado, é possível haver uma interação das aferências musculares em regiões cerebrais do comando central. Em experimento com imageamento cerebral foi observado o aumento da atividade neural na região locomotora do hipotálamo e substância cinzenta periaquedutal durante as contrações musculares, o que sugere uma possível modulação das aferências musculares (*feedback*) no mecanismo do comando central (*feedforward*) (158).

Deste modo, apesar dos diversos modelos e experimentos, ainda existem lacunas na hipótese do comando central. Os estudos em modelos animais fornecem as evidências mais robustas, entretanto, não são capazes de reproduzir o real efeito do comando central durante o exercício. Enquanto os estudos em humanos, apesar dos resultados consistentes, são limitados pelo método indireto de avaliação, o que compromete a validade fisiológica dos resultados (138).

Aferências Periféricas (*neural feedback*)

A hipótese do *neural feedback* explica os ajustes ventilatórios do exercício a partir da interação entre aferências neurais e núcleos respiratórios do tronco cerebral. O exercício ativa sensores neurais musculares ou em volta dos tecidos contráteis, e geram respostas neurais aferentes, que passam pelo trato espino-talâmico da medula espinhal e são integradas no tronco cerebral (159). Os nervos sensoriais periféricos são divididos em subtipos I a IV. Enquanto as fibras do grupo I e II não têm contribuição para o controle respiratório (160), a ativação das fibras mielinizadas finas do grupo III e não mielinizadas (fibra do tipo C) do grupo IV podem levar a estimulação ventilatória. As do grupo III conduzem impulsos de terminações nervosas livres dos tendões, já as do grupo IV conduzem impulsos de terminações nervosas livres em várias localizações, incluindo veias, vasos linfáticos e tecidos conectivos (159-161).

As fibras do tipo III são primariamente mecanorreceptores, que são ativados por estímulos de distensão no tendão e pequenas pressões de distorções no ventre muscular. Adicionalmente, a ativação dessas terminações nervosas livres pode ser parcialmente influenciada por metabólitos relacionados ao exercício (ácido láctico, K⁺, bradicinina, ácido araquidônico, metabólitos da ciclooxigenase, ATP) (159). Enquanto as aferências do grupo IV funcionam primariamente como metaborreceptores, sendo essencialmente sensitivos aos metabólitos. O grupo III e IV de aferências do músculo projetam centralmente pela raiz dorsal no corno dorsal da medula espinhal, com

projeções supra-espinhais para áreas envolvidas na integração respiratória como a medula ventro-lateral e núcleo do trato solitário (159, 161).

As evidências a favor da hipótese de *neuro-feedback* provêm de modelos experimentais que realizam eletroestimulação muscular em animais anestesiados, nos quais ocorre aumento abrupto da \dot{V}_E . A resposta é abolida ao se interromper o tráfico neural com a ressecção da medula (162). Outros modelos demonstraram o aumento da \dot{V}_E com a estimulação seletiva dos grupos III e IV de aferências, enquanto a resposta é abolida pelo bloqueio do tráfico neural ascendente (160). Em humanos saudáveis o exercício ativo ou a movimentação passiva dos membros inferiores provoca aumento da \dot{V}_E , enquanto as respostas cardiovasculares só ocorrem no exercício ativo ou com a eletroestimulação dos músculos das pernas (163, 164). Nos indivíduos com lesão na coluna torácica (T5-T12) o aumento da \dot{V}_E encontra-se abolido (163), demonstrando a participação das aferências no controle ventilatório.

Alguns experimentos em animais mostraram maior atividade das fibras do grupo IV na oclusão venosa após o exercício estático. Esse grupo de aferências estão localizadas no ventre de pequenas veias nos músculos locomotores. A insuflação de balões para reter os metabólitos produzidos no exercício nos leitos microvasculares é acompanhado de aumento da \dot{V}_E , com redução após a liberação da oclusão venosa (159). Já em humanos a oclusão circulatória das coxas após o exercício em ciclo ergômetro de membros inferiores (MMII) aumenta a resposta da \dot{V}_E (165). O aprisionamento dos metabólitos estimula principalmente os metaborreceptores, porém ocorre a ativação dos mecanorreceptores em menor grau. O controle dos efeitos algícos da compressão deve ser um cuidado especial neste modelo experimental, uma vez que a dor gera estímulos neurais em *feed forward* de áreas acima do tronco cerebral (139, 166). Outro modelo experimental semelhante é a utilização de pressão positiva nos MMII durante o exercício, reduzindo a oferta de O_2 e levando ao acúmulo de metabólitos do exercício pela redução do retorno venoso, com consequente resposta hiperventilatória (167).

Recentemente, o uso de um agonista do receptor opioide (fentanil) tem sido utilizado para interromper o tráfico neural ascendente e testar o metaborreflexo muscular (168, 169). A vantagem do fentanil é não afetar a via eferente motora. O efeito é a redução da resposta ventilatória no exercício moderado e moderado a intenso em ciclo de MMII em humanos (168, 169). Por outro lado, o uso de lidocaína

bloqueia as aferências sensitivas e eferências motoras, o que leva a resposta \dot{V}_E normal. Isto pode ser explicado pela maior participação do comando central (maior atividade muscular no eletromiograma) no sentido de aumentar o recrutamento muscular para geração de força (170).

Contrário a essa hipótese existem experimentos em animais com oclusão circulatória e perfusão com metabólitos do exercício no leito muscular que mostram não haver aumento da \dot{V}_E (162). Do mesmo modo, experimentos com estimulação elétrica muscular em humanos com lesão na coluna torácica média ou baixa, geram uma resposta da \dot{V}_E normal, o que sugere a existência uma via alternativa para transmissão do sinal para os centros respiratórios superiores (171). Ainda existem evidências que mostram uma queda da \dot{V}_E mais rápida após a oclusão circulatória (pressões supra-sistólicas) ao final de exercício (172), esse resultado é o inverso do esperado com a ativação do metaborreflexo.

Apesar das evidências contraditórias dos experimentos em animais, há fortes evidências que os grupos III e IV de aferências periféricas em humanos contribuem para a hiperventilação, principalmente a partir dos estudos com infusão de fentanil.

Respostas Humorais (*humoral-feedback*)

Na hipótese do *humoral-feedback* a resposta da \dot{V}_E ao exercício estaria relacionada aos metabólitos carregados no plasma que se conectam a receptores neurais (quimiorreceptores) no sistema nervoso central e na periferia. Isso confere uma resposta atrasada em função do trânsito dos metabólitos até o coração e pulmões (139). As primeiras investigações a cogitarem a influência dos metabólitos no controle da \dot{V}_E são do final do século XIX e início do século XX (173).

Nas últimas duas décadas a compreensão sobre o papel dos quimiorreceptores carotídeos e centrais tiveram importantes avanços. As estruturas anatômicas envolvidas com o quimiorreflexo central são o núcleo do trato solitário, locus ceruleus, núcleos da rafe, complexo pre-Bötzinger e regiões do hipotálamo. Eles são ativados pela hipercapnia e inibidos pela hipocapnia, que geram variações na concentração de íons H^+ a partir da difusão do CO_2 para o líquido cefalorraquidiano. Desse modo incrementos da $PaCO_2$ estimulam esses receptores, que respondem com aumento da \dot{V}_E . Considerando a dificuldade técnica, a $PetCO_2$ tem sido utilizada como um reflexo da $PaCO_2$ nos estudos em humanos (174, 175).

O núcleo retrotrapezoide (RTN) é considerado o principal centro regulador dos quimiorreceptores centrais. O RTN serve como importante local para a integração de estímulos neurais, os seus neurônios são modulados por sinais aferentes dos quimiorreceptores carotídeos, hipotálamo, receptores vagais de distensão pulmonar e núcleo do trato solitário. As conexões entre o RTN e aferências do corpo carotídeo tem efeitos na sensibilização da resposta ao CO₂, do mesmo modo, a inibição do quimiorreflexo carotídeo reduz a resposta central ao CO₂. Experimentos que realizaram a ablação bilateral do corpo carotídeo mostraram eliminação da resposta ventilatória à hipóxia, mas também uma redução da resposta à hipercapnia. Esses resultados mostram que não podemos estudar os quimiorreceptores centrais e periféricos de modo isolado. Adicionalmente, há evidências que sugerem a ativação dos neurônios do RTN durante o exercício agudo, sugerindo a possível interação dos quimiorreceptores centrais com neurônios do comando central, um papel indireto na resposta ventilatória do transiente inicial do exercício (175).

Os corpos carotídeos são pequenas estruturas neurais localizadas próximo da bifurcação das artérias carótidas (176). São compostos por células sensitivas do tipo I (glomus) e estruturais do tipo II (gliais). As células do glomus são inervadas por ramo do IX par craniano (177). O principal estímulo ao corpo carotídeo é a hipóxia. A queda da PaO₂ estimula o corpo carotídeo a partir da inibição de canais de potássio sensíveis ao oxigênio presentes nas células do glomus. Os níveis normais de concentração dos gases arteriais provocam baixa atividade no nervo aferente sinusal. A resposta neural à hipóxia é hiperbólica, apresentando forte incremento dos sinais neurais com a PaO₂ na faixa de 40-50 mmHg (178).

Adicionalmente, foi descoberto que o corpo carotídeo responde a outros estímulos como o CO₂, H⁺, K⁺, noradrenalina, temperatura, osmolaridade, glicose e insulina. As células do glomus carotídeo são proporcionalmente as que possuem a maior vascularização do corpo humano. Recentemente foi descoberto que a redução do fluxo sanguíneo estimula o seu remodelamento (20, 177), aumentando os sinais neurais da via aferente (maior sensibilidade), e que além do controle ventilatório, os seus sinais contribuem com o aumento da atividade simpática (20).

A elevação da PaO₂ tem efeito inibitório sobre as células do glomus carotídeo, especialmente quando ultrapassa os 250mmHg (179). Desse modo, a presente tese utilizou a inalação de mistura gasosa hiperóxica para investigar a contribuição dos

quimiorreceptores carotídeos no controle ventilatório. Entretanto, a hiperóxia provoca aumento de espécies reativas de oxigênio e da concentração de CO₂, que agem potencializando a excitabilidade neuronal dos quimiorreceptores centrais (180). Assim, a resposta ventilatória à hiperóxia é bifásica, até dois minutos de exposição predominam os efeitos inibitórios sobre os quimiorreceptores carotídeos (hipoventilação), após esse período ocorre a resposta hiperventilatória secundária (hiperventilação hiperóxica) (181). A exposição de humanos em ambiente de normóxia à inalação de mistura hiperóxica por pouco tempo (<2 minutos) se mostrou capaz de reduzir a \dot{V}_E de repouso em 10% com atraso de 10 segundos, e houve redução do atraso para 5 segundos durante o exercício moderado. Isto sugere que o corpo carotídeo contribui para a \dot{V}_E em repouso e possivelmente de modo mais intenso durante o exercício (182, 183).

As teorias e modelos experimentais descritos acima procuram isolar um único mecanismo capaz de explicar a resposta ventilatória do exercício, assumindo que cada mecanismo atua de modo independente. Entretanto, a realidade mostra que esses mecanismos atuam de modo complementar, somativo e até mesmo sinergicamente. Assim, conclui-se que não existe um único estímulo capaz de explicar toda a resposta ventilatória do exercício (138, 184, 185).

A presente tese se propõe a investigar dois importantes mecanismos de aferências neurais e suas possíveis interações na regulação da hiperpneia do exercício.

4. MÉTODOS

4.1 Amostra

Oito homens e cinco mulheres com IC-FEr preencheram os critérios de inclusão e foram recrutados para participar desta pesquisa. Os critérios de elegibilidade foram: idade entre 40 e 70 anos, redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (Simpson < 40%), tratamento farmacológico otimizado, classe II ou III da NYHA, não fumar, sem hospitalização nos últimos seis meses por doença cardíaca, índice de massa corporal inferior a 35 kg/m². Os critérios de exclusão foram: medida de creatinina sérica > 1,5 mg/dl, uso de medicação para diabetes ou glicemia de jejum > 126 mg/dl, presença de VEF1/CVF < 70% e saturação de oxigênio em repouso menor que 95%. Três voluntários foram excluídos, um homem por inadaptação ao protocolo (Borg > 4 com a insuflação dos manguitos) e duas mulheres por motivos de saúde (alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia miocárdica no esforço).

Todos foram submetidos à realização de exames laboratoriais (bioquímica e hemograma), eletrocardiograma (ECG) de repouso, antropometria, ecocardiograma de repouso e espirometria de repouso com objetivo de averiguar os critérios de inclusão e exclusão.

Os indivíduos foram contactados no ambulatório de insuficiência cardíaca do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP). Todos foram orientados quanto aos métodos a serem adotados, seus potenciais riscos, medidas de precaução e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice), que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUAP (CAEE 36681414.0.0000.5243).

4.2 Protocolos Experimentais

Os protocolos experimentais que envolveram exercício foram realizados em jejum de duas horas, e os indivíduos foram orientados a evitar atividade física extenuante e abster-se da ingestão de cafeína, álcool e exercício físico intenso por 24 horas anteriores ao protocolo.

Teste de Exercício Cardiopulmonar

A primeira visita após a avaliação clínica, ecocardiograma e exames laboratoriais foi no Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), no setor de ergometria. Nesta visita foi realizado o TECP para o rastreamento clínico de isquemia miocárdica, arritmias graves e identificar o pico do consumo de oxigênio e da carga de trabalho. O TECP foi realizado em cicloergômetro eletromagnético (ERGO-FIT 167, ERGO-FIT, Alemanha) com aumento progressivo da carga de trabalho. O teste consistiu em 2 minutos de medidas basais em repouso, 1-2 minutos de aquecimento (15w-25w), fase de esforço variável (duração entre 8-12 minutos) com incremento da carga individualizado (5-15w), e 3-5 minutos de recuperação ativa com carga de 15w. Os indivíduos foram estimulados a atingirem a exaustão, e a manter uma rotação entre 55 e 65 rpm nos pedais. Pelo menos dois dos seguintes critérios foram atendidos na exaustão: 1) relação de troca respiratória $> 1,1$; 2) pontuação 10 do esforço percebido na escala de 0 a 10 de Borg e 3) incapacidade de manter a rotação alvo dos pedais (186). Adicionalmente, o TECP podia ser interrompido por alterações durante o teste (187).

A \dot{V}_E por minuto e as trocas gasosas pulmonares foram medidas por um analisador metabólico portátil (VO2000, MedGraphics - EUA). Além disso, medida da pressão arterial a cada minuto (método auscultatório) e eletrocardiograma de esforço (Ergo PC Elite, Micromed - Brasil).

Houve o cuidado com a adaptação dos indivíduos ao ergômetro (capacidade de pedalar) e com o ajuste da máscara à face com vistas a minimizar vazamentos. Para isso utilizamos vários modelos e tamanhos de máscara facial. Ainda nesta visita realizou-se no repouso a insuflação (180-200 mmHg) de um manguito na coxa esquerda dos indivíduos por cerca de um minuto. O objetivo foi iniciar a familiarização com o procedimento experimental.

Exercício com Carga Constante

Os indivíduos realizaram 4 exercícios com carga constante (ECC) em dois dias (2 ECC por dia), separados por pelo menos 24h, em cicloergômetro eletromagnético (ERGO-FIT 167, ERGO-FIT, Alemanha). Cada sessão de ECC foi realizada a 60% da carga pico do TECP por 4 minutos, seguida por 2 minutos de recuperação passiva, na qual foram randomicamente expostos a 4 condições (Figura 3): 1) oclusão circulatória

(OCIR) com os manguitos posicionados nas coxas, em normóxia [NORM; fração inspirada de O₂ (FiO₂) = 21%] para ativação do metaborreflexo muscular (METABO) e do quimiorreflexo carotídeo (QUIMIO); 2) OCIR com hiperóxia (HIPER; FiO₂ = 100% O₂) para ativação do METABO e inativação do quimiorreflexo carotídeo; 3) fluxo sanguíneo livre (FL) com normóxia para ativação do QUIMIO; e 4) FL com HIPER como situação controle (METABO e QUIMIO inativos). Em cada dia de experimento foram realizadas duas sessões de ECC separadas por descanso de 30 a 40 minutos. A OCIR iniciou cinco segundos antes do final do exercício através da insuflação de um manguito de coxa bilateral por um sistema de insuflação rápida (~0,5 s; E20, Hokanson, EUA) com alvo de 20 mmHg acima da pressão arterial sistólica (PAS) medida no pico do exercício durante o TECP no braço esquerdo. Ao final do período de recuperação (2 minutos) os manguitos foram desinflados e os indivíduos monitorizados por 5 minutos.

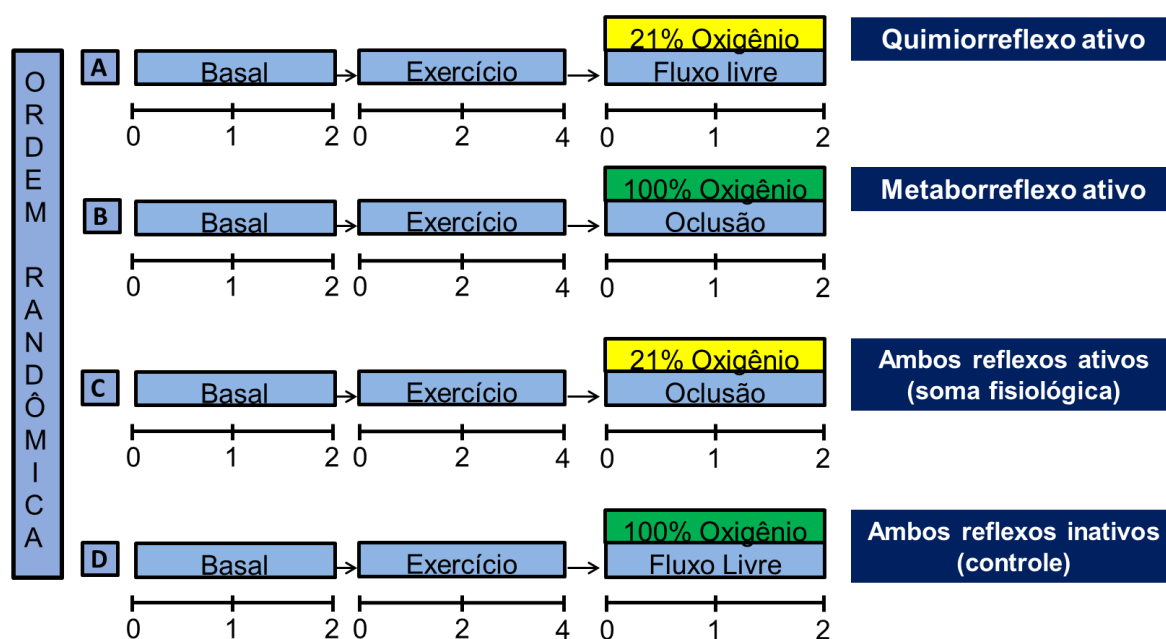


Figura 3. Ilustração do protocolo experimental. Ilustração das condições experimentais. Condições: a) inalação de O₂ 21% com a circulação das pernas livre para isolar a ativação do quimiorreflexo carotídeo; b) inalação de O₂ 100% com a circulação das pernas ocluídas para isolar a ativação do metaborreflexo muscular; c) inalação de O₂ 21% com a circulação das pernas ocluídas para ativar simultaneamente ambos os reflexos; ou d) inalação de O₂ 100% com a circulação das pernas livre para desativar ambos os reflexos (isto é, controle).

Os indivíduos desconheciam a concentração de O₂ no ar inalado e o procedimento (OCIR ou FL) que seriam expostos na fase de recuperação. A ordem das sessões foi atribuída por bloco de permuta aleatória (188) (OCIR ou FL, NORM ou HIPER e primeiro ou segundo dia de experimento) aceitando apenas um OCIR ou

HIPER por dia. A OCIR foi utilizada para aprisionar metabólitos nos membros inferiores e, conseqüentemente, ativar o metaborreflexo, enquanto a HIPER foi usada para inibir os quimiorreceptores carotídeos.

Os sujeitos foram familiarizados com os procedimentos do ECC em visita anterior ao experimento. A familiarização começou com a insuflação do manguito de coxa com a pressão próxima à 100mgHg no repouso por 30 s. Na seqüência, os valores da pressão do manguito foram aumentados de acordo com a tolerância do sujeito até alcançar o alvo previsto e o tempo de 2 minutos. Depois os indivíduos realizaram o ECC por 4 minutos à 60% da carga do pico do TECP, e no período de recuperação os manguitos de coxa foram insuflados por um sistema de insuflação rápida (~0,5 s; E20, Hokanson, EUA) por dois minutos. A familiarização foi repetida nas situações em que a percepção de incômodo com a OCIR foi superior a 3 na escala de Borg de 0 a 10 (189) ou na presença de manobra de Valsava durante a insuflação do manguito.

Uma máscara facial de silicone (V2™, Hans Rudolph) foi cuidadosamente ajustada para evitar o escape de ar, conectada a um tubo de pitot bidirecional ($\pm 18\text{L/s}$; precisão $\pm 3\%$; resistência $< 1,5\text{cmH}_2\text{O}$; MedGraphics - EUA). A \dot{V}_E e as trocas gasosas pulmonares ($\dot{V}O_2$ e $\dot{V}CO_2$) foram mensuradas respiração-a-respiração com o ULTIMA CPX™ (MedGraphics - EUA). No início da recuperação (OCIR ou FL), entre zero a 5 segundos após o fim do exercício, os indivíduos foram conectados a um circuito de reinalação para controlar a pressão parcial expirada de CO_2 (Pet CO_2) entre as condições (190), nesse mesmo sistema foi oferecido a HIPER ou NORM. Um pesquisador treinado (ACM) controlou manualmente a Pet CO_2 , visando manter os valores dos últimos trinta segundos do exercício. Cabe ressaltar que o controle da Pet CO_2 foi importante para evitar a influência do quimiorreflexo central sobre as respostas investigadas (22).

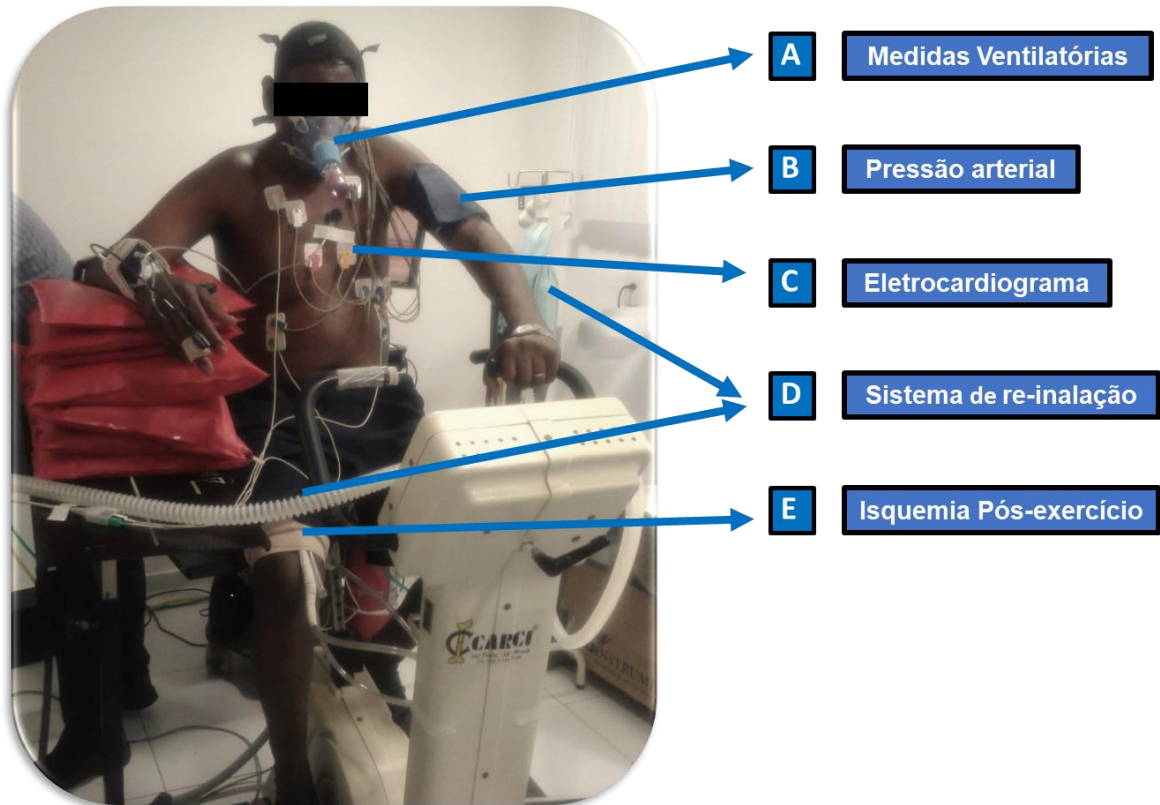


Figura 4. Representação do protocolo experimental. O voluntário foi posicionado em bicicleta ergométrica com selim com capa de silicone. Em A observamos a máscara de silicone cuidadosamente ajustada à face para evitar o escape de ar e o tubo de pitot com adaptações para posterior conexão ao sistema de reinalação. Em B observamos o manguito para medida auscultatória da pressão arterial. Em C, os eletrodos para monitorização cardíaca. Em D, do lado direito encontra-se o sistema de balões de silicone, que foram conectados a uma válvula bidirecional (abertura inspiratória do ar contido nos balões e abertura expiratória em caso de grande volume no sistema) e a uma mangueira de silicone corrugada, no lado esquerdo está a entrada de ar fresco (O_2 a 100% ou O_2 a 21%), que foi conectada por outra mangueira de silicone à válvula inspiratória (abertura do lado do ar fresco), e ao lado direito (sistema de armazenamento do ar expirado). Em E estão os manguitos de coxa que foram conectados à um sistema de insuflação rápida).

Sensibilidade do Quimiorreflexo Carotídeo

A sensibilidade quimiorreflexa carotídea foi realizada com os sujeitos sentados em uma cadeira com encosto pelo método da hipóxia intermitente (191, 192). Cada sujeito foi exposto à 10 a 15 repetições de hipóxia intermitente. O tempo total do experimento foi de aproximadamente 2 horas. A Figura 5 ilustra o teste de sensibilidade quimiorreflexo carotídeo, sendo adotado o critério de valores acima de $>0.72 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \% \text{SaO}_2^{-1}$ para classificar a condição de sensibilidade aumentada do quimiorreflexo carotídeo (21).

A instrumentação ventilatória e hemodinâmica do paciente levou cerca de 15 minutos. Uma máscara facial foi cuidadosamente ajustada para evitar a fuga de ar,

conectada a um tubo de pitot bidirecional ($\pm 18\text{L/s}$; precisão $\pm 3\%$; resistência $< 1,5\text{cmH}_2\text{O}$ - MedGraphics - EUA) e uma válvula T que alternava entre ar ambiente ou nitrogênio puro (N_2) de um cilindro. Os participantes estavam cegos para o gás (N_2 ou ar ambiente) e os objetivos do teste. A \dot{V}_E e a troca gasosa pulmonar foram medidas respiração-a-respiração com ULTIMA CPX™ (MedGraphics - EUA).

O teste começou após um momento de silêncio de 5 a 10 minutos, até a \dot{V}_E retornar aos valores basais, em uma sala com temperatura de 23°C . Em seguida, os sujeitos foram expostos a 2-8 respirações de nitrogênio puro, intercaladas com a respiração do ar ambiente entre as sessões de exposição ao N_2 . O intervalo entre as sessões de exposição ao N_2 foi de 2 a 5 minutos, até que o CO_2 expirado e a \dot{V}_E voltassem à linha de base. A saturação de oxigênio foi medida com sensor de dedo de um monitor multiparâmetro (DRE Vida Monitor Multiparamétrico, Avante, USA) ajustado para o modo rápido e a saturação alcançou um intervalo de 75-100%.

A sensibilidade quimiorreflexa periférica foi determinada pela regressão linear (*V-slope*) entre as médias dos valores das duas maiores ventilações consecutivas e os menores valores de saturação de $\text{O}_2\%$ ($\text{sat.O}_2\%$) obtidos nos períodos de exposição à hipóxia (exposição ao N_2), e foi expressa em litros por minuto por $\text{sat.O}_2\%$ ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Sat.O}_2\%^{-1}$). A sensibilidade foi obtida como inclinação da \dot{V}_E relacionada à linha de melhor ajuste na saturação arterial de oxigênio, calculada pelos mínimos quadrados nas análises de regressão linear.

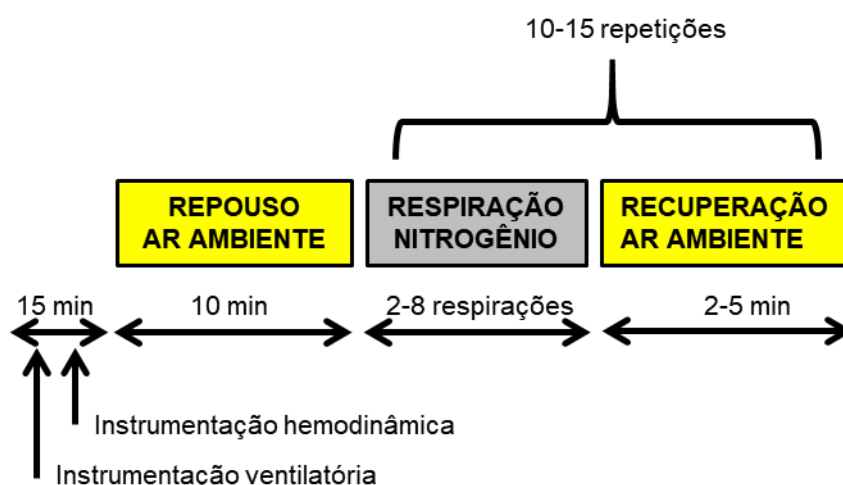


Figura 5. Ilustração do protocolo do teste de sensibilidade do quimiorreflexo carotídeo. Nos primeiros quinze minutos foram acoplados os equipamentos de medida ao voluntário. Na sequência, o indivíduo repousou por no mínimo 10 minutos na posição sentada. Depois foi iniciada a série de inalações (duas a 8 respirações) de N_2 puro, seguidos de 2 a 5 minutos de recuperação no ar ambiente.

4.3 Análise de Dados

Os dados de \dot{V}_E e as trocas dos gases pulmonares, registrados respiração-a-respiração pelo ULTIMA CPX™ (MedGraphics – EUA), foram exportados utilizando uma média a cada dez segundos. Depois os dados foram agrupados em uma nova média a cada 20 segundos. Para todas as variáveis, o pico de exercício foi estabelecido como a média dos vinte segundos finais do ECC. Os dados dos dois minutos de repouso pré-exercício foram agrupados (média) em um único valor. O período de recuperação foi feito uma média de vinte segundos a partir do tempo zero. A análise estatística foi realizada com o repouso, o valor pico de cada variável e outras seis médias sucessivas de 20 segundos (0-20, 21-40, 41-60, 61-80, 81-100, 101-120) do período de recuperação. O tempo inspiratório (T_i), tempo expiratório (T_e) e o tempo total do ciclo respiratório (T_{tot}) foram fornecidos pelo *software* Breeze Suite™ (MedGraphics – EUA). O volume corrente (V_c) foi obtido a partir divisão da \dot{V}_E pela Fr . Foram geradas novas variáveis ventilatórias a partir da razão do Fr/V_c , T_i/T_{tot} , V_c/T_i .

A preparação dos dados para a análise do efeito hiperaditivo ou sinergismo fisiológico entre o metaborreflexo e o quimiorreflexo foi feito nas seguintes etapas:

1. Realização de uma média entre os sete valores ao longo do tempo de recuperação (pico, 0-20, 21-40, 41-60, 61-80, 81-100, 101-120) de cada variável, em cada um dos quatro momentos (OCIR+HIPER, OCIR+NORM, FL+HIPER, FL+NOR) para cada indivíduo da amostra;
2. Cálculo do efeito do metaborreflexo muscular (METABO) e do quimiorreflexo carotídeo (QUIMIO) para cada variável (respiratória e hemodinâmica). Para isso foram realizadas subtrações entre os valores (médias obtidas na etapa anterior) de cada uma das quatro condições. O efeito do METABO foi obtido com a subtração do valor da condição OCIR+HIPER (METABO ativo e QUIMIO inativo) da condição FL+HIPER (ambos reflexos inativos). O efeito do QUIMIO foi obtido pela subtração do valor da condição FL+NOR (METABO inativo e QUIMIO ativo) da condição FL+HIPER. O efeito hiperaditivo ou “soma fisiológica” foi obtido pela subtração do valor da condição OCIR+NOR (ambos reflexos ativos) da condição FL+HIPER. A soma matemática foi realizada entre os valores do efeito do QUIMIO e METABO isolados.

4.4 Análise Estatística

Os deltas da ativação isolada dos reflexos e ativação simultânea dos reflexos em relação ao controle (ambos reflexos inativos) foram considerados o principal resultado do estudo. Toda variação de dado além de 1,5 do intervalo interquartil, para uma variável, dentro de determinada condição, foi considerado *outlier*. A normalidade da distribuição das variáveis e a homocedasticidade foram verificadas antes de analisar os resultados. No caso de variáveis sem distribuição normal e/ou sem homocedasticidade, os resultados obtidos passaram por transformação logarítmica. Os dados dos dois minutos de repouso, dos últimos 20 s do exercício e a cada 20 s do período de recuperação foram comparados entre as condições por ANOVA *two way*, condição (quimiorreflexo vs. metaborreflexo vs. soma matemática vs. soma fisiológica), e o tempo (repouso vs. fim exercício vs. 0-20 vs. 21-40 vs. 41-60 vs. 61-80 vs. 81-100 vs. 101-120) excluindo os dados *outliers*. Os deltas em relação ao controle foram comparados entre as condições por ANOVA *one way*, com e sem *outlier*. Quando apropriado foi utilizado o *post hoc* de Fischer após a ANOVA. Foram pesquisadas associações através da correlação de Pearson. A amostra em cada análise é variável, uma vez que algumas medidas ventilatórias não foram registradas por problemas no analisador metabólico. As características dos sujeitos são apresentadas em média \pm desvio padrão (DP). Outros dados são apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). As análises inferenciais foram bicaudais, os valores de P foram reportados sempre que possível, e os seus valores foram interpretados considerando 0,05 como referência, porém não como ponto de corte, seguindo as recomendações de grande número de estatísticos e a Associação Americana de Estatística (193).

5. RESULTADOS

As características da amostra estão apresentadas na Tabela 1. Foram incluídos indivíduos de ambos os sexos com IC-FEr, sintomáticos pela NYHA (classe II e III), nas classes D, C e B de Weber, com IMC de eutrófico a obesidade grau I, em uso dos bloqueadores neuro-hormonais (beta bloqueador, inibidor da ECA ou bloqueador AT1, espironolactona). Apenas um indivíduo utilizava a combinação nitrato+hidralazina para controle de pressão arterial e não em substituição ao IECA/AT1 por disfunção renal, enquanto dois indivíduos utilizavam diurético de alça. A fração de ejeção do ventrículo esquerdo variou de 20,0 a 37,8%, a sensibilidade dos quimiorreceptores carotídeos foi acima dos valores normais em apenas um indivíduo. O $\dot{V}O_2$ pico foi baixo e o $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ maior que os valores normais em todos os sujeitos.

Tabela 1. Características da amostra.

Variáveis	Resultados	
Sexo	7H/3M	
NYHA (II/III)	6/4	
Idade (anos)	56 ±7	(44 - 67)
Peso (kg)	78.3 ±15.6	(57 - 114)
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	28.0 ±4.3	(20.4 - 34.4)
Glicose de jejum (mg/dl)	102.7 ±10.0	(97 - 122)
Creatinina (mg/dl)	0.95 ±0.16	(0.7 - 1.3)
$\dot{V}EF_1$ (% estimado)	78.9 ±7.1	(66.3 - 89.4)
$\dot{V}EF_1/CVF$ (%)	101.9 ±7.9	(84.6 - 116)
FEVE Simpson (%)	31.0 ±6.1	(18.5 - 37.8)
SQuimio carotídeo (L/min/SpO ₂ %)	0.35 ±0.23	(0.15 - 0.9)
$\dot{V}O_{2PICO}$ (ml/kg/min)	13.1 ±3.9	(7.9 - 18.7)
PAS _{PICO}	162.6 ±35.9	(122 - 212)
PAD _{PICO}	91.6 ±15.3	(70 - 120)
$\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ slope (a.u.)	26.3 ±7.3	(16.2 - 36.4)
Drogas		
Betabloqueadores	10	
IECA/AT1	10	
Espironolactona	10	
Furosemida	2	
Hidralazina	1	
Nitrato	1	

Dados estão em média ± DP. IMC, índice de massa corporal; $\dot{V}EF_1$, Volume expiratório forçado no 1º segundo; CVF, capacidade vital forçada; FEVE, fração de ejeção do ventrículo esquerdo; SQuimio carotídeo, sensibilidade do quimiorreflexo carotídeo; $\dot{V}O_{2PICO}$, consumo de oxigênio no pico; PAS_{PICO}, pressão arterial sistólica pico, PAD_{PICO}, pressão arterial diastólica pico, IECA, inibidor da enzima conversora da angiotensina; AT1, bloqueador do receptor de angiotensina. n = 10 para todas as variáveis, exceto variáveis da espirometria e da sensibilidade do quimiorreflexo carotídeo (n = 9).

A $PetO_2$ subiu logo no início da recuperação na condição HIPER, ultrapassou os 350 mmHg após 21 s, e se manteve em níveis elevados durante a fase de recuperação, contrapondo a estabilidade (próximo aos 100 mmHg) da condição NORM (Figura 6). Já a $PetCO_2$ foi semelhante ao longo do tempo na recuperação com o quimiorreflexo ativo e no controle, entretanto foi menor na recuperação com o metaborreflexo ativo e ambos os reflexos ativos em relação ao controle (Figura 6).

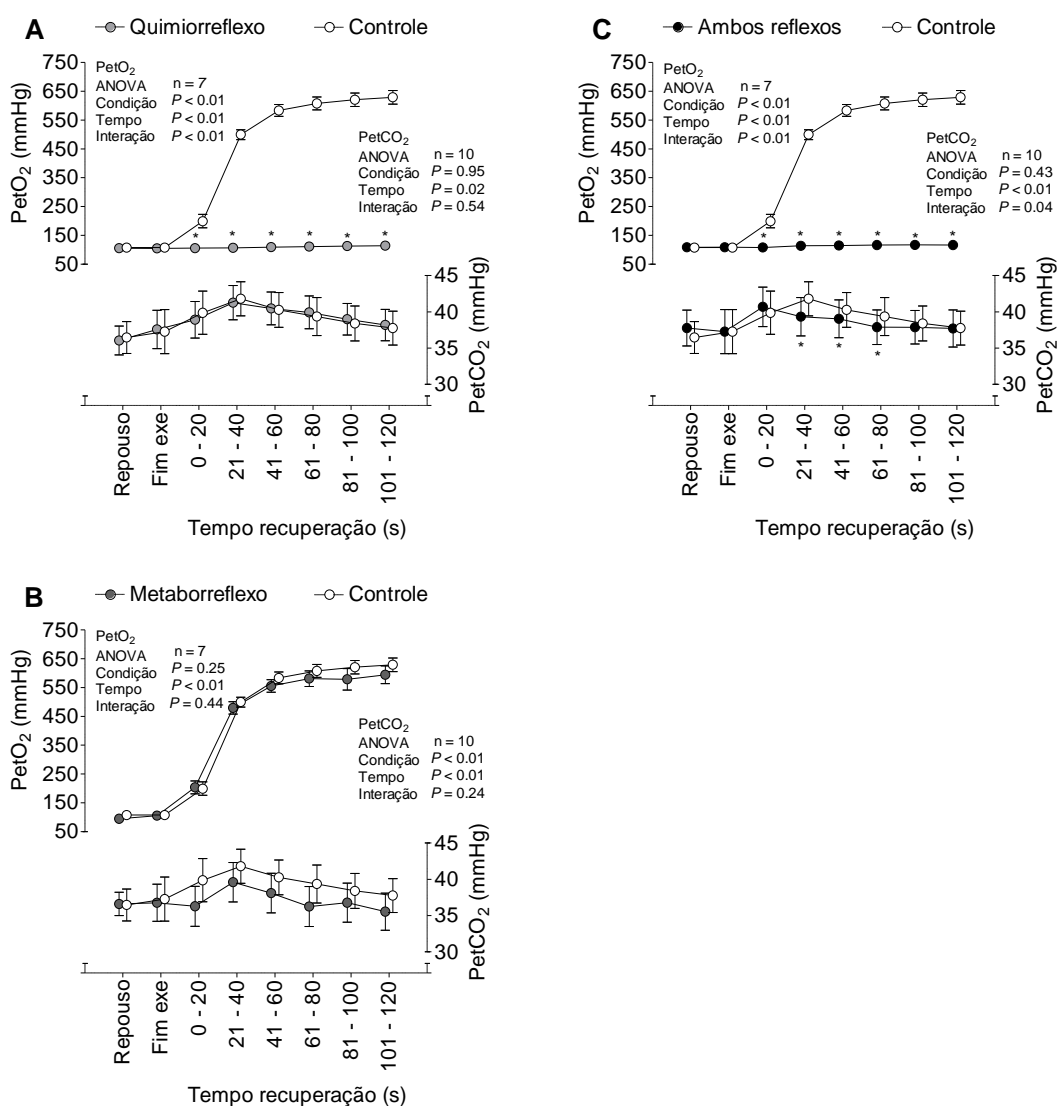


Figura 6. Controle da pressão expiratória de O_2 e CO_2 . Pressão parcial de O_2 ao final da expiração ($PetO_2$) e de CO_2 ($PetCO_2$) no final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C) em contraste com a inativação de ambos reflexos (isto é, controle). Os dados de controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. $n = 7$ para $PetO_2$ e $n = 9$ para $PetCO_2$. Dados relatados como média \pm EPM e analisados por ANOVA de medidas repetidas bicaudal, seguidas de post hoc de Fisher. *, $P < 0,05$ versus controle.

A PAS e a pressão arterial diastólica (PAD) subiram do repouso ao pico do ECC de modo semelhante nas quatro condições (Figura 7). Durante a ativação isolada do quimiorreflexo (FL+NORM), a PAS e PAD mantiveram os níveis próximos ao do pico do exercício e com o comportamento semelhante à condição controle (PAS, interação: $P = 0,80$, efeito da condição: $P = 0,09$; PAD, interação: $P = 0,52$, efeito da condição: $P = 0,17$; Figura 7A e 7D). Na ativação isolada do metaborreflexo (OCIR+HIPER) e ativação simultânea dos reflexos (OCIR+NORM) tanto a PAS quanto a PAD subiram em relação ao controle (PAS, interação $P < 0,01$, efeito da condição: $P = 0,01$; PAD, interação: $P < 0,01$, efeito da condição: $P = 0,01$;) Figura 7. Já a PAD na ativação de ambos os reflexos (OCIR+NORM) subiu em comparação à condição controle (PAD, interação: $P < 0,01$, efeito do tempo: $P < 0,01$, efeito da condição: $P = 0,42$; Figura 7F). A PAS pico do TECP teve tendência a diferença em relação à PAS pico do ECC (163 ± 11 mmHg versus 151 ± 18 mmHg, média \pm erro padrão, $P = 0,10$), enquanto a PAD pico foi semelhante entre o TECP e o ECC (92 ± 5 mmHg, versus 92 ± 4 mmHg, $P = 0,94$).

A pressão parcial de O_2 ao final da expiração ($P_{et}O_2$), $P_{et}CO_2$, \dot{V}_E , V_c , Fr , Ti e Te foram semelhantes ao final das quatro sessões do ECC (Figura 6,8,9,10,11 e 12). A $P_{et}O_2$ ultrapassou os 350 mmHg depois de 21 s da recuperação sob a condição hiperóxia em todos os indivíduos. A $P_{et}CO_2$ foi semelhante ao longo do tempo na ativação do quimiorreflexo e condição controle, entretanto foi menor durante a recuperação com a ativação do metaborreflexo e com ambos reflexos ativos.

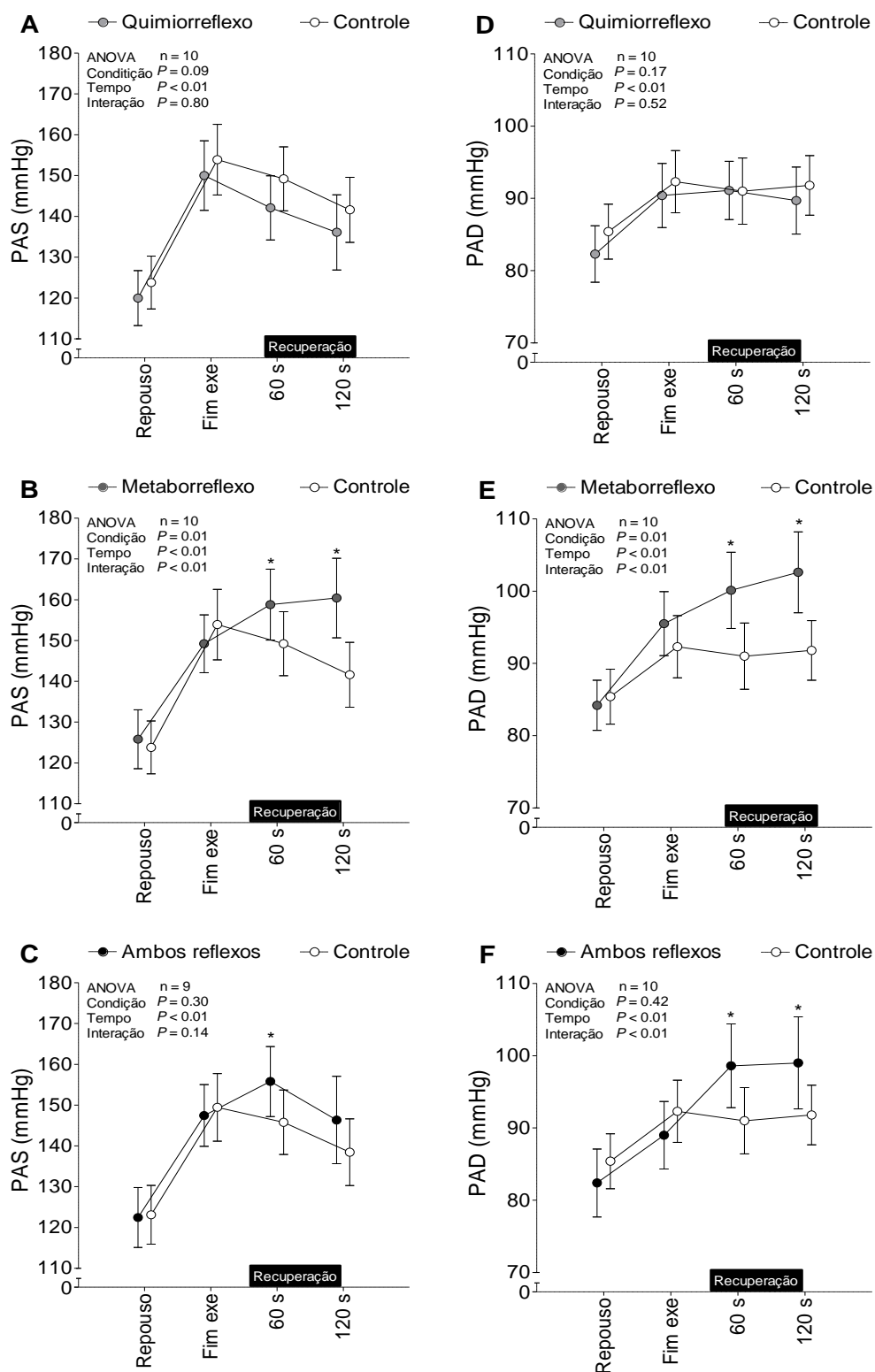


Figura 7. Pressão arterial. Pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) no repouso, ao final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A e D respectivamente), metaborreflexo muscular (painel B e E, respectivamente) e ambos os reflexos (painel C e F, respectivamente), em contraste com a inativação de ambos os reflexos (isto é, controle). Os dados do controle são repetidos nos painéis para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Dados relatados como média \pm EPM e analisados por *two way* ANOVA (painel C; n = 9, o *outlier* foi removido), seguida pelo *post hoc* de Fisher, se necessário.

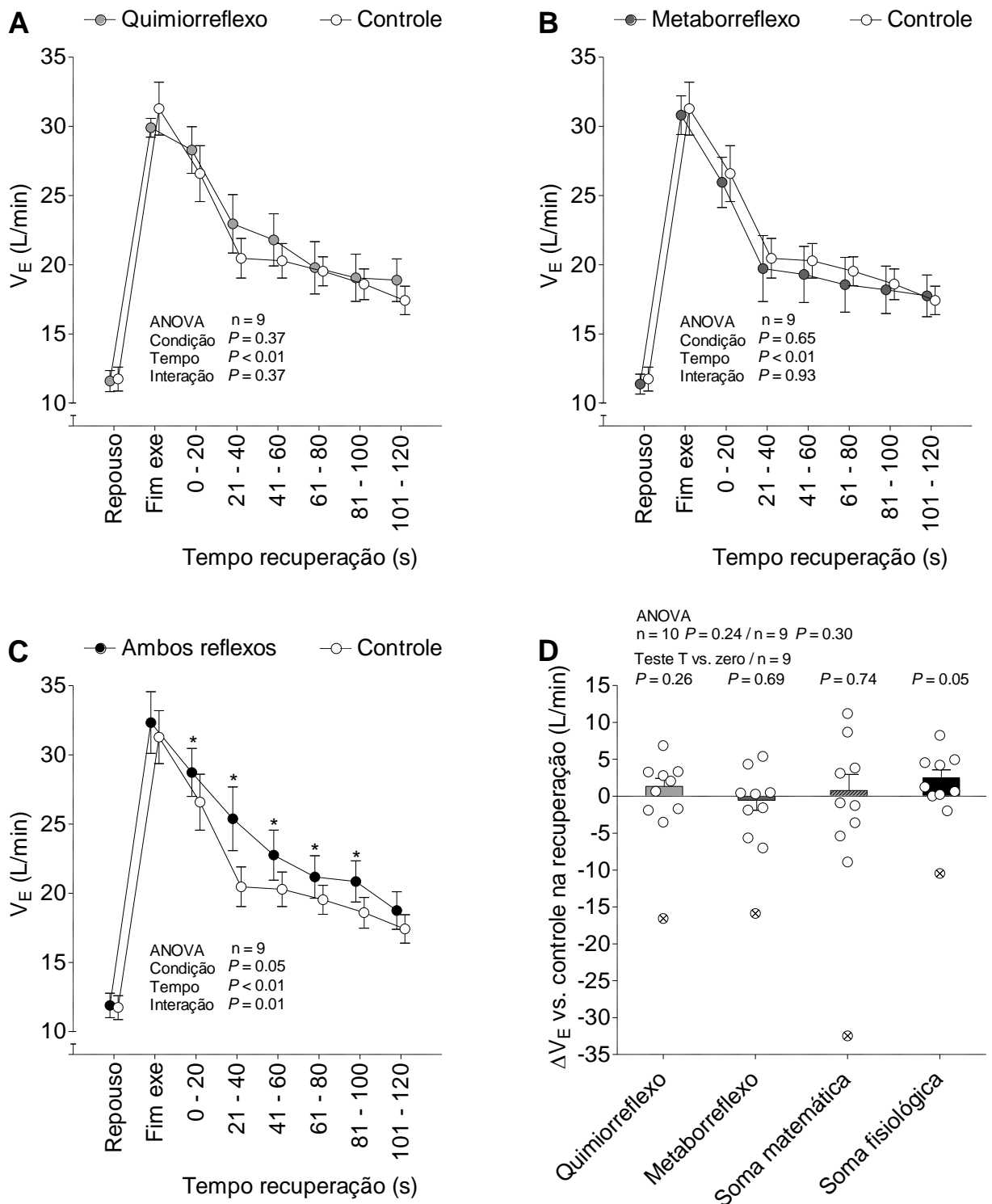


Figura 8. Ventilação minuto na recuperação. Ventilação minuto (\dot{V}_E) no exercício final e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C), em contraste com a inativação de ambos os reflexos (isto é, controle). As barras representam mudança versus controle (painel D) e o círculo riscado representa um indivíduo *outlier*. Os dados do controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Dados relatados como média \pm EPM e analisados por two way ANOVA (painéis A, B e C; n = 9, o outlier foi removido) ou one way ANOVA [painel D; n = 10 (com o *outlier*) ou 9 (sem o *outlier*)], seguida pelo *post hoc* de Fisher, se necessário.

Não houve o efeito na \dot{V}_E com a ativação isolada do metaborreflexo ou do quimiorreflexo em relação ao controle, Figura 8A, B e C. No mesmo sentido, não houve efeito no \dot{V}_c (efeito da condição: $P = 0,63$; interação: $P = 0,16$, Figura 9A, B e C) e nos deltas do \dot{V}_c (Figura 9D). A ativação isolada do quimiorreflexo e do metaborreflexo não alterou a Fr (Figura 10A e B), Ti (Figura 11A e B) e Te (Figura 12A e B) em relação à condição controle. Por outro lado, a \dot{V}_E e a Fr aumentaram quando os dois reflexos estavam ativados simultaneamente em relação ao controle, Figura 8C e 10C. A soma fisiológica ou efeito sinérgico e a soma matemática foram similares para a \dot{V}_E , porém somente a soma fisiológica aumentou a \dot{V}_E acima da condição controle (mudança maior que zero), Figura 8C. Ao mesmo tempo a soma fisiológica foi maior que a soma matemática para a Fr , Figura 10D. Adicionalmente, a ativação dos dois reflexos levou a maior resposta do Ti (efeito da condição: $P = 0,01$; interação: $P = 0,51$, Figura 11A, B e C) e Te (efeito da condição: $P = 0,01$, interação: $P = 0,15$; Figura 12A, B e C). O Ti/T_{tot} foi similar entre as condições ao longo do tempo (efeito da condição: $P = 0,96$; interação: $P = 0,66$) e em relação aos deltas versus o controle ($P = 0,89$). Por último, a soma fisiológica da Fr não se correlaciona com a Fr das respostas isoladas dos reflexos (quimiorreflexo carotídeo isolado: $r = 0,23$, $P = 0,53$; metaborreflexo muscular isolado: $r = 0,40$, $P = 0,26$) nem com a quimiossensibilidade carotídea de repouso ($r = -0,38$, $P = 0,32$).

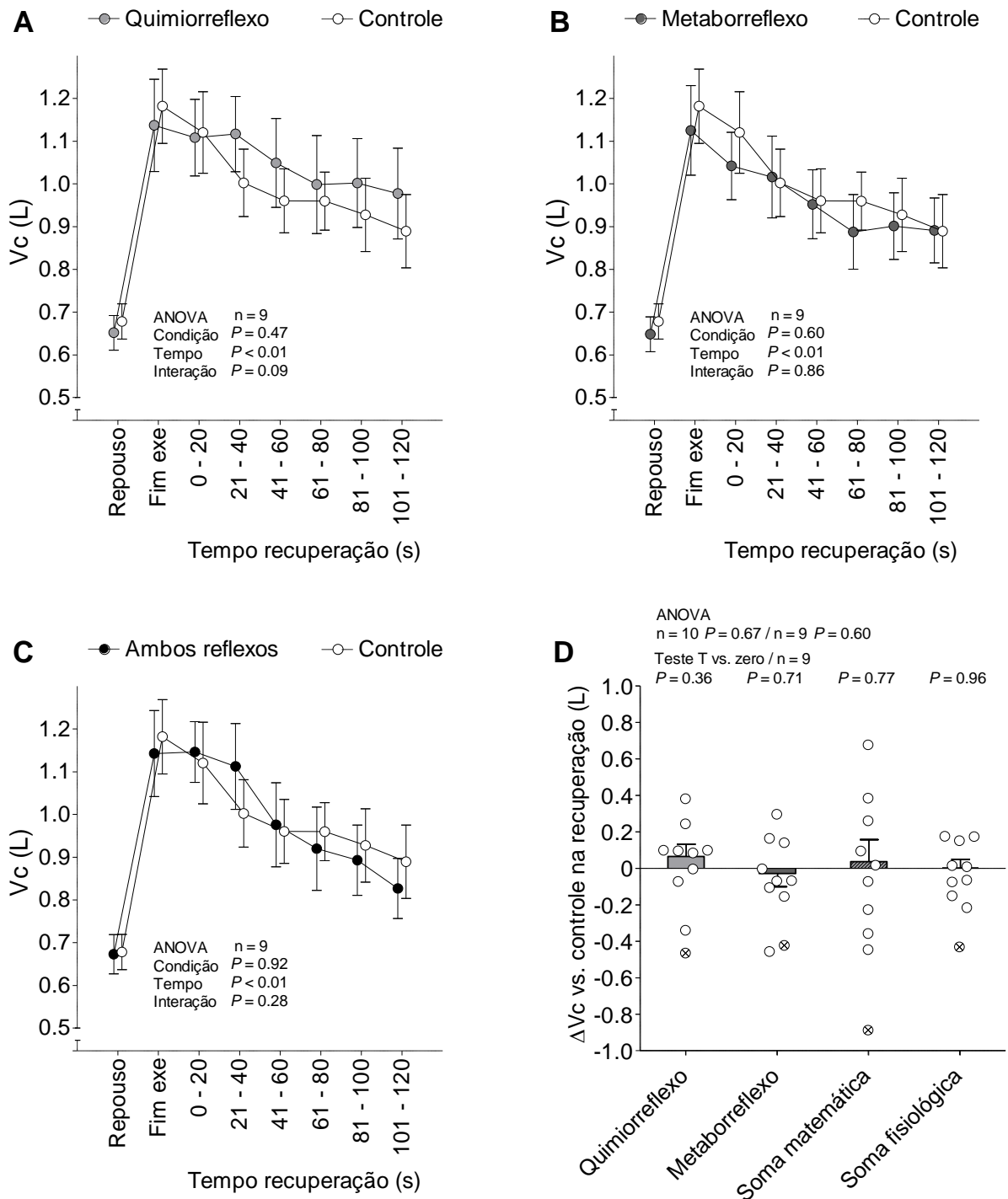


Figura 9. Volume corrente na recuperação. Volume corrente (V_t) ao final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C), em contraste com a inativação de ambos os reflexos (isto é, controle). As barras representam mudança versus controle (painel D) e o círculo riscado representa um indivíduo *outlier*. Os dados do controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Dados relatados como média \pm EPM e analisados por ANOVA two way (painéis A, B e C; n = 9, o *outlier* foi removido) ou ANOVA one way [painel D; n = 10 (com o *outlier*) ou 9 (sem o *outlier*)], seguidos de *post hoc* de Fisher, se necessário.

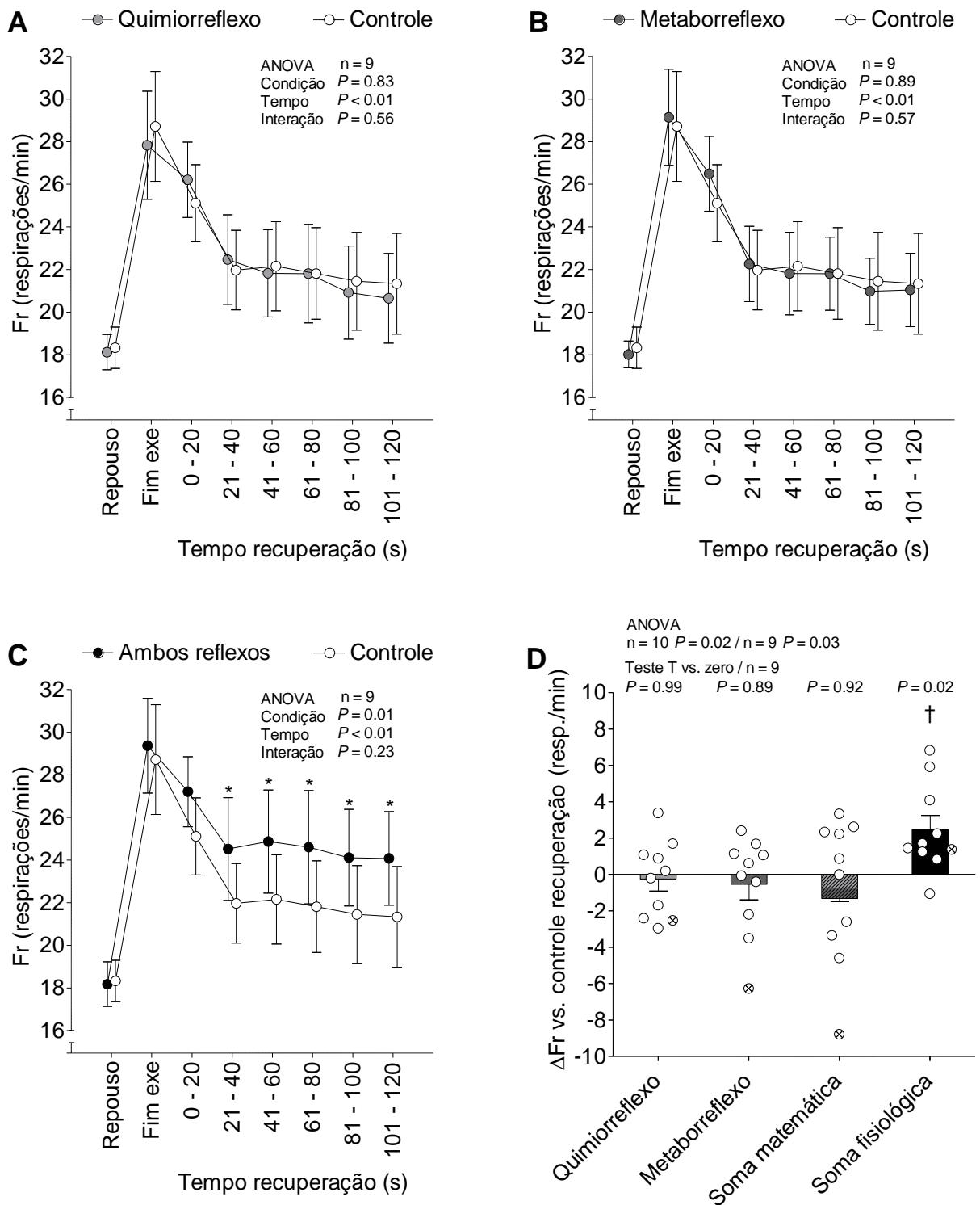


Figura 10. Frequência respiratória na recuperação. Frequência respiratória (Fr) ao final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C) em contraste com a inativação de ambos os reflexos (controle). Barras representam mudança versus controle (painel D). Os dados do controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Os dados relacionados como média ± EPM e analisados por ANOVA *two way* (painéis A, B e C; n = 10) ou ANOVA *one way* (painel D; n = 10), seguidos de *post hoc de Fisher*, se necessário.

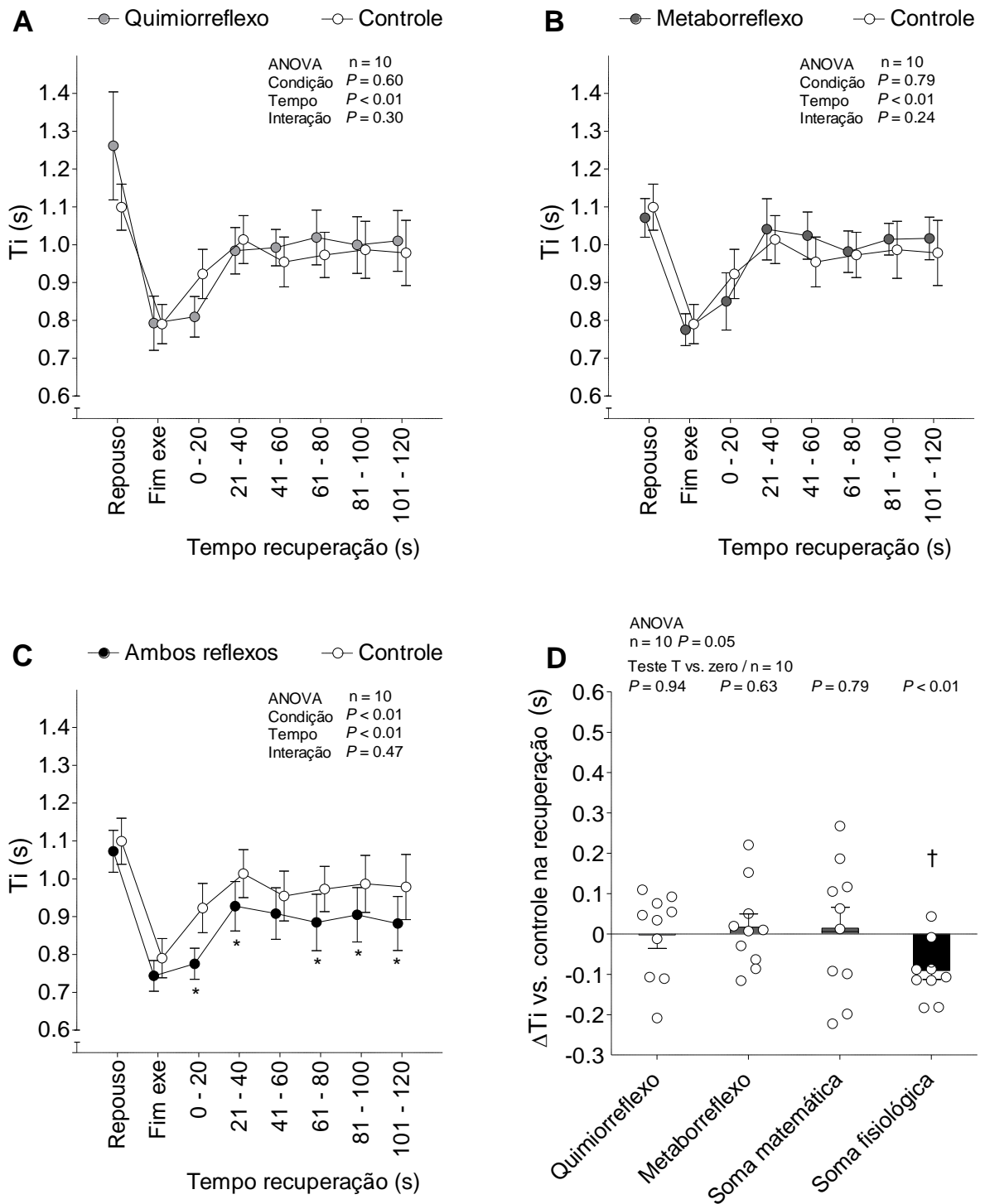


Figura 11. Tempo inspiratório na recuperação. Tempo inspiratório (Ti) ao final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C), em contraste com a inativação de ambos os reflexos (isto é, controle). Barras representam mudança *versus* controle (painel D). Os dados do controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Os dados relatados como média ± EPM e analisados por ANOVA *two way* (painéis A, B e C; n = 10) ou ANOVA *one way* (painel D; n = 10), seguidos de *post hoc de Fisher*, se necessário.

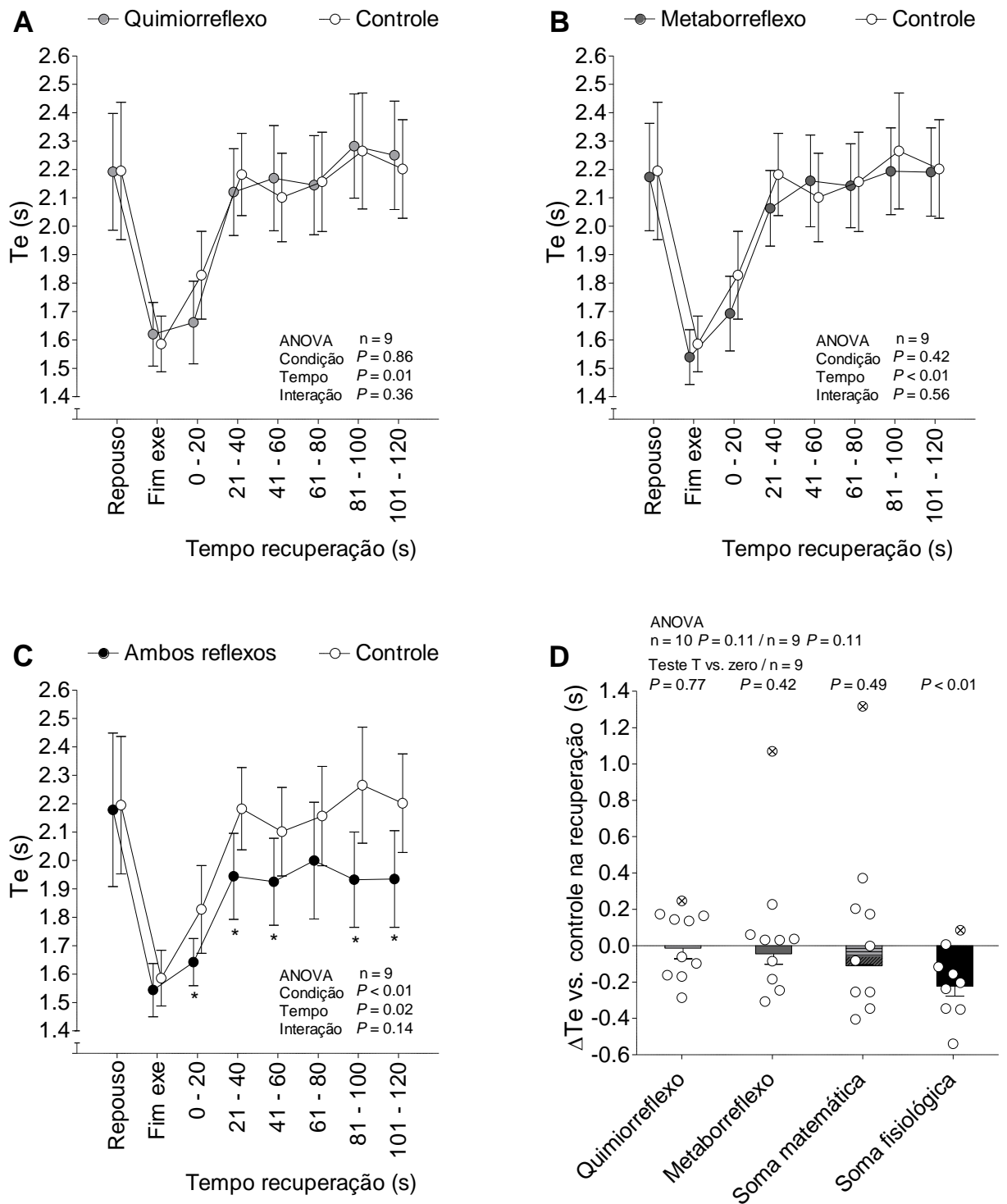


Figura 12. Tempo expiratório na recuperação. O tempo expiratório (Te) ao final do exercício e durante a recuperação sob ativação do quimiorreflexo carotídeo (painel A), metaborreflexo muscular (painel B) e ambos os reflexos (painel C), em contraste com a inativação de ambos os reflexos (isto é, controle). As barras representam mudança *versus* controle (painel D) e o círculo riscado representa um indivíduo *outlier*. Os dados do controle são repetidos nos painéis A, B e C para facilitar a comparação com os dados de outras manobras. Dados relatados como média \pm EPM e analisados por ANOVA *two way* (painéis A, B e C; n = 9, o *outlier* foi removido) ou ANOVA *one way* [painel D; n = 10 (com o *outlier*) ou 9 (sem o *outlier*)], seguidos de *post hoc de Fisher*, se necessário.

6. DISCUSSÃO

6.1 Sumário dos Resultados

A dispneia induzida pelo exercício é um sintoma característico da IC-FEr (43), principalmente pelo padrão taquidispneico, isto é, uma resposta \dot{V}_E dependente da Fr e desproporcional ao aumento da produção metabólica de CO_2 . Neste estudo investigamos o possível efeito de dois mecanismos neurais, o quimiorreflexo carotídeo e do metaborreflexo muscular, com ênfase no possível efeito sinérgico ou hiperaditivo ou soma fisiológica da interação desses reflexos no controle da ventilação. Apesar do conhecido efeito da ativação isolada desses reflexos na regulação da taquipneia do exercício na IC-FEr, a sua interação (efeito hiperaditivo) ainda não havia sido investigada.

O principal achado da presente tese foi que o resultado da ativação isolada do quimiorreflexo carotídeo e do metaborreflexo muscular, somados matematicamente, não alterou a \dot{V}_E e o padrão respiratório em relação à condição controle. Enquanto que a ativação simultânea dos reflexos levou a uma maior resposta da \dot{V}_E e Fr em relação ao controle (efeito hiperaditivo ou sinérgico). Deste modo, os nossos resultados dão suporte para a existência de uma interação sinérgica entre o metaborreflexo muscular e o quimiorreflexo carotídeo na regulação da \dot{V}_E e do padrão respiratório na população estudada.

Outra descoberta digna de nota foi que a soma fisiológica (efeito sinérgico) da \dot{V}_E e Fr não estão associadas a \dot{V}_E e Fr dos reflexos ativados isoladamente nem com quimiossensibilidade carotídea em repouso. A ausência de associação indica que o efeito mediado por reflexos separados não previu o efeito produzido quando ambos os reflexos estavam ativos simultaneamente. Portanto, nossos resultados sugerem que a interação dos reflexos deve ser mais explorada, principalmente em pacientes que apresentam \dot{V}_E e padrão respiratório alterados ao exercício, como aqueles com IC-FEr.

Ativação isolada do Quimiorreflexo Carotídeo

A ativação isolada do quimiorreflexo carotídeo (FL+NORM) não modificou a \dot{V}_E , Fr e V_c em comparação à situação controle (FL+HIPER). É improvável que a ausência de efeito da hiperóxia possa ser atribuída à inibição insuficiente dos quimiorreceptores

carotídeos. Em animais anestesiados a pressão de oxigênio no sangue arterial (PaO_2) acima de 350 mmHg provoca uma grande redução na atividade dos quimiorreceptores carotídeos (179). Em nosso experimento, a $PetO_2$ foi utilizada como substituta da PaO_2 . No início da recuperação foi ofertado FiO_2 de 100%, sendo atingido o nível de 350 mmHg após 21 s de recuperação. Portanto, a partir deste momento, a hiperóxia provavelmente induziu uma inibição robusta dos quimiorreceptores carotídeos. Adicionalmente, é improvável que os quimiorreceptores aórticos ou qualquer outro mecanismo sensível ao O_2 desempenhem um papel relevante no controle ventilatório em humanos. A razão é que a remoção de corpos carotídeos em humanos, por causa do tratamento da asma na década de 1960 ou da remoção de tumores na região do pescoço, quase abole a resposta ventilatória à hipóxia (194, 195).

Um estudo recente empregou uma abordagem metodológica semelhante à nossa em pacientes com hipertensão arterial pulmonar (185). Eles ofertaram FiO_2 100% no ar inspirado com 10 s antes do início da recuperação ativa do exercício incremental. O resultado foi que a hiperóxia diminuiu a \dot{V}_E durante os primeiros 30 s da recuperação em relação à normóxia. O efeito diferente da hiperóxia entre o presente estudo e o primeiro pode ser atribuído à intensidade do exercício (presente: 60% máx versus primeiro: 90% máx), tipo de recuperação (presente: inativo vs. primeiro: ativo) e a doença subjacente (presente: IC-FEr vs. primeiro: hipertensão pulmonar). No entanto, no estudo em pacientes com hipertensão pulmonar, a recuperação da \dot{V}_E foi semelhante entre hiperóxia e normóxia de 30 s até o final do período de recuperação (300 s), o que é semelhante aos dados do presente estudo. Outro estudo, conduzido em humanos saudáveis, mostrou que a resposta da \dot{V}_E à hipóxia transitória não variou do nível basal de repouso ao longo de aproximadamente 40 min de recuperação de exercícios pesados (196), indicando, portanto, que a sensibilidade dos quimiorreceptores carotídeos não foi alterada. Coletivamente, os nossos dados e de estudos anteriores (185, 196) sustentam que os quimiorreceptores carotídeos, isoladamente, parecem não contribuir efetivamente ou pouco contribuem para a regulação da \dot{V}_E durante a recuperação do exercício.

Ativação isolada do Metaborreflexo Muscular

A ativação isolada do metaborreflexo muscular (OCIR+HIPER) não modificou a resposta da \dot{V}_E , Fr e V_c em comparação à condição controle (FL+HIPER). A pressão

arterial durante a recuperação com oclusão circulatória permaneceu em níveis algo superiores ao final do exercício. Em contrapartida, houve queda da pressão arterial na recuperação sem oclusão circulatória. Os dados da pressão arterial, portanto, corroboram achados prévios (13, 197, 198) e indicam que o metaborreflexo muscular estava operando na recuperação com oclusão circulatória. Embora a ativação isolada do metaborreflexo muscular tenha efeito na pressão arterial, não alterou a recuperação da \dot{V}_E e o padrão respiratório em relação ao controle. Isso é semelhante aos resultados de outros estudos que também acessaram o efeito da ativação do metaborreflexo muscular na \dot{V}_E na IC-FEr por meio da oclusão da circulação dos membros inferiores (13, 198, 199). Destaca-se que o nosso estudo utilizou intensidade de exercício e protocolo de oclusão circulatória semelhante ao de Olson et al. (13), porém com uma população de IC-FEr de maior gravidade (presente estudo classe II e III da NYHA *versus* classe I e II), e a ativação isolada do metaborreflexo não alterou de modo significativo a \dot{V}_E na IC-FEr, o que sugere ser um padrão característico desta população.

Por outro lado, em indivíduos saudáveis, a oclusão circulatória dos membros inferiores provoca uma redução da \dot{V}_E na comparação com a recuperação do exercício sem oclusão (13, 172, 198, 199). Essa resposta é paradoxal a observada na IC-FEr. A razão para tal resposta em indivíduos saudáveis ainda é desconhecida. Ao mesmo tempo, o fato de a oclusão circulatória não alterar a recuperação da \dot{V}_E na IC-FEr, enquanto acentua a recuperação da \dot{V}_E em controles saudáveis tem sido interpretada como evidência de que o metaborreflexo muscular contribui para a resposta da \dot{V}_E na IC-FEr (13, 198, 199). Vale ressaltar que as evidências obtidas por meio da inibição da via aferente muscular corroboram a interpretação de que o metaborreflexo muscular contribui para maior \dot{V}_E nos pacientes com IC-FEr. Por exemplo, Olson et al. (200) mostraram que a infusão de fentanil intratecal na região lombar reduziu a \dot{V}_E durante o exercício de carga constante na comparação com a infusão de solução salina em pacientes com IC-FEr, entretanto o fentanil não alterou a \dot{V}_E durante o exercício em controles saudáveis.

Ativação simultânea do Metaborreflexo Muscular e Quimiorreflexo Carotídeo

A ativação isolada do quimiorreflexo carotídeo (FL+NORM) e do metaborreflexo muscular (OCIR+HIPER) não modificaram a \dot{V}_E , V_c e Fr em relação à condição controle. Entretanto, a ativação simultânea dos reflexos (OCIR+NORM) aumentou a \dot{V}_E e a Fr acima da condição controle, reduzindo o T_i e o T_e . Conseqüentemente, a soma fisiológica da \dot{V}_E e Fr foi maior que a soma matemática. Durante a ativação simultânea dos reflexos foi observado maior valor de \dot{V}_E e Fr a partir de 21 s até o final da recuperação. O atraso para observação do efeito da hiperóxia na \dot{V}_E e Fr é provavelmente atribuído ao nível da $P_{et}O_2$ (201), que ultrapassou os 350 mmHg após 21 s da recuperação do exercício. Desse modo, o tempo de atraso indica que o efeito da hiperóxia na \dot{V}_E e Fr foi em consequência da inibição dos quimiorreceptores carotídeos quando a circulação foi obstruída.

Dois estudos compararam o efeito da hipóxia isolada (ativação do quimiorreflexo carotídeo), isquemia pós-exercício de preensão manual (ativação do metaborreflexo muscular) e o efeito combinado dos dois procedimentos na resposta da \dot{V}_E em jovens saudáveis. Gujic et al. (202) reportaram maior resposta da \dot{V}_E com o estímulo combinado em comparação ao efeito isolado dos estímulos, porém não calcularam a soma dos estímulos isolados e, conseqüentemente, não compararam o efeito fisiológico com a soma matemática dos reflexos. Contudo, a nossa estimativa baseada nos dados publicados sugere uma tendência para maior resposta da \dot{V}_E com o estímulo da soma fisiológica (~6 L/min acima do controle) que a soma matemática (~ 5 L/min acima do controle). Outro estudo conduzido por Edgell e Stickland (203) mostrou que a isquemia pós-exercício de preensão manual com hipóxia tem a tendência ($P = 0.14$) de provocar maior resposta da \dot{V}_E que a soma de cada estímulo isolado.

Nos estudos acima (202, 203), a $P_{et}CO_2$ foi menor durante a isquemia pós-exercício com hipóxia em relação à isquemia pós-exercício e a hipóxia isoladas. O quimiorreflexo carotídeo tem efeito hiperaditivo sobre a resposta ventilatória do quimiorreflexo central (204). Deste modo a menor $P_{et}CO_2$ possivelmente reduziu a \dot{V}_E (205), e conseqüentemente influenciou o resultado. Assim, a presença da $P_{et}CO_2$ no mesmo nível poderia ter deixado a diferença da soma fisiológica e soma matemática

mais evidentes, o que sugere que o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular interagem de modo hiperaditivo, sinérgico ou de modo multiplicativo na regulação da \dot{V}_E em jovens saudáveis. Consoante a isso, a interpretação dos resultados reportados por Gujic et al. (202) e Edgell e Stickland (203) é algo semelhante à interpretação dos dados aqui apresentados.

Nosso estudo não foi concebido para distinguir o local e o modo da interação entre o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular, mas é concebível que esses reflexos interajam através do sistema nervoso central e periférico. Aferências dos quimiorreceptores carotídeos (206) e metaborreceptores musculares fazem sinapse em regiões próximas no núcleo do trato solitário (207). Assim, sinais aferentes poderiam ser potencializados nessa região, semelhante ao descrito para a interação entre os sinais aferentes dos barorreceptores arteriais e os mecano e metaborreceptores musculares (207). Outra possibilidade seria o efeito da ativação do metaborreflexo muscular aumentando a atividade dos quimiorreceptores carotídeos através do aumento da atividade neural simpática ao glomus carotídeo (208).

6.2 Limitações

Não foi incluído um grupo saudável pareado por idade e sexo para contrapor ao grupo com IC-FEr. É possível que a ativação simultânea dos reflexos estudados provoque maior efeito em pacientes com IC-FEr em relação aos controles saudáveis, o que merece investigações em estudos subsequentes. A nossa hipótese foi que a resposta da \dot{V}_E e Fr à ativação simultânea dos reflexos seria hiperaditiva, porém o efeito na \dot{V}_E foi aditivo ao invés de hiperaditivo. Talvez a resposta aditiva possa ser creditada à severidade dos pacientes estudados. Somente um sujeito em nosso estudo apresentava aumento da sensibilidade de repouso do quimiorreflexo carotídeo superior aos níveis de normalidade (209). Assim, o efeito da ativação simultânea dos reflexos poderá ser maior em pacientes com sensibilidade de repouso aumentada do quimiorreflexo carotídeo.

Não foi mensurado a percepção de esforço ventilatório (PEV) durante a ativação simultânea do metaborreflexo muscular e quimiorreflexo carotídeo. A PEV tem forte associação com a resposta da Fr durante o exercício (210, 211). Em um estudo com hipnose e imageamento cerebral foi demonstrado uma associação temporal entre a PEV, a Fr, \dot{V}_E e ativação de áreas motoras cerebrais do comando

central (*feedforward*), o mesmo não ocorrendo em relação ao V_c (144). Assim, a medida da PEV poderia trazer informações adicionais sobre a regulação da Fr nas respostas ventilatórias. Isto poderá ser realizado em estudos futuros.

6.3 Implicações

Os resultados aqui encontrados indicam que a interação entre o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular elevam a \dot{V}_E e Fr , o que contribui de algum modo para o padrão respiratório taquipneico do exercício nos pacientes com IC-FEr. As consequências fisiológicas do padrão respiratório taquipneico durante o exercício em pacientes com IC-FEr podem incluir aumento do trabalho respiratório (132), o que pode acentuar a percepção de dispneia (129, 133).

O aumento de recrutamento dos músculos respiratórios pode induzir a competição pela distribuição do baixo débito cardíaco dos pacientes entre os músculos respiratórios e locomotores (12), o que provavelmente contribui para restringir a perfusão dos músculos locomotores (12). Como resultado, o desconforto do membro inferior pode aumentar e, juntamente com a dispneia supracitada, contribuir de forma importante para reduzir a tolerância ao exercício (12). Consequentemente, a atenuação da interação entre o quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular poderia ser benéfica para pacientes com IC-FEr, e isso provavelmente poderia ser alcançado, por exemplo, por meio de treinamento físico (212).

6.4 Conclusão

O quimiorreflexo carotídeo e o metaborreflexo muscular interagiram para a regulação da \dot{V}_E e da Fr de maneira dependente em pacientes com IC-FEr. Portanto, se essa interação operar durante o exercício, pode ter alguma contribuição para a hiperventilação do exercício IC-FEr.

7. REFERÊNCIAS

1. Coronel R, De Groot J, Van Lieshout J. Defining heart failure. Elsevier Science; 2001.
2. Tan LB, Williams SG, Tan DK, Cohen-Solal A. So many definitions of heart failure: are they all universally valid? A critical appraisal. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2010;8(2):217-28.
3. Pina IL, Apstein CS, Balady GJ, Belardinelli R, Chaitman BR, Duscha BD, et al. Exercise and heart failure: A statement from the American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. *Circulation.* 2003;107(8):1210-25.
4. Savarese G, Lund LH. Global Public Health Burden of Heart Failure. *Card Fail Rev.* 2017;3(1):7-11.
5. Alkhawam H, Madanieh R, El-Hunjul M, Madanieh A, Syed U, Ahmad S, et al. Morbidity and Mortality of Congestive Heart Failure in Trauma Patients. *Am J Med Sci.* 2016;352(2):172-6.
6. Eapen ZJ, Liang L, Fonarow GC, Heidenreich PA, Curtis LH, Peterson ED, et al. Validated, electronic health record deployable prediction models for assessing patient risk of 30-day rehospitalization and mortality in older heart failure patients. *JACC Heart failure.* 2013;1(3):245-51.
7. Maggioni AP, Dahlstrom U, Filippatos G, Chioncel O, Crespo Leiro M, Drozd J, et al. EURObservational Research Programme: regional differences and 1-year follow-up results of the Heart Failure Pilot Survey (ESC-HF Pilot). *European journal of heart failure.* 2013;15(7):808-17.
8. Pocock SJ, Ariti CA, McMurray JJ, Maggioni A, Kober L, Squire IB, et al. Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies. *European heart journal.* 2013;34(19):1404-13.
9. Rahimi K, Bennett D, Conrad N, Williams TM, Basu J, Dwight J, et al. Risk prediction in patients with heart failure: a systematic review and analysis. *JACC Heart failure.* 2014;2(5):440-6.
10. Van Iterson EH, Johnson BD, Borlaug BA, Olson TP. Physiological dead space and arterial carbon dioxide contributions to exercise ventilatory inefficiency in patients with reduced or preserved ejection fraction heart failure. *European journal of heart failure.* 2017;19(12):1675-85.
11. Brassard P, Gustafsson F. Exercise Intolerance in Heart Failure: Did We Forget the Brain? *The Canadian journal of cardiology.* 2016;32(4):475-84.
12. Borghi-Silva A, Carrascosa C, Oliveira CC, Barroco AC, Berton DC, Vilaca D, et al. Effects of respiratory muscle unloading on leg muscle oxygenation and blood

volume during high-intensity exercise in chronic heart failure. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2008;294(6):H2465-72.

13. Olson TP, Joyner MJ, Johnson BD. Influence of locomotor muscle metaboreceptor stimulation on the ventilatory response to exercise in heart failure. *Circulation Heart failure*. 2010;3(2):212-9.

14. Witte KK, Clark AL. Why does chronic heart failure cause breathlessness and fatigue? *Progress in cardiovascular diseases*. 2007;49(5):366-84.

15. Alves MJ, Rondon MU, Santos AC, Dias RG, Barretto AC, Krieger EM, et al. Sympathetic nerve activity restrains reflex vasodilatation in heart failure. *Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society*. 2007;17(6):364-9.

16. Rondon MU, Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, et al. Abnormal muscle metaboreflex control of sympathetic activity in never-treated hypertensive subjects. *American journal of hypertension*. 2006;19(9):951-7.

17. Sue DY. Excess ventilation during exercise and prognosis in chronic heart failure. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;183(10):1302-10.

18. Kara T, Narkiewicz K, Somers VK. Chemoreflexes--physiology and clinical implications. *Acta physiologica Scandinavica*. 2003;177(3):377-84.

19. Ponikowski P, Banasiak W. Chemosensitivity in chronic heart failure. *Heart failure monitor*. 2001;1(4):126-31.

20. Ding Y, Li YL, Schultz HD. Role of blood flow in carotid body chemoreflex function in heart failure. *J Physiol*. 2011;589(Pt 1):245-58.

21. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *The New England journal of medicine*. 2001;344(22):1651-8.

22. Nurse CA. Carotid body: new stimuli and new preparations--invited article. *Advances in experimental medicine and biology*. 2009;648:29-38.

23. Stickland MK, Morgan BJ, Dempsey JA. Carotid chemoreceptor modulation of sympathetic vasoconstrictor outflow during exercise in healthy humans. *J Physiol*. 2008;586(6):1743-54.

24. Stickland MK, Miller JD, Smith CA, Dempsey JA. Carotid chemoreceptor modulation of regional blood flow distribution during exercise in health and chronic heart failure. *Circulation research*. 2007;100(9):1371-8.

25. Rowell LB. Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876-2003): cycles of revision and new vision. *Journal of applied physiology*. 2004;97(1):384-92.

26. Teixeira AL, Ramos PS, Samora M, Sabino-Carvalho JL, Ricardo DR, Colombari E, et al. GABAergic contribution to the muscle mechanoreflex-mediated heart rate responses at the onset of exercise in humans. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2018;314(4):H716-H23.
27. Notarius CF, Floras JS. Point:counterpoint: Increased mechanoreceptor/metaboreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *Journal of applied physiology*. 2007;102(2):824.
28. Middlekauff HR, Sinoway LI. Increased mechanoreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *Journal of applied physiology*. 2007;102(1):492-4; discussion 6.
29. Garry MG, Smith SA, Mitchell JH. Increased mechanoreceptor/metaboreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *Journal of applied physiology*. 2007;102(1):502; author reply 4-5.
30. Zucker IH, Schultz HD, Wang W. Increased mechanoreceptor/metaboreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *Journal of applied physiology*. 2007;102(1):498; author reply 504-5.
31. Piepoli MF, Coats AJ. Increased metaboreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *Journal of applied physiology*. 2007;102(1):494-6; discussion 6-7.
32. Sue DY, Wasserman K. Impact of integrative cardiopulmonary exercise testing on clinical decision making. *Chest*. 1991;99(4):981-92.
33. Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Mann DL, Tomaselli GF. *Braunwald's Heart Disease E-Book: A Textbook of Cardiovascular Medicine*: Elsevier Health Sciences; 2018.
34. Stevens B, Pezzullo L, Verdian L, Tomlinson J, George A, Bacal F. The Economic Burden of Heart Conditions in Brazil. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2018;111:29-36.
35. Ribeiro AL, Duncan BB, Brant LC, Lotufo PA, Mill JG, Barreto SM. Cardiovascular Health in Brazil: Trends and Perspectives. *Circulation*. 2016;133(4):422-33.
36. Roger VL. Epidemiology of heart failure. *Circulation research*. 2013;113(6):646-59.
37. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2020;141(9):e139-e596.
38. Ponikowski P, Anker SD, AlHabib KF, Cowie MR, Force TL, Hu S, et al. Heart failure: preventing disease and death worldwide. *ESC heart failure*. 2014;1(1):4-25.

39. Dunlay SM, Roger VL, Redfield MM. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol.* 2017;14(10):591-602.
40. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *New England Journal of Medicine.* 2006;355(3):251-9.
41. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European journal of heart failure.* 2016;18(8):891-975.
42. Borlaug BA. Heart failure with preserved and reduced ejection fraction: different risk profiles for different diseases. *European heart journal.* 2013;34(19):1393-5.
43. Reddy YN, Borlaug BA. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Current problems in cardiology.* 2016;41(4):145-88.
44. Xie M, Burchfield JS, Hill JA. Pathological ventricular remodeling: therapies: part 2 of 2. *Circulation.* 2013;128(9):1021-30.
45. Lothar A, Hein L. Pharmacology of heart failure: From basic science to novel therapies. *Pharmacology & therapeutics.* 2016;166:136-49.
46. Burchfield JS, Xie M, Hill JA. Pathological ventricular remodeling: mechanisms: part 1 of 2. *Circulation.* 2013;128(4):388-400.
47. Investigators S, Yusuf S, Pitt B, Davis CE, Hood WB, Cohn JN. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *The New England journal of medicine.* 1991;325(5):293-302.
48. Kjekshus J, Swedberg K, Snapinn S. Effects of enalapril on long-term mortality in severe congestive heart failure. CONSENSUS Trial Group. *The American journal of cardiology.* 1992;69(1):103-7.
49. Cohn JN, Franciosa JA. Vasodilator therapy of cardiac failure: (first of two parts). *The New England journal of medicine.* 1977;297(1):27-31.
50. Cohn JN, Franciosa JA. Vasodilator therapy of cardiac failure (second of two parts). *The New England journal of medicine.* 1977;297(5):254-8.
51. Gogia H, Mehra A, Parikh S, Raman M, Ajit-Uppal J, Johnson JV, et al. Prevention of tolerance to hemodynamic effects of nitrates with concomitant use of hydralazine in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology.* 1995;26(7):1575-80.

52. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Jr., Ferdinand K, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *The New England journal of medicine*. 2004;351(20):2049-57.
53. Mullens W, Abrahams Z, Francis GS, Sokos G, Starling RC, Young JB, et al. Usefulness of Isosorbide Dinitrate and Hydralazine as add-on therapy in patients discharged for advanced decompensated heart failure. *The American journal of cardiology*. 2009;103(8):1113-9.
54. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet*. 1999;353(9169):2001-7.
55. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet*. 1999;353(9146):9-13.
56. Bristow MR, Gilbert EM, Abraham WT, Adams KF, Fowler MB, Hershberger RE, et al. Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. MOCHA Investigators. *Circulation*. 1996;94(11):2807-16.
57. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *The New England journal of medicine*. 1999;341(10):709-17.
58. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, van Veldhuisen DJ, Swedberg K, Shi H, et al. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *The New England journal of medicine*. 2011;364(1):11-21.
59. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial--the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet*. 2000;355(9215):1582-7.
60. Granger CB, McMurray JJ, Yusuf S, Held P, Michelson EL, Olofsson B, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet*. 2003;362(9386):772-6.
61. Bohm M, Swedberg K, Komajda M, Borer JS, Ford I, Dubost-Brama A, et al. Heart rate as a risk factor in chronic heart failure (SHIFT): the association between heart rate and outcomes in a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010;376(9744):886-94.
62. Swedberg K, Komajda M, Bohm M, Borer JS, Ford I, Dubost-Brama A, et al. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet*. 2010;376(9744):875-85.

63. Ruilope LM, Dukat A, Bohm M, Lacourciere Y, Gong J, Lefkowitz MP. Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study. *Lancet*. 2010;375(9722):1255-66.
64. von Lueder TG, Sangaralingham SJ, Wang BH, Kompa AR, Atar D, Burnett JC, Jr., et al. Renin-angiotensin blockade combined with natriuretic peptide system augmentation: novel therapeutic concepts to combat heart failure. *Circulation Heart failure*. 2013;6(3):594-605.
65. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Dual angiotensin receptor and neprilysin inhibition as an alternative to angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale for and design of the Prospective comparison of ARNI with ACEI to Determine Impact on Global Mortality and morbidity in Heart Failure trial (PARADIGM-HF). *European journal of heart failure*. 2013;15(9):1062-73.
66. Zweerink A, van der Lingen ACJ, Handoko ML, van Rossum AC, Allaart CP. Chronotropic Incompetence in Chronic Heart Failure. *Circulation Heart failure*. 2018;11(8):e004969.
67. Katbeh A, Van Camp G, Barbato E, Galderisi M, Trimarco B, Bartunek J, et al. Cardiac Resynchronization Therapy Optimization: A Comprehensive Approach. *Cardiology*. 2019;142(2):116-28.
68. Cerretelli P. Energy sources for muscular exercise. *International journal of sports medicine*. 1992;13 Suppl 1:S106-10.
69. Greenhaff PL, Timmons JA. Interaction between aerobic and anaerobic metabolism during intense muscle contraction. *Exercise and sport sciences reviews*. 1998;26:1-30.
70. Hardie DG. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology*. 2003;144(12):5179-83.
71. Casaburi R, Spitzer S, Haskell R, Wasserman K. Effect of altering heart rate on oxygen uptake at exercise onset. *Chest*. 1989;95(1):6-12.
72. Casaburi R, Weissman ML, Huntsman DJ, Whipp BJ, Wasserman K. Determinants of gas exchange kinetics during exercise in the dog. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1979;46(6):1054-60.
73. Weissman ML, Jones PW, Oren A, Lamarra N, Whipp BJ, Wasserman K. Cardiac output increase and gas exchange at start of exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1982;52(1):236-44.
74. Whipp BJ, Ward SA. Determinants and control of breathing during muscular exercise. *British journal of sports medicine*. 1998;32(3):199-211.

75. Lewis GD, Shah RV, Pappagianopolas PP, Systrom DM, Semigran MJ. Determinants of ventilatory efficiency in heart failure: the role of right ventricular performance and pulmonary vascular tone. *Circulation Heart failure*. 2008;1(4):227-33.
76. Poon CS, Tin C. Mechanism of augmented exercise hyperpnea in chronic heart failure and dead space loading. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2013;186(1):114-30.
77. Malhotra R, Bakken K, D'Elia E, Lewis GD. Cardiopulmonary Exercise Testing in Heart Failure. *JACC Heart failure*. 2016;4(8):607-16.
78. Haykowsky MJ, Tomczak CR, Scott JM, Paterson DI, Kitzman DW. Determinants of exercise intolerance in patients with heart failure and reduced or preserved ejection fraction. *Journal of applied physiology*. 2015;119(6):739-44.
79. Moreno AM, Castro RR, Silva BM, Villacorta H, Sant'Anna Junior M, Nobrega AC. Intercostal and forearm muscle deoxygenation during respiratory fatigue in patients with heart failure: potential role of a respiratory muscle metaboreflex. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2014;47(11):972-6.
80. Corrà U, Giordano A, Bosimini E, Mezzani A, Piepoli M, Coats AJ, et al. Oscillatory ventilation during exercise in patients with chronic heart failure: clinical correlates and prognostic implications. *Chest*. 2002;121(5):1572-80.
81. Leite JJ, Mansur AJ, de Freitas HF, Chizola PR, Bocchi EA, Terra-Filho M, et al. Periodic breathing during incremental exercise predicts mortality in patients with chronic heart failure evaluated for cardiac transplantation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(12):2175-81.
82. Corra U, Pistono M, Mezzani A, Braghiroli A, Giordano A, Lanfranchi P, et al. Sleep and exertional periodic breathing in chronic heart failure: prognostic importance and interdependence. *Circulation*. 2006;113(1):44-50.
83. Ribeiro JP, Knutzen A, Rocco MB, Hartley LH, Colucci WS. Periodic breathing during exercise in severe heart failure. Reversal with milrinone or cardiac transplantation. *Chest*. 1987;92(3):555-6.
84. Narkiewicz K, Pesek CA, van de Borne PJ, Kato M, Somers VK. Enhanced sympathetic and ventilatory responses to central chemoreflex activation in heart failure. *Circulation*. 1999;100(3):262-7.
85. Piepoli MF, Kaczmarek A, Francis DP, Davies LC, Rauchhaus M, Jankowska EA, et al. Reduced peripheral skeletal muscle mass and abnormal reflex physiology in chronic heart failure. *Circulation*. 2006;114(2):126-34.
86. Neder JA, Andreoni S, Lerario MC, Nery LE. Reference values for lung function tests. II. Maximal respiratory pressures and voluntary ventilation. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 1999;32(6):719-27.

87. Babb TG. Mechanical ventilatory constraints in aging, lung disease, and obesity: perspectives and brief review. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 1999;31(1):S12-S22.
88. Wasserman K, Whipp BJ. Exercise physiology in health and disease. *American Review of Respiratory Disease*. 1975;112(2):219-49.
89. Meyers J, Forman D, Lavie C, Arena R, Conraads V, Kitzman D, et al. Clinical recommendations for cardiopulmonary exercise testing data assessment in specific patient populations. EACPR/AHA Joint Scientific Statement: Hogeschool Utrecht; 2012.
90. Herdy AH, Uhlendorf D. Reference values for cardiopulmonary exercise testing for sedentary and active men and women. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2011;96(1):54-9.
91. Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *The New England journal of medicine*. 2002;346(11):793-801.
92. Agarwal SK. Cardiovascular benefits of exercise. *International journal of general medicine*. 2012;5:541-5.
93. Hansen JE, Sue DY, Wasserman K. Predicted values for clinical exercise testing. *The American review of respiratory disease*. 1984;129(2 Pt 2):S49-55.
94. Keteyian SJ, Patel M, Kraus WE, Brawner CA, McConnell TR, Pina IL, et al. Variables Measured During Cardiopulmonary Exercise Testing as Predictors of Mortality in Chronic Systolic Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;67(7):780-9.
95. Mehra MR, Canter CE, Hannan MM, Semigran MJ, Uber PA, Baran DA, et al. The 2016 International Society for Heart Lung Transplantation listing criteria for heart transplantation: A 10-year update. *J Heart Lung Transplant*. 2016;35(1):1-23.
96. Arena R, Myers J, Abella J, Pinkstaff S, Brubaker P, Moore B, et al. Determining the preferred percent-predicted equation for peak oxygen consumption in patients with heart failure. *Circulation Heart failure*. 2009;2(2):113-20.
97. Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH, Jr., Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation*. 1991;83(3):778-86.
98. Bacal F, Marcondes-Braga FG, Rohde LEP, Xavier Junior JL, Brito FS, Moura LAZ, et al. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2018;111(2):230-89.
99. Weber KT, Kinasewitz GT, Janicki JS, Fishman AP. Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic cardiac failure. *Circulation*. 1982;65(6):1213-23.

100. Ritt LE, Myers J, Stein R, Arena R, Guazzi M, Chase P, et al. Additive prognostic value of a cardiopulmonary exercise test score in patients with heart failure and intermediate risk. *International journal of cardiology*. 2015;178:262-4.
101. Myers J, Oliveira R, Dewey F, Arena R, Guazzi M, Chase P, et al. Validation of a cardiopulmonary exercise test score in heart failure. *Circulation Heart failure*. 2013;6(2):211-8.
102. Arena R, Sietsema KE. Cardiopulmonary exercise testing in the clinical evaluation of patients with heart and lung disease. *Circulation*. 2011;123(6):668-80.
103. Wagner PD. Ventilation-perfusion matching during exercise. *Chest*. 1992;101(5 Suppl):192S-8S.
104. Herdy AH, Ritt LE, Stein R, Araujo CG, Milani M, Meneghelo RS, et al. Cardiopulmonary Exercise Test: Background, Applicability and Interpretation. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2016;107(5):467-81.
105. Wada O, Asanoi H, Miyagi K, Ishizaka S, Kameyama T, Seto H, et al. Importance of abnormal lung perfusion in excessive exercise ventilation in chronic heart failure. *American heart journal*. 1993;125(3):790-8.
106. Uren NG, Davies SW, Agnew JE, Irwin AG, Jordan SL, Hilson AJ, et al. Reduction of mismatch of global ventilation and perfusion on exercise is related to exercise capacity in chronic heart failure. *British heart journal*. 1993;70(3):241-6.
107. Ribeiro JP, Araujo CG. Ergoespirometria no diagnóstico diferencial da dispnéia 1998.
108. Ferreira AM, Tabet JY, Frankenstein L, Metra M, Mendes M, Zugck C, et al. Ventilatory efficiency and the selection of patients for heart transplantation. *Circulation Heart failure*. 2010;3(3):378-86.
109. Francis DP, Shamim W, Davies LC, Piepoli MF, Ponikowski P, Anker SD, et al. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/VCO₂ slope and peak VO₂. *European heart journal*. 2000;21(2):154-61.
110. Arena R, Myers J, Aslam SS, Varughese EB, Peberdy MA. Peak VO₂ and VE/VCO₂ slope in patients with heart failure: a prognostic comparison. *American heart journal*. 2004;147(2):354-60.
111. Corra U, Mezzani A, Bosimini E, Scapellato F, Imparato A, Giannuzzi P. Ventilatory response to exercise improves risk stratification in patients with chronic heart failure and intermediate functional capacity. *American heart journal*. 2002;143(3):418-26.
112. Arena R, Myers J, Abella J, Peberdy MA, Bensimhon D, Chase P, et al. Development of a ventilatory classification system in patients with heart failure. *Circulation*. 2007;115(18):2410-7.

113. Almeida AEMd, Stefani CdM, Nascimento JAd, Almeida NMd, Santos AdC, Stein R. An equation for the prediction of oxygen consumption in a Brazilian population. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2014;103(4):299-307.
114. Dickstein K, Barvik S, Aarsland T, Snapinn S, Karlsson J. A comparison of methodologies in detection of the anaerobic threshold. *Circulation*. 1990;81(1 Suppl):II38-46.
115. Task Force of the Italian Working Group on Cardiac Rehabilitation P, Working Group on Cardiac R, Exercise Physiology of the European Society of C, Piepoli MF, Corra U, Agostoni PG, et al. Statement on cardiopulmonary exercise testing in chronic heart failure due to left ventricular dysfunction: recommendations for performance and interpretation. Part I: definition of cardiopulmonary exercise testing parameters for appropriate use in chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2006;13(2):150-64.
116. Sue DY, Wasserman K, Moricca RB, Casaburi R. Metabolic acidosis during exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Use of the V-slope method for anaerobic threshold determination. *Chest*. 1988;94(5):931-8.
117. Madonna R, Bolli R, De Caterina R. The Usefulness of the Anaerobic Threshold in the Assessment and Prognostic Evaluation of the Patient With Dyspnea. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2019;13(4):139-49.
118. Arena R, Myers J, Guazzi M. Cardiopulmonary exercise testing is a core assessment for patients with heart failure. *Congest Heart Fail*. 2011;17(3):115-9.
119. Munhoz EC, Hollanda R, Vargas JP, Silveira CW, Lemos AL, Hollanda RM, et al. Flattening of oxygen pulse during exercise may detect extensive myocardial ischemia. *Medicine and science in sports and exercise*. 2007;39(8):1221-6.
120. Belardinelli R, Lacalaprice F, Carle F, Minnucci A, Cianci G, Perna G, et al. Exercise-induced myocardial ischaemia detected by cardiopulmonary exercise testing. *European heart journal*. 2003;24(14):1304-13.
121. Oliveira RB, Myers J, Araujo CG, Arena R, Mandic S, Bensimhon D, et al. Does peak oxygen pulse complement peak oxygen uptake in risk stratifying patients with heart failure? *The American journal of cardiology*. 2009;104(4):554-8.
122. Tanabe Y, Nakagawa I, Ito E, Suzuki K. Hemodynamic basis of the reduced oxygen uptake relative to work rate during incremental exercise in patients with chronic heart failure. *International journal of cardiology*. 2002;83(1):57-62.
123. Baba R, Nagashima M, Goto M, Nagano Y, Yokota M, Tauchi N, et al. Oxygen uptake efficiency slope: a new index of cardiorespiratory functional reserve derived from the relation between oxygen uptake and minute ventilation during incremental exercise. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996;28(6):1567-72.
124. Davies LC, Wensel R, Georgiadou P, Cicoira M, Coats AJ, Piepoli MF, et al. Enhanced prognostic value from cardiopulmonary exercise testing in chronic heart

failure by non-linear analysis: oxygen uptake efficiency slope. *European heart journal*. 2006;27(6):684-90.

125. Nishime EO, Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Lauer MS. Heart rate recovery and treadmill exercise score as predictors of mortality in patients referred for exercise ECG. *Jama*. 2000;284(11):1392-8.

126. Arena R, Myers J, Abella J, Peberdy MA, Bensimhon D, Chase P, et al. The prognostic value of the heart rate response during exercise and recovery in patients with heart failure: influence of beta-blockade. *International journal of cardiology*. 2010;138(2):166-73.

127. Scrutinio D, Passantino A, Lagioia R, Napoli F, Ricci A, Rizzon P. Percent achieved of predicted peak exercise oxygen uptake and kinetics of recovery of oxygen uptake after exercise for risk stratification in chronic heart failure. *International journal of cardiology*. 1998;64(2):117-24.

128. de Groote P, Millaire A, Decoux E, Nogue O, Guimier P, Ducloux. Kinetics of oxygen consumption during and after exercise in patients with dilated cardiomyopathy. New markers of exercise intolerance with clinical implications. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996;28(1):168-75.

129. Andreas S, Vonhof S, Kreuzer H, Figulla HR. Ventilation and dyspnoea during exercise in patients with heart failure. *European heart journal*. 1995;16(12):1886-91.

130. Wahls SA. Causes and evaluation of chronic dyspnea. *American family physician*. 2012;86(2):173-82.

131. Wasserman K, Hansen JE, Sietsema K, Sue DY, Stringer WW, Whipp B, et al. *Principles of Exercise Testing and Interpretation: Including Pathophysiology and Clinical Applications*: Wolters Kluwer Health; 2015.

132. Smith JR, Olson TP. Ventilatory constraints influence physiological dead space in heart failure. *Experimental physiology*. 2019;104(1):70-80.

133. Morosin M, Farina S, Vignati C, Spadafora E, Sciomer S, Salvioni E, et al. Exercise performance, haemodynamics, and respiratory pattern do not identify heart failure patients who end exercise with dyspnoea from those with fatigue. *ESC heart failure*. 2018;5(1):115-9.

134. Dorfs S, Zeh W, Hochholzer W, Jander N, Kienzle R-P, Pieske B, et al. Pulmonary capillary wedge pressure during exercise and long-term mortality in patients with suspected heart failure with preserved ejection fraction. *European heart journal*. 2014;35(44):3103-12.

135. Lewis GD, Murphy RM, Shah RV, Pappagianopoulos PP, Malhotra R, Bloch KD, et al. Pulmonary vascular response patterns during exercise in left ventricular systolic dysfunction predict exercise capacity and outcomes. *Circulation: Heart Failure*. 2011;4(3):276-85.

136. Sugimoto T, Bandera F, Generati G, Alfonzetti E, Bussadori C, Guazzi M. Left Atrial Function Dynamics During Exercise in Heart Failure: Pathophysiological Implications on the Right Heart and Exercise Ventilation Inefficiency. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10(10 Pt B):1253-64.
137. Bandera F, Generati G, Pellegrino M, Donghi V, Alfonzetti E, Gaeta M, et al. Role of right ventricle and dynamic pulmonary hypertension on determining DeltaVO₂/DeltaWork Rate flattening: insights from cardiopulmonary exercise test combined with exercise echocardiography. *Circulation Heart failure*. 2014;7(5):782-90.
138. Forster HV, Haouzi P, Dempsey JA. Control of breathing during exercise. *Comprehensive Physiology*. 2012;2(1):743-77.
139. Ward SA, editor Control of breathing during exercise. *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease*; 2014: Morgan & Claypool Life Sciences.
140. Krogh A, Lindhard J. The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *J Physiol*. 1913;47(1-2):112-36.
141. Waldrop TG, Eldridge FL, Iwamoto GA, Mitchell JH. Central neural control of respiration and circulation during exercise. *Comprehensive Physiology*. 2010:333-80.
142. Eldridge FL, Millhorn DE, Waldrop TG. Exercise hyperpnea and locomotion: parallel activation from the hypothalamus. *Science*. 1981;211(4484):844-6.
143. Eldridge FL, Millhorn DE, Killey JP, Waldrop TG. Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respiration physiology*. 1985;59(3):313-37.
144. Thornton JM, Guz A, Murphy K, Griffith AR, Pedersen DL, Kardos A, et al. Identification of higher brain centres that may encode the cardiorespiratory response to exercise in humans. *The Journal of Physiology*. 2001;533(3):823-36.
145. Iwamoto GA, Wappel SM, Fox GM, Buetow KA, Waldrop TG. Identification of diencephalic and brainstem cardiorespiratory areas activated during exercise. *Brain research*. 1996;726(1-2):109-22.
146. Morgan WP, Raven PB, Drinkwater BL, Horvath SM. Perceptual and metabolic responsiveness to standard bicycle ergometry following various hypnotic suggestions. *International Journal of clinical and experimental hypnosis*. 1973;21(2):86-101.
147. Daly WJ, Overley T. Modification of ventilatory regulation by hypnosis. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1966;68(2):279-85.
148. Fink GR, Adams L, Watson JD, Innes JA, Wuyam B, Kobayashi I, et al. Hyperpnoea during and immediately after exercise in man: evidence of motor cortical involvement. *J Physiol*. 1995;489 (Pt 3):663-75.

149. Thornton JM, Guz A, Murphy K, Griffith AR, Pedersen DL, Kardos A, et al. Identification of higher brain centres that may encode the cardiorespiratory response to exercise in humans. *J Physiol*. 2001;533(Pt 3):823-36.
150. Somjen GG. The Missing Error Signal—Regulation Beyond Negative Feedback. *Physiology*. 1992;7(4):184-5.
151. Wood HE, Fatemian M, Robbins PA. A learned component of the ventilatory response to exercise in man. *J Physiol*. 2003;553(Pt 3):967-74.
152. Krogh A, Lindhard J. The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *The Journal of physiology*. 1913;47(1-2):112-36.
153. Weiler-Ravell D, Cooper DM, Whipp BJ, Wasserman K. Control of breathing at the start of exercise as influenced by posture. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1983;55(5):1460-6.
154. Karlsson H, Lindborg B, Linnarsson D. Time courses of pulmonary gas exchange and heart rate changes in supine exercise. *Acta physiologica Scandinavica*. 1975;95(3):329-40.
155. Spengler CM, von Ow D, Boutellier U. The role of central command in ventilatory control during static exercise. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1994;68(2):162-9.
156. Brice AG, Forster HV, Pan LG, Funahashi A, Lowry TF, Murphy CL, et al. Ventilatory and PaCO₂ responses to voluntary and electrically induced leg exercise. *Journal of applied physiology*. 1988;64(1):218-25.
157. Fukuoka Y, Iihoshi M, Nazunin JT, Abe D, Fukuba Y. Dynamic Characteristics of Ventilatory and Gas Exchange during Sinusoidal Walking in Humans. *PLoS One*. 2017;12(1):e0168517.
158. Waldrop TG, Stremel RW. Muscular contraction stimulates posterior hypothalamic neurons. *Am J Physiol*. 1989;256(2 Pt 2):R348-56.
159. Kaufman MP. The exercise pressor reflex in animals. *Experimental physiology*. 2012;97(1):51-8.
160. McCloskey DI, Mitchell JH. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol*. 1972;224(1):173-86.
161. Haouzi P, Hill JM, Lewis BK, Kaufman MP. Responses of group III and IV muscle afferents to distension of the peripheral vascular bed. *Journal of applied physiology*. 1999;87(2):545-53.
162. Comroe Jr J, Schmidt CF. Reflexes from the limbs as a factor in the hyperpnea of muscular exercise. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1943;138(3):536-47.

163. Morikawa T, Ono Y, Sasaki K, Sakakibara Y, Tanaka Y, Maruyama R, et al. Afferent and cardiodynamic drives in the early phase of exercise hyperpnea in humans. *Journal of applied physiology*. 1989;67(5):2006-13.
164. Williamson JW, Nobrega AC, McColl R, Mathews D, Winchester P, Friberg L, et al. Activation of the insular cortex during dynamic exercise in humans. *J Physiol*. 1997;503 (Pt 2):277-83.
165. Asmussen E, Nielsen M. Experiments on Nervous Factors Controlling Respiration and Circulation during Exercise Employing Blocking of the Blood Flow. *Acta physiologica Scandinavica*. 1964;60:103-11.
166. Kaufman MP, Rybicki KJ, Waldrop TG, Ordway GA. Effect of ischemia on responses of group III and IV afferents to contraction. *Journal of applied physiology*. 1984;57(3):644-50.
167. Eiken O, Bjurstedt H. Dynamic exercise in man as influenced by experimental restriction of blood flow in the working muscles. *Acta physiologica Scandinavica*. 1987;131(3):339-45.
168. Amann M, Blain GM, Proctor LT, Sebranek JJ, Pegelow DF, Dempsey JA. Implications of group III and IV muscle afferents for high-intensity endurance exercise performance in humans. *J Physiol*. 2011;589(Pt 21):5299-309.
169. Amann M, Proctor LT, Sebranek JJ, Pegelow DF, Dempsey JA. Opioid-mediated muscle afferents inhibit central motor drive and limit peripheral muscle fatigue development in humans. *J Physiol*. 2009;587(1):271-83.
170. Amann M, Dempsey JA. Locomotor muscle fatigue modifies central motor drive in healthy humans and imposes a limitation to exercise performance. *The Journal of physiology*. 2008;586(1):161-73.
171. Adams L, Frankel H, Garlick J, Guz A, Murphy K, Semple SJ. The role of spinal cord transmission in the ventilatory response to exercise in man. *J Physiol*. 1984;355:85-97.
172. Haouzi P, Huszczuk A, Porszasz J, Chalon B, Wasserman K, Whipp BJ. Femoral vascular occlusion and ventilation during recovery from heavy exercise. *Respiration physiology*. 1993;94(2):137-50.
173. Haldane JS, Priestley JG. The regulation of the lung-ventilation. *J Physiol*. 1905;32(3-4):225-66.
174. Nattie E, Li A. Central chemoreceptors: locations and functions. *Comprehensive Physiology*. 2012;2(1):221-54.
175. Dempsey JA, Smith CA. Pathophysiology of human ventilatory control. *The European respiratory journal*. 2014;44(2):495-512.
176. Nye PC. Identification of peripheral chemoreceptor stimuli. *Medicine and science in sports and exercise*. 1994;26(3):311-8.

177. Kumar P, Bin-Jaliah I. Adequate stimuli of the carotid body: more than an oxygen sensor? *Respiratory physiology & neurobiology*. 2007;157(1):12-21.
178. Lahiri S, DeLaney R. Stimulus interaction in the responses of carotid body chemoreceptor single afferent fibers. *Respiration physiology*. 1975;24(3):249-66.
179. Eyzaguirre C, Lewin J. Chemoreceptor activity of the carotid body of the cat. *J Physiol*. 1961;159:222-37.
180. Dean JB, Mulkey DK, Henderson III RA, Potter SJ, Putnam RW. Hyperoxia, reactive oxygen species, and hyperventilation: oxygen sensitivity of brain stem neurons. *Journal of applied physiology*. 2004;96(2):784-91.
181. Dean JB, Mulkey DK, Henderson RA, 3rd, Potter SJ, Putnam RW. Hyperoxia, reactive oxygen species, and hyperventilation: oxygen sensitivity of brain stem neurons. *Journal of applied physiology*. 2004;96(2):784-91.
182. Croix CMS, Cunningham DA, Paterson DH, Kowalchuk JM. Peripheral chemoreflex drive in moderate-intensity exercise. *Canadian journal of applied physiology*. 1996;21(4):285-300.
183. Dejours P. Chemoreflexes in breathing. *Physiological reviews*. 1962;42(3):335-58.
184. Ward S. Control of the exercise hyperpnoea in humans: a modeling perspective. *Respiration physiology*. 2000;122(2-3):149-66.
185. Paula-Ribeiro M, Ribeiro IC, Aranda LC, Silva TM, Costa CM, Ramos RP, et al. Carotid chemoreflex activity restrains post-exercise cardiac autonomic control in healthy humans and in patients with pulmonary arterial hypertension. *J Physiol*. 2019;597(5):1347-60.
186. Comitê Coordenador da Diretriz de Insuficiência C. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2018;111(3):436-539.
187. Sociedade Brasileira de C. [III Guidelines of Sociedade Brasileira de Cardiologia on the exercise test]. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2010;95(5 Suppl 1):1-26.
188. Pond GR. Statistical issues in the use of dynamic allocation methods for balancing baseline covariates. *British journal of cancer*. 2011;104(11):1711-5.
189. Borg G. ESCALAS DE BORG PARA A DOR E O ESFORÇO PERCEBIDO. Brasil: Manole; 1999. 126 p.
190. B. Banzett R, T. Garcia R, Moosavi S. Simple contrivance “clamps” end-tidal PCO₂ and PO₂ despite rapid changes in ventilation 2000. 1597-600 p.
191. Niewinski P, Engelman ZJ, Fudim M, Tubek S, Paleczny B, Jankowska EA, et al. Clinical predictors and hemodynamic consequences of elevated peripheral

chemosensitivity in optimally treated men with chronic systolic heart failure. *Journal of cardiac failure*. 2013;19(6):408-15.

192. Ponikowski P, Chua TP, Anker SD, Francis DP, Doehner W, Banasiak W, et al. Peripheral chemoreceptor hypersensitivity: an ominous sign in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2001;104(5):544-9.

193. Amrhein V, Greenland S, McShane B. Scientists rise up against statistical significance. *Nature*. 2019;567(7748):305-7.

194. Timmers HJ, Wieling W, Karemaker JM, Lenders JW. Denervation of carotid baro- and chemoreceptors in humans. *J Physiol*. 2003;553(Pt 1):3-11.

195. Lugliani R, Whipp BJ, Seard C, Wasserman K. Effect of bilateral carotid-body resection on ventilatory control at rest and during exercise in man. *The New England journal of medicine*. 1971;285(20):1105-11.

196. Clement ID, Pandit JJ, Bascom DA, Robbins PA. Ventilatory chemoreflexes at rest following a brief period of heavy exercise in man. *J Physiol*. 1996;495 (Pt 3):875-84.

197. Alam M, Smirk FH. Observations in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles. *J Physiol*. 1937;89(4):372-83.

198. Scott AC, Davies LC, Coats AJ, Piepoli M. Relationship of skeletal muscle metaboreceptors in the upper and lower limbs with the respiratory control in patients with heart failure. *Clinical science*. 2002;102(1):23-30.

199. Scott AC, Francis DP, Davies LC, Ponikowski P, Coats AJ, Piepoli MF. Contribution of skeletal muscle 'ergoreceptors' in the human leg to respiratory control in chronic heart failure. *J Physiol*. 2000;529 Pt 3:863-70.

200. Olson TP, Joyner MJ, Eisenach JH, Curry TB, Johnson BD. Influence of locomotor muscle afferent inhibition on the ventilatory response to exercise in heart failure. *Experimental physiology*. 2014;99(2):414-26.

201. Eyzaguirre C, Lewin J. Chemoreceptor activity of the carotid body of the cat. *J Physiol*. 1961;159(2):222-37.

202. Gujic M, Laude D, Houssiere A, Beloka S, Argacha JF, Adamopoulos D, et al. Differential effects of metaboreceptor and chemoreceptor activation on sympathetic and cardiac baroreflex control following exercise in hypoxia in human. *The Journal of physiology*. 2007;585(1):165-74.

203. Edgell H, Stickland MK. Activation of the carotid chemoreflex secondary to muscle metaboreflex stimulation in men. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2014;306(9):R693-R700.

204. Smith CA, Blain GM, Henderson KS, Dempsey JA. Peripheral chemoreceptors determine the respiratory sensitivity of central chemoreceptors to CO₂ : role of carotid body CO₂. *J Physiol*. 2015;593(18):4225-43.

205. Moore LG, Huang S, McCullough R, Sampson J, Maher J, Weil J, et al. Variable inhibition by falling CO₂ of hypoxic ventilatory response in humans. *Journal of applied physiology*. 1984;56(1):207-10.
206. Accorsi-Mendonça D, Castania JA, Bonagamba LGH, Machado BH, Leao R. Synaptic profile of nucleus tractus solitarius neurons involved with the peripheral chemoreflex pathways. *Neuroscience*. 2011;197:107-20.
207. Potts J, Paton J, Mitchell J, Garry M, Kline G, Anguelov P, et al. Contraction-sensitive skeletal muscle afferents inhibit arterial baroreceptor signalling in the nucleus of the solitary tract: role of intrinsic GABA interneurons. *Neuroscience*. 2003;119(1):201-14.
208. O'regan R. Responses of carotid body chemosensory activity and blood flow to stimulation of sympathetic nerves in the cat. *The Journal of physiology*. 1981;315(1):81-98.
209. Chua TP, Ponikowski P, Webb-Peploe K, Harrington D, Anker SD, Piepoli M, et al. Clinical characteristics of chronic heart failure patients with an augmented peripheral chemoreflex. *European heart journal*. 1997;18(3):480-6.
210. Nicolò A, Marcora SM, Bazzucchi I, Sacchetti M. Differential control of respiratory frequency and tidal volume during high-intensity interval training. *Experimental physiology*. 2017;102(8):934-49.
211. Nicolò A, Girardi M, Bazzucchi I, Felici F, Sacchetti M. Respiratory frequency and tidal volume during exercise: differential control and unbalanced interdependence. *Physiological reports*. 2018;6(21):e13908.
212. Negrao CE, Middlekauff HR, Gomes-Santos IL, Antunes-Correa LM. Effects of exercise training on neurovascular control and skeletal myopathy in systolic heart failure. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2015;308(8):H792-802.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “Contribuição do Quimiorreflexo Periférico para o Controle Neural da Circulação durante o Exercício na Insuficiência Cardíaca Crônica”

Pesquisadores responsáveis: Prof. Dr. Bruno Moreira Silva e Prof. Dr. Antonio Claudio Lucas da Nóbrega

Instituição: Universidade Federal Fluminense

Telefones para contato com os pesquisadores: (21) 2629-2443

O Comitê de Ética que avaliou este projeto é localizado na Rua Marquês do Paraná 303, 4º andar, prédio anexo ao Hospital Universitário Antonio Pedro, Niterói, RJ, Brasil. O telefone do Comitê de Ética é (21)2629-9189 e o atendimento é realizado as terças e quintas, entre 10:00 e 16:00.

Nome do voluntário: _____

Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço: _____

RG: _____ **Telefone:** _____

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa “**Contribuição do Quimiorreflexo periférico para o controle neural da circulação durante o exercício na insuficiência cardíaca crônica**”, de responsabilidade dos pesquisadores Prof. Dr. Bruno Moreira Silva e Prof. Dr. Antonio Claudio da Nóbrega. Este projeto de pesquisa segue os padrões éticos e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense e pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP-Brasília) do Conselho Nacional de Saúde (Ministério da Saúde).

Você é portador de uma doença em que a capacidade de bombeamento de sangue do seu coração é prejudicada, chamada insuficiência cardíaca. Quando pessoas com esta doença praticam atividade física, há uma dificuldade do coração bombear o sangue para as artérias e uma resposta ventilatória excessiva, ambos responsáveis pela sensação de cansaço que você sente durante o exercício. Isso pode ser causado por uma hiperatividade de receptores presentes nas artérias do pescoço. Para saber a contribuição desses receptores na doença, você será submetido a algumas avaliações/exames:

1) exame (espirometria) para medir a capacidade de enchimento e esvaziamento de ar do seu pulmão. Este exame é realizado rotineiramente em clínicas para avaliação dos pulmões, não causará desconforto ou danos a sua saúde;

2) teste da atividade dos receptores localizados nas artérias do pescoço, você deverá respirar o gás nitrogênio por um período de 10 a 30 segundos, com intervalos de 3 a 5 minutos respirando ar ambiente, será feito de 10 a 15 repetições desse procedimento. Cerca de 80% do ar que respiramos é composto por nitrogênio, você poderá sentir o aumento momentâneo do volume de ar que entra e sai de seus pulmões, este efeito encerra com o término da manobra e não provoca dor ou danos à sua saúde;

3) Exame a ser realizado no Hospital Antônio Pedro (HUAP) para determinar a sua capacidade máxima de pedalar em uma bicicleta que fica parada, não sai do lugar. Este exame não provoca dor, você deverá respirar com uma máscara acoplada ao seu rosto, que permite a livre entrada de ar pelo nariz e boca, sentirá um cansaço progressivo, caso você sinta algum desconforto o exame será interrompido. Este exame pode acrescentar informações sobre o seu coração que poderão auxiliar no seu tratamento.

4) Exercício realizado por quatro minutos pedalando em uma bicicleta, semelhante ao exame feito no Hospital, com intensidade de 60% da sua máxima capacidade de pedalar no exame do hospital. No final do quarto minuto, uma bolsa de ar posicionada nas suas coxas será insuflada com ar, em seguida você parará de pedalar. A bolsa permanecerá cheia por 2 minutos, com o intuito de bloquear a entrada e saída de sangue nas suas pernas. O

enchimento da bolsa provocará algum desconforto, devido ao fato da bolsa apertar as suas pernas e bloquear a circulação. Mas é importante ressaltar que este é um procedimento seguro, que não provocará qualquer dano a suas pernas e que o desconforto provocado pelo procedimento desaparecerá logo após o esvaziamento da bolsa de ar. Ao final dos dois minutos, a bolsa será esvaziada completamente, você permanecerá sentado na bicicleta sem pedalar por 4 minutos. Enquanto você estiver pedalando ficará respirando através de uma máscara, semelhante ao exame do HUAP. Nos dois minutos após o exercício, com a bolsa cheia de ar, você respirará por um sistema que oferece ar com a concentração de oxigênio semelhante ao ar ambiente ou ar com 100% de oxigênio. A respiração dessas misturas gasosas não causa dor, desconforto ou malefícios à sua saúde.

5) Registro da pressão arterial: um aparelho será posicionado no seu braço e outro em um dos seus dedos da mão;

6) Registro da frequência cardíaca: eletrodos serão posicionados no seu tórax e talvez será necessário raspar pelos de algumas regiões para garantir o contato dos eletrodos com a pele;

7) Registro da oxigenação do sangue: um aparelho será posicionado em um dos dedos da sua mão;

8) Medida da oxigenação-desoxigenação muscular: no teste do hospital será colocado um aparelho na parte externa da sua coxa, preso com uma bandagem elástica, que fará a medida da quantidade de oxigênio que sai do seu pulmão e chega no músculo.

9) Medida da densidade mineral óssea: você deitará sobre uma plataforma e o aparelho fará um escaneamento do seu corpo, medindo o conteúdo ósseo, gordura e músculo, efeitos semelhantes à uma radiografia.

Ao participar do estudo, os seus dados pessoais e as informações sobre tratamentos e doenças anteriores e atuais serão mantidas em sigilo e utilizadas apenas pela equipe de pesquisa sem que seu nome seja revelado. Caso queira participar do estudo, no dia de sua inclusão serão agendadas as visitas necessárias. Você não terá que pagar para participar da pesquisa, bem como não receberá compensação financeira por participar dela. Você poderá interromper sua participação neste estudo a qualquer momento, sem necessidade de justificativa, e esta decisão não trará qualquer prejuízo para o seu tratamento. As informações obtidas estarão disponíveis para os participantes.

O benefício esperado com este trabalho será avaliar o mecanismo que está relacionado ao aumento exagerado que ocorre na rigidez das artérias e da respiração em excesso, durante o exercício, em pacientes com insuficiência cardíaca e, uma vez entendido este mecanismo, ele poderá servir como alvos para o desenvolvimento de futuros tratamentos.

Eu (paciente ou seu responsável legal), _____,

RG nº _____, declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Paciente ou responsável legal
de



Pesquisador responsável por obter o termo
consentimento

Testemunha

Testemunha

ANEXO

Carotid chemoreflex and muscle metaboreflex interact to the regulation of ventilation in patients with heart failure with reduced ejection fraction

Alessandro C. Machado^{1,2} | Lauro C. Vianna³  | Erika A. C. Gomes¹ |
 Jose A. C. Teixeira⁴ | Mario L. Ribeiro⁴ | Humberto Villacorta⁴ |
 Antonio C. L. Nobrega¹ | Bruno M. Silva⁵ 

¹Laboratory of Exercise Sciences, Department of Physiology and Pharmacology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil

²Latin American Institute of Life and Nature Sciences, Federal University of Latin American Integration, Foz do Iguacu, PR, Brazil

³Faculty of Physical Education, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil

⁴Antonio Pedro University Hospital, Faculty of Medicine, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil

⁵Department of Physiology, Federal University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Correspondence

Bruno M. Silva, Botucatu Street 862, Biomedical Sciences Building, 5th floor, São Paulo, SP 04023-062, Brazil.
 Email: silva.bruno@unifesp.br

Funding information

This study was supported by grants from Brazilian National Council of Scientific and Technological Development (CNPq), Foundation of Research Support of Rio de Janeiro State (FAPERJ), Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), and Brazilian Funding Agency for Studies and Projects (FINEP).

Abstract

Synergism among reflexes probably contributes to exercise hyperventilation in patients with heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF). Thus, we investigated whether the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex interact to the regulation of ventilation (\dot{V}_E) in HFrEF. Ten patients accomplished 4-min cycling at 60% peak workload and then recovered for 2 min under either: (a) 21% O₂ inhalation (tonic carotid chemoreflex activity) with legs' circulation free (inactive muscle metaboreflex); (b) 100% O₂ inhalation (suppressed carotid chemoreflex activity) with legs' circulation occluded (muscle metaboreflex activation); (c) 21% O₂ inhalation (tonic carotid chemoreflex activity) with legs' circulation occluded (muscle metaboreflex activation); or (d) 100% O₂ inhalation (suppressed carotid chemoreflex activity) with legs' circulation free (inactive muscle metaboreflex) as control. \dot{V}_E , tidal volume (V_T) and respiratory frequency (f_R) were similar between each separated reflex (protocols a and b) and control (protocol d). Calculated sum of separated reflexes effects was similar to control. Oppositely, \dot{V}_E (mean \pm SEM: Δ vs. control = 2.46 ± 1.07 L/min, $p = .05$) and f_R ($\Delta = 2.47 \pm 0.77$ cycles/min, $p = .02$) increased versus control when both reflexes were simultaneously active (protocol c). Therefore, the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex interacted to \dot{V}_E regulation in a f_R -dependent manner in patients with HFrEF. If this interaction operates during exercise, it can have some contribution to the HFrEF exercise hyperventilation.

KEYWORDS

breathing, circulatory occlusion, exercise, heart disease, hyperoxia

1 | INTRODUCTION

Patients with heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) typically present with excessive ventilation (\dot{V}_E)

during exercise, for a given amount of carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) (Chua et al., 1997; Smith & Olson, 2019; Sullivan, Higginbotham, & Cobb, 1988; Van Iterson, Johnson, Borlaug, & Olson, 2017). This phenomenon is of clinical relevance, as

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2020 The Authors. *Physiological Reports* published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of The Physiological Society and the American Physiological Society.

the $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ ratio and the $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ slope are independent predictors of morbidity and mortality in patients with HF_rEF (Arena, Myers, Aslam, Varughese, & Peberdy, 2004; Chua et al., 1997). The excessive exertional \dot{V}_E in HF_rEF is dependent on an increase of the respiratory frequency (f_R) (Smith & Olson, 2019; Van Iterson et al., 2017) and it seems to be mostly mediated by enhanced drive to breathe (Tasoulis et al., 2014; Van Iterson et al., 2017). Multiple abnormalities in feedback mechanisms have been postulated to increase the central respiratory drive during exercise in HF_rEF, including enhancement of afferent signaling from the central circulation (Taylor, Smetana, Frantz, & Johnson, 2015), lungs (Van Iterson et al., 2017), skeletal muscles (Olson, Joyner, Eisenach, Curry, & Johnson, 2014; Smith, Williams, Mitchell, Mammen, & Garry, 2005), carotid chemoreceptors (Clement, Pandit, Bascom, & Robbins, 1996; Morosin et al., 2018), and central chemoreceptors (Narkiewicz, Pesek, Van De Borne, Kato, & Somers, 1999). However, none of these reflexes, when separately activated at physiological levels, yields a \dot{V}_E response close to 50% of the one observed during exercise (Forster, Haouzi, & Dempsey, 2012; Parkes, 2017). Therefore, interaction among possible underlying neural mechanisms perhaps plays an important role for the regulation of \dot{V}_E and respiratory pattern during exercise in HF_rEF.

Patients with HF_rEF may present with increased carotid chemoreceptors activity under normoxic rest (Despas et al., 2012; Ponikowski et al., 1997), most likely due to low carotid bodies perfusion (Ding, Li, & Schultz, 2011). In addition, carotid chemoreceptors may be further activated by neural (Edgell & Stickland, 2014; Silva et al., 2018) and humoral (Linton & Band, 1985; Pandit, Bergstrom, Frankel, & Robbins, 1994) signals derived from skeletal muscle contractions. Thereby, the contribution of the carotid chemoreflex to cardiorespiratory regulation seems to enhance during exercise (Niewiński et al., 2013; Stickland, Miller, Smith, & Dempsey, 2007). In contrast, however, the carotid chemoreflex does not seem to contribute to \dot{V}_E and respiratory pattern regulation during recovery from exercise in humans (Clement et al., 1996; Paula-Ribeiro et al., 2019). Thus, an interaction among the carotid chemoreflex and other reflexes that operate during exercise, but not during recovery, possibly exist (Edgell & Stickland, 2014; Gubic et al., 2007; Scott et al., 2000).

An interaction among signals derived from metabolically sensitive thin-fiber muscle afferents and other signals present during exercise may also exist. Inhibition of sensitive thin-fiber muscle afferents via intrathecal fentanyl infusion at the lumbar level reduced \dot{V}_E and f_R , but did not change tidal volume (V_T) during moderate to heavy-intensity exercise (65% peak power) in patients with HF_rEF (Olson et al., 2014). This evidence consequently suggests that the muscle metaboreflex plays a role for the \dot{V}_E and f_R regulation during exercise in HF_rEF. On the other hand, it is long known that muscle metaboreflex activation at rest, via postexercise circulation occlusion, commonly fails to maintain \dot{V}_E and f_R above an unconcluded control condition in patients with HF_rEF (Olson, Joyner, & Johnson, 2010; Scott,

Davies, Coats, & Piepoli, 2002; Scott et al., 2000). One possible explanation for such divergent findings is that the muscle metaboreflex drives the \dot{V}_E and respiratory pattern only when it interacts with other signals that operate during exercise. In support, a recent study revealed metabolites arrest at rest did not affect \dot{V}_E and respiratory pattern (Lam, Greenhough, Nazari, White, & Bruce, 2019). However, when the same procedure was employed during exercise, it provoked \dot{V}_E increase in a f_R -dependent manner in healthy young adults (Lam et al., 2019).

Although the separated effect of the carotid chemoreflex (Chua, Ponikowski, Harrington, Chambers, & Coats, 1996; Edgell et al., 2015) and the muscle metaboreflex (Olson et al., 2010; Scott et al., 2002, 2000) to the control of \dot{V}_E and respiratory pattern has been previously studied in patients with HF_rEF, the interaction between these reflexes remains uninvestigated. Noteworthy, the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex may interact at the level of the central nervous system and at the periphery. Afferent neurons from carotid chemoreceptors (Accorsi-Mendonça, Castania, Bonagamba, Machado, & Leao, 2011) and metabolically sensitive thin-fiber muscle afferents (Potts et al., 2003) synapse at close regions in the nucleus of the tractus solitarius where signals could be potentiated (Potts et al., 2003). Furthermore, activation of the muscle metaboreflex may increase carotid chemoreceptors activity via increased sympathetic nerve activity to the carotid bodies (O'Regan, 1981). Therefore, the aim of this study was to investigate whether the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex interact to the regulation of \dot{V}_E and respiratory pattern in patients with HF_rEF. We hypothesized that simultaneous activation of these reflexes (i.e., “experimental sum”) would provoke greater \dot{V}_E and respiratory pattern changes than the sum of separated reflexes changes (i.e., “calculated sum”), which consequently would indicate that the reflexes under investigation interact in a hyperadditive (i.e., synergistic or multiplicative) fashion to the regulation of \dot{V}_E and respiratory pattern.

2 | METHODS

2.1 | Subjects

Ten patients (7 men) with HF_rEF met the inclusion criteria and volunteered to participate in the study. Eligibility criteria for all were: age between 40 and 70 years, reduced left ventricle ejection fraction (Simpson < 45%), optimal pharmacological treatment, New York Heart Association (NYHA) class II or III, no hospitalization in the last 6 months, body mass index lower than 35 kg/m², no chronic renal disease (creatinine > 1.5 mg/dl), no diabetes (fasting glucose > 126 mg/dl), no current smoking, no spirometric evidence of obstructive disease, forced expiratory volume in 1 s by forced vital capacity greater than 70% (FEV₁/FVC > 70%) and resting oxygen saturation greater than 94%. Subjects were assessed at the Antonio Pedro University

Hospital and at the Biomedical Institute of the Fluminense Federal University, in Niteroi, Rio de Janeiro State, Brazil. The Ethics Committee of the Fluminense Federal University approved the study (CEP-CCM/HUAP 36681414.0.0000.5243), and the study conformed to the standards set by the Declaration of Helsinki. All subjects provided written informed consent to participate in the study.

2.2 | Experimental protocol

The experimental protocol encompassed five visits. On visit 1, subjects underwent an incremental workload exercise. On visit 2, subjects were familiarized with cuffs inflation and constant workload exercise. In some cases, the familiarization visit was repeated to guarantee subjects' adaptation with the protocol. Then, on visits 3 and 4, subjects underwent four constant workload exercise trials. Two trials were conducted per day, with at least 30 min of interval. At last, on visit 5, subjects' carotid chemoreflex sensitivity was assessed. Subjects were asked to avoid strenuous physical activity and refrain from consuming caffeine for 24 hr before arriving for all visits. All visits were separated by at least 24 hr.

2.3 | Experimental procedures

2.3.1 | Incremental workload exercise

Incremental workload exercise was performed on an electromagnetic cycle ergometer (ERGO-FIT 167, ERGO-FIT). Workload was progressively increased until volitional fatigue or until pedal cadence (60 rpm) could not be maintained despite strong verbal encouragement (Mezzani et al., 2009). Cardiac electrical activity (electrocardiogram) was continuously monitored for clinical purposes and arterial pressure (auscultatory method) was measured every 2 min.

2.3.2 | Constant workload exercise

Constant workload exercise was performed on an electromagnetic cycle ergometer at 60 rpm (ERGO-FIT 167, ERGO-FIT). Exercise intensity was set at 60% peak workload attained in the incremental workload exercise (Olson et al., 2010). Each constant workload exercise trial lasted 4 min. After that, subjects recovered seated on the cycle ergometer for 2 min. The use of two different gases (21% and 100% of O₂ in the inspired air; i.e., normoxia and hyperoxia, respectively) and two circulatory states in the lower limbs (circulatory occlusion and free flow) were combined during the recovery period. A hundred percent of O₂ was

used in the inspired air in an attempt to provoke a fast and robust suppression of the tonic carotid chemoreceptors activity (Eyzaguirre & Lewin, 1961), whereas normoxia preserved tonic carotid chemoreceptors activity (Eyzaguirre & Lewin, 1961). Circulatory occlusion aimed to retain by-products of skeletal muscle contractions within the lower limbs maintaining the activation of the muscle metaboreflex during the recovery period (Alam & Smirk, 1937). Free flow, in opposition, allowed removal of byproducts from skeletal muscle contractions, which should inactivate the muscle metaboreflex (Alam & Smirk, 1937).

In sum, four different conditions were formed (Figure 1): (a) 21% O₂ inhalation with free flow to the lower limbs to maintain the tonic carotid chemoreflex activity without muscle metaboreflex activation; (b) 100% O₂ inhalation with circulatory occlusion in the lower limbs to suppress the tonic carotid chemoreflex activity with muscle metaboreflex activation; (c) 21% O₂ inhalation with circulatory occlusion in the lower limbs to have both reflexes

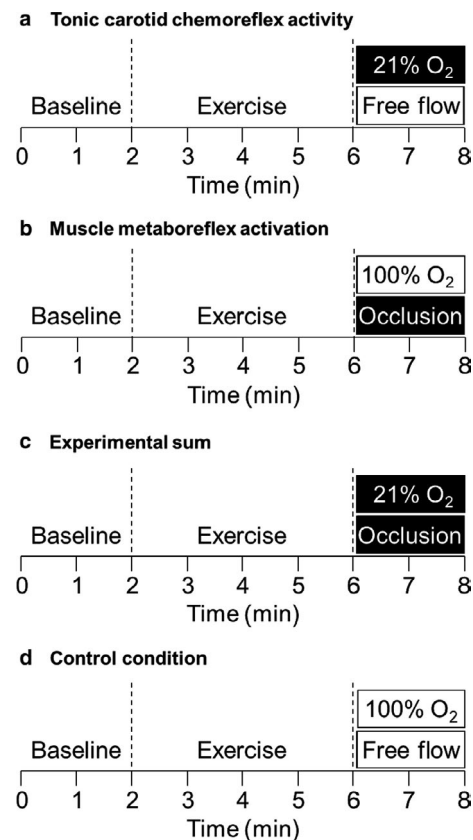


FIGURE 1 Illustration of experimental conditions. Conditions: (a) 21% O₂ inhalation (tonic carotid chemoreflex activity) with free flow to the lower limbs (inactive muscle metaboreflex); (b) 100% O₂ inhalation (suppressed carotid chemoreflex activity) with circulatory occlusion in the lower limbs (muscle metaboreflex activation); (c) 21% O₂ inhalation (tonic carotid chemoreflex activity) with circulatory occlusion in the lower limbs (muscle metaboreflex activation); and (d) 100% O₂ inhalation (suppressed carotid chemoreflex activity) with free flow to the lower limbs (inactive muscle metaboreflex)

simultaneously active; and (d) 100% O₂ inhalation with free flow to the lower limbs to suppress the tonic carotid chemoreflex activity without muscle metaboreflex activation, which consequently was used as a control condition. The order of the first condition of a day was selected by randomization, and the opposite condition was used next. For example, if 21% O₂ plus free flow was the first sorted condition, it had to be followed by 100% O₂ plus circulatory occlusion in the same visit. In the next experimental visit, for the same subject, another randomization was done to select the order of the remaining conditions.

A breathing circuit was connected to the pneumotachometer at onset of the recovery period allowing either delivery of fresh air (21% O₂ or 100% O₂) or rebreathing of expired air (Banzett, Garcia, & Moosavi, 2000). We changed the level of O₂ only during recovery due to two reasons: (a) to avoid a change in the O₂ delivery to skeletal muscles during exercise, which could influence the metabolic response to exercise (Chua et al., 1996); (b) to avoid more than 2 min of exposure to hyperoxia, since this could lead to a paradoxical excitatory effect on the \dot{V}_E regulation (Dean, Mulkey, Henderson, Potter, & Putnam, 2004). Subjects were blinded to the O₂ concentration in the inhaled air. Rebreathing of expired air was used in an attempt to maintain the end tidal partial pressure of CO₂ (P_{ET}CO₂) at the end-exercise level, because circulation occlusion traps a large amount of CO₂ in the lower limbs. As a result, the circulating level of CO₂ reduces, which may depress carotid and central chemoreceptors (Olson et al., 2010). The target P_{ET}CO₂ for a given subject was the mean value observed during the last 20 s of the constant workload exercise conducted on the familiarization visit. A trained researcher (A.C.M.) manually controlled the amount of fresh gas delivered to achieve the target P_{ET}CO₂. So that, high P_{ET}CO₂ prompted increase of fresh air delivery consequently decreasing rebreathing, whereas low P_{ET}CO₂ prompted decrease of fresh air delivery consequently increasing rebreathing.

Circulatory occlusion at the level of the upper thighs (SC12TM, Hokanson) was initiated 5 s before the end of exercise through rapid cuff inflation (~0.5 s; E20, Hokanson). One cuff was used per limb. Cuffs were inflated simultaneously to 20 mmHg above peak systolic arterial pressure (SAP) recorded in the arm during the incremental workload exercise (Olson et al., 2010). Subjects were carefully familiarized with the circulatory occlusion on a day before the experiments. The familiarization started with cuff inflation at a pressure close to 100 mmHg at rest for about 30 s. Next, inflation pressure was increased and maintained for a progressively longer period. The increment of pressure and inflation duration was done according to the subjects' tolerance, until the target pressure and duration was achieved at rest. Then, subjects performed the 4-min constant workload exercise at 60% peak workload. Cuffs were inflated at the target level

before the end of exercise and kept inflated for 2 min. The postexercise circulatory occlusion was repeated during the familiarization, in case perceived discomfort was greater than 3 on Borg's 0 to 10 scale or subjects held their breath while cuffs were inflated.

An oro-nasal silicone mask (V2TM, Hans Rudolph) was tightly adjusted to the subjects' face to avoid air leak. A bidirectional pneumotachometer was connected to the mask (Prevent, MedGraphics) to allow the measurement of \dot{V}_E and pulmonary gas exchange on a breath-by-breath basis (Ultima CPXTM, MedGraphics). Cardiac electrical activity was measured by a 12-lead electrocardiogram for clinical purposes (Welch Allyn CardioPerfect Workstation, Welch Allyn). Arterial pressure was measured via the auscultatory method.

2.3.3 | Carotid chemoreflex sensitivity

Carotid chemoreflex sensitivity was assessed via the transient hypoxia method (Chua & Coats, 1995). Subjects seated in the upright position on a comfortable chair. An oro-nasal silicone mask (V2TM, Hans Rudolph) was carefully adjusted to the subjects' face. One side of a bidirectional pneumotach (Prevent, MedGraphics) was connected to the mask. Another side was connected to a piece composed of an one-way valve and a stopcock. The one-way valve avoided rebreathing of expired air. The stopcock allowed switch of inspired air between room air and pure nitrogen. The test began with a quiet undisturbed resting period of 5–10 min for measurement of baseline \dot{V}_E and pulse oxygen saturation (SpO₂). Then, subjects inhaled pure nitrogen for two to eight consecutive respiratory cycles. Inhalation of pure nitrogen was repeated six to 10 times. Repetitions were done after \dot{V}_E and SpO₂ returned to the baseline level, which usually took 2–5 min. SpO₂ was measured at a hand finger (DRE Vida Multi-parameter Monitor, Avante). Air flow and pulmonary gas exchange were acquired breath-by-breath with a metabolic analyzer (Ultima CPXTM, MedGraphics). The average of the two highest consecutive \dot{V}_E values, either during or after each nitrogen inhalation, was plotted against the respective lowest SpO₂. Then, a linear regression was performed. The resulting slope was considered as an index of carotid chemoreflex sensitivity of an individual. Values up to 0.675 L/min/% were considered within the normal range (Chua et al., 1997).

2.4 | Statistical analysis

Breath-by-breath respiratory data from 120 s of resting, last 20 s of exercise and 20-s periods along recovery were averaged within each condition. In addition, data from 0 to 120 s of recovery were combined as a single average per

condition per subject, and then, changes versus control were calculated. Sum of separated reflexes' effects was named "calculated sum" and consisted of the sum of carotid chemoreflex change versus control and muscle metaboreflex change versus control [i.e., (protocol a – protocol d) + (protocol b – protocol d)]. "Experimental sum" was considered as the change provoked by simultaneous reflexes activities versus control (i.e., protocol c – protocol d). Changes versus control were considered the main study's endpoints. Thus, any change data located beyond 1.5 times the interquartile range for a variable, under a given condition, was considered as outlier. Raw data were contrasted to control via two-way ANOVA, without outlier data. Changes versus control were compared among four conditions via one-way ANOVA, both with and without outlier data. Fisher's post hoc was used after ANOVA, when needed. Changes versus control were contrasted to zero via single mean Student's *t*-test. Associations were assessed via Pearson's correlation. The sample size for each analysis is reported, given that some respiratory data were not recorded due to technical problems with the metabolic analyzer and some outlier data had to be removed from inferential analyses. Subjects' characteristics are reported as mean, standard deviation (*SD*), minimal (min) and maximal (max). Data compared by inferential statistics are presented as mean \pm standard error of the mean (*SEM*). All inferential analyses were two-tailed. Absolute *p*-values were reported whenever possible. *p*-values were interpreted taking into account the .05 value as an orientation, but not as cutoff, according to accumulating statisticians' recommendations (Amrhein, Greenland, & McShane, 2019).

3 | RESULTS

Table 1 presents subjects' characteristics. Most subjects were at NYHA class II. The body mass index (BMI) values ranged from a classification of eutrophic to obesity grade I. As expected, all fasting glucose and spirometric data were within normal values. Left ventricular ejection fraction ranged from 20.0% to 37.8%. Carotid chemosensitivity was above normal values in only one subject. All subjects were taking beta blockers, drugs targeting the renin-angiotensin system (ACE inhibitor or AT1 blocker) and diuretics, and just one was taking a vasodilator.

SAP (Figure 2), diastolic arterial pressure (DAP; Figure 3), end tidal partial pressure of O₂ (P_{ET}O₂; Figure 4), P_{ET}CO₂ (Figure 4), \dot{V}_E (Figure 5), V_T (Figure 6), *f*_R (Figure 7) were similar between each experimental condition and control at rest and at the end of exercise. SAP and DAP were greater during recovery with muscle metaboreflex activation and both reflexes active as compared to recovery with tonic carotid chemoreflex activity and control. P_{ET}O₂ surpassed

TABLE 1 Subjects' characteristics

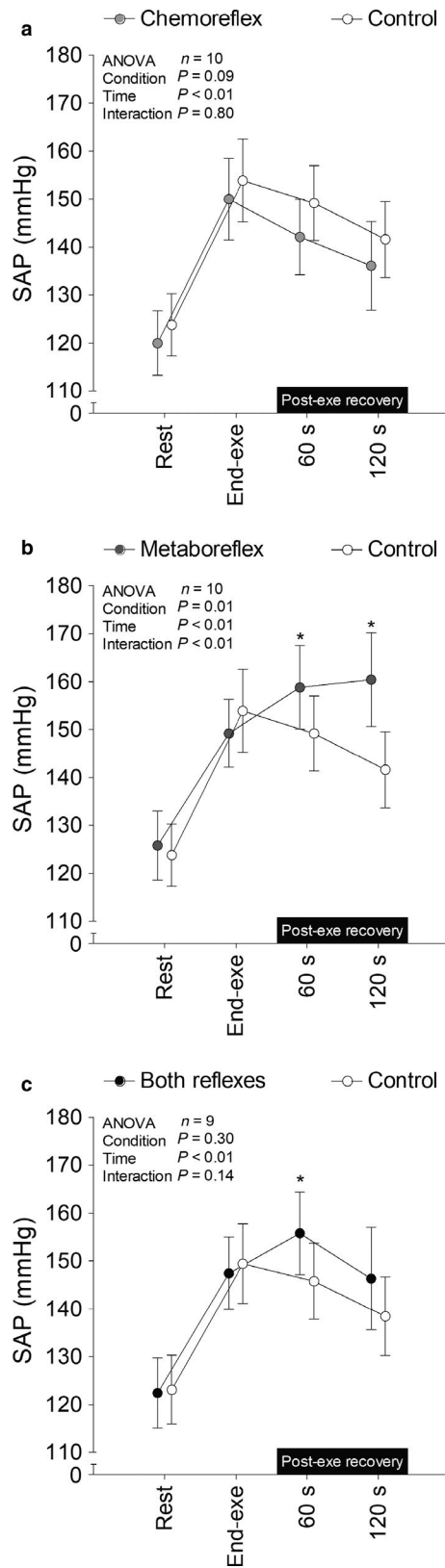
Variable	Mean \pm SD	Min–Max
Sex	7M/3W	
NYHA (II/III)	6/4	
Age (years)	56 \pm 7	44–67
Weight (kg)	78.3 \pm 15.6	57–114
BMI (kg/m ²)	28.0 \pm 4.3	20.4–34.4
FGlu (mg/dl)	102.7 \pm 10.0	97–122
Creatinine (mg/dl)	0.95 \pm 0.16	0.7–1.3
FEV ₁ (%predicted)	78.9 \pm 7.1	66.3–89.3
FEV ₁ /FVC (%)	101.9 \pm 7.9	84.6–116
LVEF Simpson (%)	31.0 \pm 6.1	18.5–37.8
Chemo. Sens. (L/min/SpO ₂ %)	0.35 \pm 0.23	0.15–0.9
Peak workload (W)	62 \pm 36	30–145
Peak SAP (mmHg)	162.6 \pm 35.9	122–212
Peak DAP (mmHg)	91.6 \pm 15.3	70–120
Drugs		
Beta blocker	10	
ACE/AT1	10	
Spirolactone	10	
Furosemide	2	
Hidralazine	1	
Nitrate	1	

Note: *n* = 10 for all variables, with the exception of spirometry variables (*n* = 9) and carotid chemosensitivity (*n* = 9).

Abbreviations: ACE, inhibition of angiotensin-converting enzyme; AT1, blocker of angiotensin type 1 receptors; BMI, body mass index; Chemo. Sens., carotid chemosensitivity; DAP, diastolic arterial pressure; FEV₁, forced expiratory volume in 1 s; FGlu, fasting glucose; FVC, forced vital capacity; LVEF, left ventricular ejection fraction; NYHA, New York Heart Association; SAP, systolic arterial pressure.

350 mmHg after 21 s of recovery under hyperoxia in all subjects. P_{ET}CO₂ was similar throughout time between tonic carotid chemoreflex activity and control, but it was lower during recovery with muscle metaboreflex activation and both reflexes active versus control.

Recovery with tonic carotid chemoreflex activity or muscle metaboreflex activation did not change \dot{V}_E and respiratory pattern versus control. V_T remained unchanged from control when both reflexes were simultaneously active. On the other hand, \dot{V}_E and *f*_R increased when both reflexes were simultaneously active versus control. Experimental sum and calculated sum were similar for \dot{V}_E , but only experimental sum raised \dot{V}_E above control (i.e., change greater than zero). Furthermore, experimental sum was greater than calculated sum for *f*_R. At last, \dot{V}_E experimental sum neither correlated with \dot{V}_E separated reflexes effects (carotid chemoreflex: *n* = 9, *r* = .10, *p* = .80; muscle metaboreflex: *n* = 9, *r* = .06, *p* = .89) nor with resting carotid chemosensitivity (*n* = 8, *r* = $-.49$, *p* = .22). Similarly, *f*_R experimental sum neither



correlated with f_R separated reflexes effects (carotid chemoreflex: $n = 10$, $r = -0.29$, $p = .41$; muscle metaboreflex: $n = 10$, $r = .47$, $p = .18$) nor with resting carotid chemosensitivity ($n = 9$, $r = -.42$, $p = .26$).

FIGURE 2 Systolic arterial pressure (SAP) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). $n = 10$ for panels a and b, $n = 9$ for panel c. Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way repeated-measures ANOVA followed by Fisher's post hoc. $*p < .05$ versus control

4 | DISCUSSION

The main results of the present study were that sum of separated reflexes effects did not change \dot{V}_E and respiratory pattern versus control. On the other hand, \dot{V}_E and f_R increased versus control when both reflexes were simultaneously active (experimental sum). Collectively, these results support an interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex for the regulation of \dot{V}_E and respiratory pattern. Another noteworthy finding was that \dot{V}_E and f_R experimental sums were neither associated with \dot{V}_E and f_R separated reflexes effects nor with resting carotid chemosensitivity. The lack of association indicates that the effect mediated by separated reflexes did not predict the effect yielded when both reflexes were simultaneously active. Hence, our results suggest that reflexes interaction should be further explored, particularly in patients who present with altered \dot{V}_E and respiratory pattern response to exercise, such as those with HFrEF.

4.1 | Carotid chemoreflex

We found delivery of hyperoxia at the onset of inactive recovery from exercise did not change \dot{V}_E , V_T and f_R versus normoxia when the leg circulation was unobstructed. It is unlikely that the lack of hyperoxia effect was attributed to insufficient inhibition of carotid chemoreceptors. The reason is that data collected in anesthetized cats indicate that 350 mmHg of O_2 pressure in the arterial blood (PaO_2) provokes a large reduction in the carotid chemoreceptors activity (Eyzaguirre & Lewin, 1961). We used $P_{ET}O_2$ as a surrogate of PaO_2 . By means of 100% O_2 in the inspired air, we reached the 350 mmHg level after 21 s of recovery. Therefore, from this moment on hyperoxia probably induced robust carotid chemoreceptors inhibition. Of note, it is unlikely that aortic chemoreceptors or any other O_2 sensitive mechanism play a relevant role for the ventilatory control in humans. The reason is that carotid bodies removal in humans, for the sake of asthma treatment in the 1960s (Lugliani, Whipp, Seard, & Wasserman, 1971) or removal of tumors in the neck region (Timmers, Wieling, Karemaker, & Lenders, 2003), almost abolishes the ventilatory response to hypoxia.

A study in patients with right-sided heart failure induced by pulmonary arterial hypertension employed a similar methodological approach to ours (Paula-Ribeiro et al., 2019). One

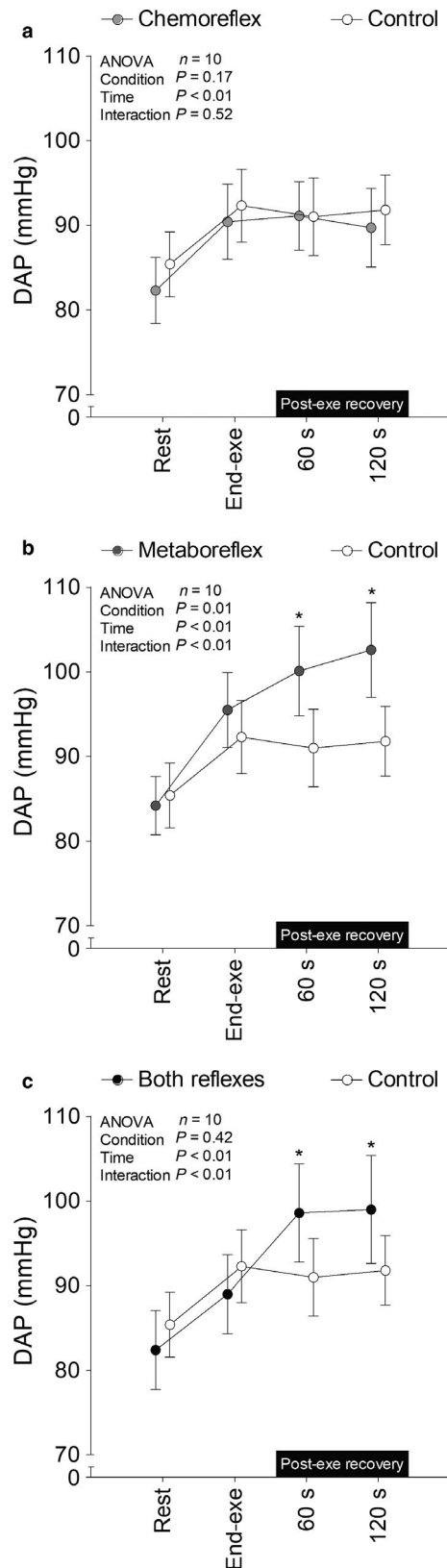


FIGURE 3 Diastolic arterial pressure (DAP) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). $n = 10$ for panels a, b and c. Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way repeated-measures ANOVA followed by Fisher's post hoc. *, $p < .05$ versus control

the \dot{V}_E response to transient hypoxia at rest did not vary from pre- to post-heavy-intensity exercise (Clement et al., 1996), indicating therefore that the carotid chemoreflex sensitivity was unchanged. Together, data from our and previous studies (Clement et al., 1996; Paula-Ribeiro et al., 2019) support that carotid chemoreceptors, per se, do not seem to contribute at all or contribute to a small part of the \dot{V}_E recovery from exercise.

4.2 | Muscle metaboreflex

Obstruction of lower limbs' circulation maintained arterial pressure at a level superior to the end exercise level, whereas arterial pressure decreased during recovery from exercise without circulatory occlusion. The arterial pressure data thus corroborate previous findings (Alam & Smirk, 1937; Olson, Joyner, & Johnson, 2010; Scott et al., 2002) and indicate that the muscle metaboreflex was operating during recovery with circulatory occlusion. Even though the muscle metaboreflex activity had a clear effect on the arterial pressure, it did not change \dot{V}_E and respiratory pattern versus control. The absence of an effect on \dot{V}_E and respiratory pattern has also been reported by other studies in patients with HFrEF (Olson et al., 2010; Scott et al., 2002, 2000), which further supports that muscle metaboreflex activation via circulatory occlusion of both lower limbs during recovery from exercise is ineffective for the \dot{V}_E and respiratory pattern regulation.

The use of postexercise circulatory occlusion allows maintenance of muscle metaboreflex activity apart from other reflexes activated during exercise like central command (Goodwin, McCloskey, & Mitchell, 1972), muscle mechanoreflex (Silva et al., 2018) and venous distension (Haouzi, Hill, Lewis, & Kaufman, 1999). However, one disadvantage of the method for the study of \dot{V}_E and respiratory pattern is that it traps a large amount of CO_2 in the limbs and consequently $P_{\text{ET}}\text{CO}_2$ has been shown to decay by about 5 mmHg in patients with HFrEF (Olson et al., 2010), which may reduce the tonic activity of carotid and central chemoreceptors (Forster et al., 2012; Olson et al., 2010). Thus, we used a rebreathing system in an attempt to avoid this problem (Banzett et al., 2000). The CO_2 control was not perfect though, as $P_{\text{ET}}\text{CO}_2$ was about 2 mmHg lower throughout the experiment to activate the muscle metaboreflex and at some time points during the experiment with the presence of both

hundred percent O_2 was given in the inspired air 10 s before the onset of active recovery from incremental exercise. Hyperoxia decreased \dot{V}_E during the first 30 s of active recovery versus normoxia, but then from this time up to 300 s it had no effect. Another study, conducted in healthy humans, showed that

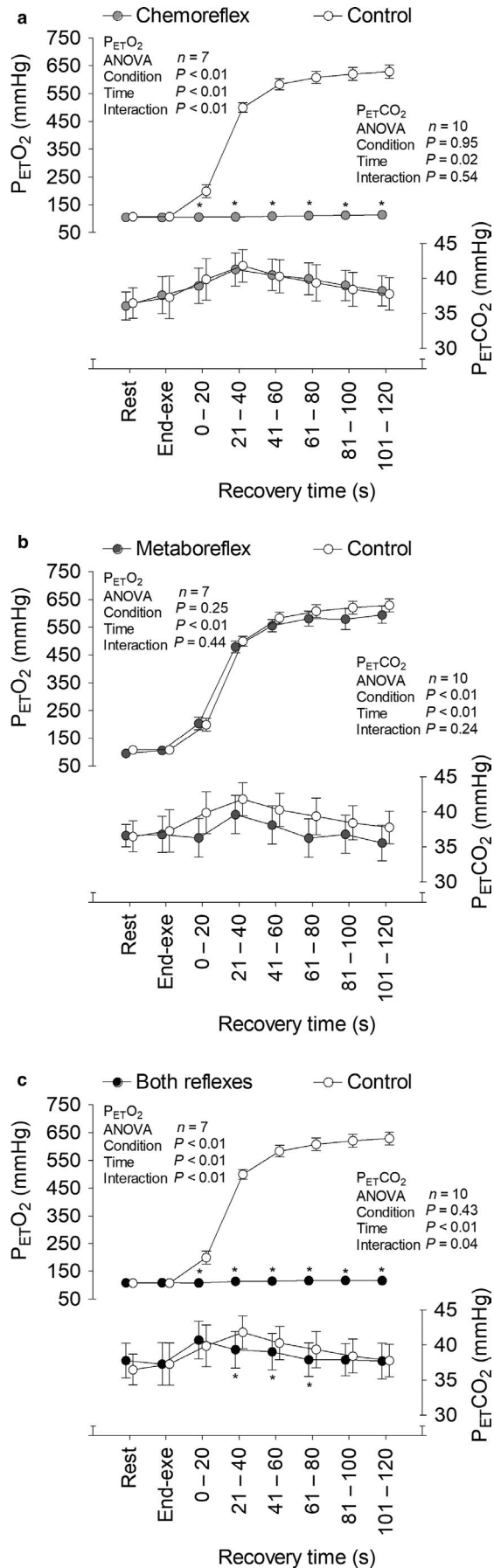


FIGURE 4 End tidal partial pressure of O_2 ($P_{ET}O_2$) and CO_2 ($P_{ET}CO_2$) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). $n = 7$ for all $P_{ET}O_2$ time points, $n = 7$ for resting $P_{ET}CO_2$ and $n = 10$ other $P_{ET}CO_2$ time points. In order to raise the statistical power, resting data were not included in the ANOVA analysis. Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way repeated-measures ANOVA followed by Fisher's post hoc. $*p < .05$ versus control

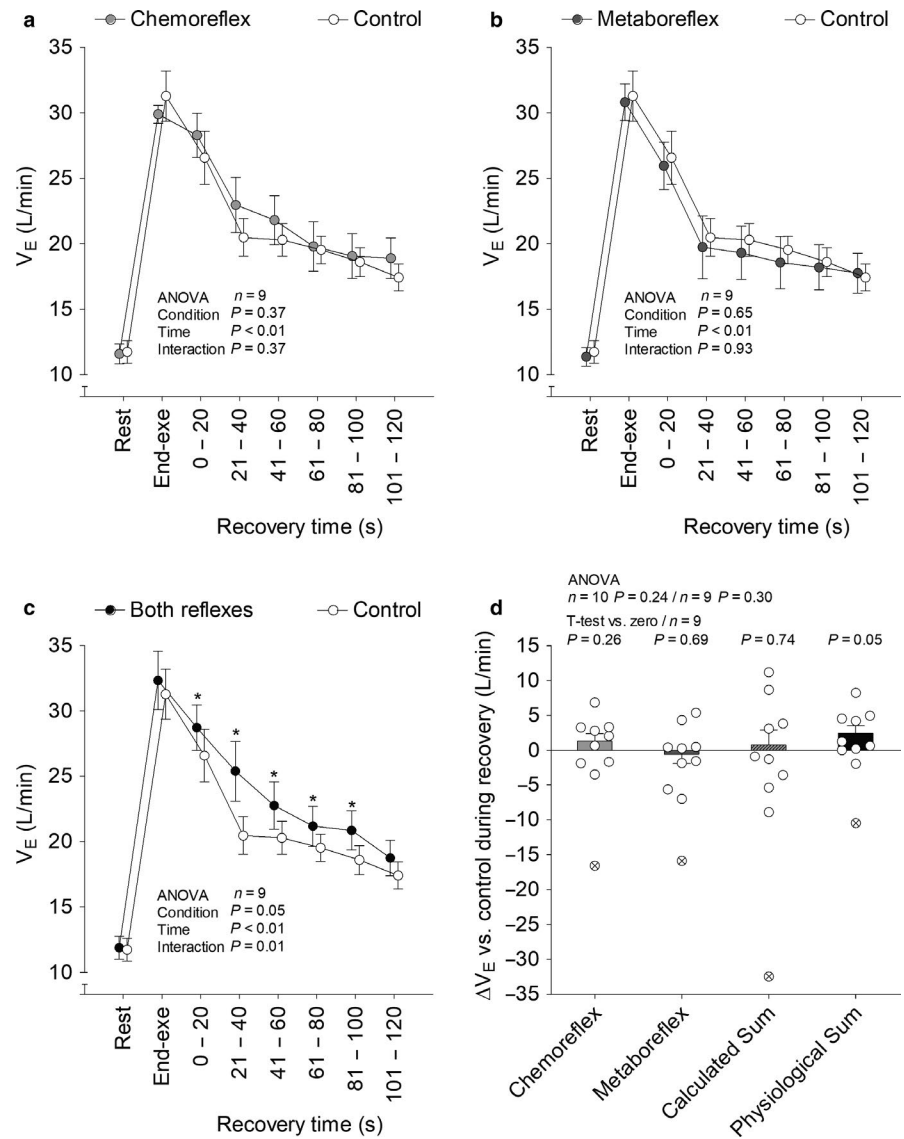
reflexes versus control. However, raising the $P_{ET}CO_2$ up to 3 mmHg did not change \dot{V}_E during postexercise muscle metaboreflex activation in healthy young men (Alghaith, Balanos, Eves, & White, 2019). Thus, it is unlikely that $P_{ET}CO_2$ was an issue for our data interpretation.

4.3 | Interaction between reflexes

Neither active carotid chemoreflex nor active muscle metaboreflex in separation changed \dot{V}_E , V_T and f_R versus the control condition. Sum of separated reflexes effects remained similar to control. On the other hand, \dot{V}_E and f_R increased above the control condition level when both reflexes were simultaneously active. Even using the single mean Student's t -test, which is a less strict analysis, separated reflexes and calculated sum remained unchanged from control. Therefore, the absence of separated reflex effects and calculated sum effect does not seem to be attributed to lack of statistical power. Unexpectedly, interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex yielded an additive effect (i.e., experimental sum similar to calculated sum) on the \dot{V}_E and a hyperadditive effect on the f_R (i.e., experimental sum greater than calculated sum). Breathing with a facemask could have some effect on \dot{V}_E and breathing pattern (Bloch, Barandun, & Sackner, 1995; Sackner, Nixon, Davis, Atkins, & Sackner, 1980), but the effect would be systemically present during all experiments which makes the use of a facemask an unlikely explanation for these results. It is also unlikely that $P_{ET}CO_2$ was an issue, as mentioned earlier. An alternative explanation could be the level of carotid chemosensitivity in our subjects. Just one subject presented resting carotid chemosensitivity higher than the superior range of normal (Chua et al., 1997). Thus, perhaps the effect of simultaneous reflexes participation would be greater in patients with higher carotid chemoreflex activity and sensitivity. Of note, during exercise, the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex possibly interact with other operating reflexes like central command (Goodwin et al., 1972), muscle mechanoreflex (Silva et al., 2018) and venous distension (Haouzi et al., 1999). As a result, the effect herein observed could have been greater if we had assessed an interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex during exercise, rather than recovery (Lam et al., 2019).

We did not use hypoxia to stimulate the carotid chemoreceptors in present study for the sake of patients' safety. Thus, our

FIGURE 5 Minute ventilation (\dot{V}_E) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way (panels a, b and c; $n = 9$, the outlier was removed), one-way [panel d; $n = 10$ (with the outlier) or 9 (without the outlier)] repeated-measures ANOVA (followed by Fisher's post hoc, if needed) and single mean Student's *t*-test (panel d; $n = 9$, the outlier was removed). * $p < .05$ versus control



data reflects the effect of tonic carotid chemoreceptors activity, rather than its sensitivity to hypoxia. Importantly, patients with HFrEF infrequently develop hypoxemia during exercise (Smith & Olson, 2019; Van Iterson et al., 2017), and so the assessment of tonic carotid chemoreceptors regulation of exercise hyperpnea enriches the external validity of our results. Some studies in healthy young adults have employed hypoxia during concomitant activation of skeletal muscle afferents. For instance, simultaneous carotid chemoreceptors activation via hypoxia and muscle metaboreflex activation via posthandgrip ischemia tended ($p = .14$) to provoke greater \dot{V}_E response than the sum of \dot{V}_E responses to each separated stimulus in healthy young men, in spite of $P_{ET}CO_2$ being ~ 7 mmHg lower during hypoxic posthandgrip ischemia versus normoxic posthandgrip ischemia (Edgell & Stickland, 2014). Consequently, the \dot{V}_E difference between experimental and calculated sums could have been clearer at comparable $P_{ET}CO_2$ level. Another study showed that simultaneous carotid chemoreceptors activation, via hypoxia, and muscle mechanoreflex activation, via passive limb movement, under

isocapnia provoked a hyperadditive \dot{V}_E response in healthy young adults (Silva et al., 2018). Therefore, use of hypoxia in healthy young humans to increase the carotid chemoreceptors activity supports the aforementioned hypothesis that the \dot{V}_E effect reported in the present study could have been greater in patients with higher carotid chemoreflex activity and sensitivity.

Our study was not designed to dissect where and how the interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex takes place, but it is conceivable that these reflexes interacted both at the central nervous system and at the periphery. Afferents from carotid chemoreceptors (Accorsi-Mendonça et al., 2011) and muscle metaboreceptors synapse at close regions in the nucleus of the tractus solitarius (Potts et al., 2003). Thus, afferent signals could be potentiated at this place, similar to what has been described for the interaction between afferent signals from arterial baroreceptors and muscle mechano- and metaboreceptors (Potts et al., 2003). Furthermore, activation of the muscle metaboreflex could increase carotid chemoreceptors

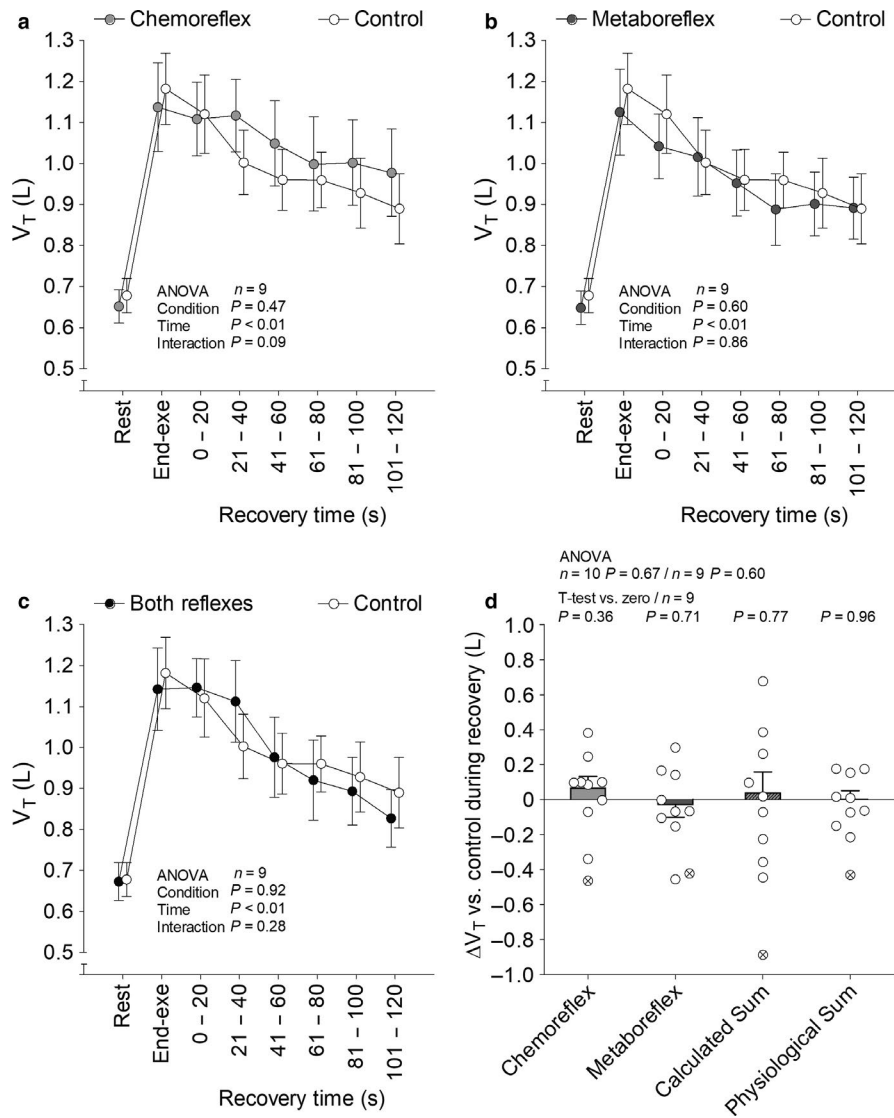


FIGURE 6 Tidal volume (V_T) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). Bars represent change versus control (panel d) and crossed out circle represents an outlier. Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way (panels a, b and c; $n = 9$, the outlier was removed), one-way [panel d; $n = 10$ (with the outlier) or 9 (without the outlier)] repeated-measures ANOVA and single mean Student's *t*-test (panel d; $n = 9$, the outlier was removed)

activity via increased sympathetic nerve activity to carotid bodies (O'regan, 1981). The increased sympathetic activity, in turn, could change carotid chemoreceptors activity either directly (Eyzaguirre & Lewin, 1961) or indirectly via alpha receptors-mediated vasoconstriction of arterioles that perfuse carotid chemoreceptors (Almaraz, Perez-Garcia, Gomez-Nino, & Gonzalez, 1997). It is important to mention that these hypotheses are based on animal model studies, and so, their translation to patients with HFrEF is limited.

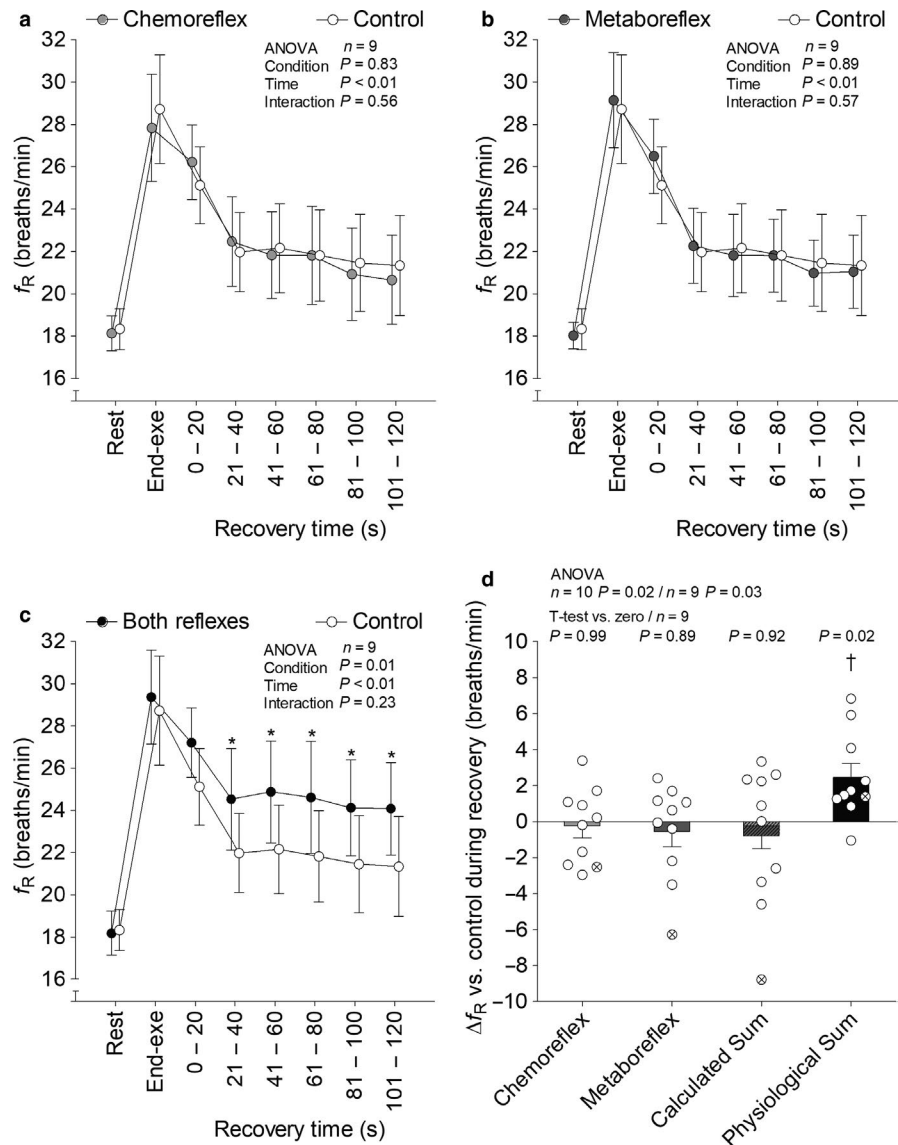
4.4 | Implications

Our results support that the interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex raises \dot{V}_E in a f_R -dependent manner. The f_R difference between experimental and calculated sums was of 2 cycles/min. At a first glance it may appear to be an effect of unimportant magnitude. However, evidence indicates that at similar level of \dot{V}_E (~ 45 L/min), patients with HFrEF showed f_R 7 cycles/min greater than healthy controls

(Smith & Olson, 2019). V_T was similar to controls (Smith & Olson, 2019). As a result, the increased f_R provoked hypocapnia (Smith & Olson, 2019). Estimation based on alveolar ventilation and $\dot{V}CO_2$ data indicates that the hypocapnia could have been eliminated if the excessive f_R response decreased by 4 cycles/min. Thus, if the interaction between the carotid chemoreflex and muscle metaboreflex contributes to an extra f_R increase of 2 cycles/min during exercise, it would represent 50% of the exaggerated f_R response to exercise at an iso- \dot{V}_E level.

The consequences of f_R -mediated exercise hyperventilation in patients with HFrEF may include increased dead space \dot{V}_E and increased work of breathing (Smith & Olson, 2019), which in combination can accentuate the perception of dyspnea (Andreas, Vonhof, Kreuzer, & Figulla, 1995; Morosin et al., 2018). The ensuing augmented recruitment of respiratory muscles may induce competition for distribution of the patients' low cardiac output between respiratory and locomotor muscles (Borghi-Silva et al., 2008), likely adding to restrain locomotor muscles perfusion (Borghi-Silva et al., 2008). As a result, lower limb discomfort may increase and, along with the aforementioned dyspnea,

FIGURE 7 Respiratory frequency (f_R) at rest, end-exercise and during recovery under tonic carotid chemoreflex activity (panel a), muscle metaboreflex activation (panel b) and both reflexes active (panel c) in contrast to both reflexes inactive (i.e., control). Bars represent change versus control (panel d). Data reported as mean \pm SEM and analyzed by two-way (panels a, b and c; $n = 9$, the outlier was removed), one-way [panel d; $n = 10$ (with the outlier) or 9 (without the outlier)] repeated-measures ANOVA (followed by Fisher's post hoc, if needed) and single mean Student's t -test (panel d; $n = 9$, the outlier was removed). * $p < .05$ versus control. † $p < .05$ versus all other conditions



can contribute to reduce the exercise tolerance (Borghesi-Silva et al., 2008). Therefore, remains to be investigated whether interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex contributes to respiratory, cardiovascular and perceptual responses to exercise. If it does contribute, attenuation of the interaction between the carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex could be beneficial for patients with HFrEF, which could probably be achieved, for example, via exercise training (Negrao, Middlekauff, Gomes-Santos, & Antunes-Correa, 2015).

5 | CONCLUSION

The carotid chemoreflex and the muscle metaboreflex interacted to \dot{V}_E regulation in a f_R -dependent manner in patients with HFrEF. Therefore, if this interaction operates during exercise, it can have some contribution to the HFrEF exercise hyperventilation.

AUTHORS' CONTRIBUTION

ACM, LCV, JACT, MLR, HV, ACLN, and BMS designed the project; ACM, EACG, JACT, MLR, and HV collected the data; ACM, JACT, MLR, and BMS analyzed the data; ACM and BMS involved in statistical analyses; ACM, LCV, EACG, JACT, MLR, HV, ACLN, and BMS interpreted the data; ACM and BMS drafted the manuscript; and ACM, LCV, EACG, JACT, MLR, HV, ACLN, and BMS revised the final manuscript.

ORCID

Lauro C. Vianna  <https://orcid.org/0000-0002-5747-0295>
 Bruno M. Silva  <https://orcid.org/0000-0003-0473-3706>

REFERENCES

Accorsi-Mendonça, D., Castania, J. A., Bonagamba, L. G. H., Machado, B. H., & Leao, R. (2011). Synaptic profile of nucleus tractus solitarius neurons involved with the peripheral chemoreflex pathways.

- Neuroscience*, 197, 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.neurosci.2011.08.054>
- Alam, M., & Smirk, F. (1937). Observations in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles. *Journal of Physiology*, 89, 372–383. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1937.sp003485>
- Alghaith, J. M., Balanos, G. M., Eves, F. F., & White, M. J. (2019). Sensitivity of the human ventilatory response to muscle metaboreflex activation during concurrent mild hypercapnia. *Experimental Physiology*, 104, 359–367. <https://doi.org/10.1113/EP087224>
- Almaraz, L., Perez-Garcia, M. T., Gomez-Nino, A., & Gonzalez, C. (1997). Mechanisms of alpha2-adrenoceptor-mediated inhibition in rabbit carotid body. *American Journal of Physiology*, 272, C628–C637. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.272.2.C628>
- Amrhein, V., Greenland, S., & McShane, B. (2019). Scientists rise up against statistical significance. *Nature*, 567, 305–307. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-00857-9>
- Andreas, S., Vonhof, S., Kreuzer, H., & Figulla, H. (1995). Ventilation and dyspnoea during exercise in patients with heart failure. *European Heart Journal*, 16, 1886–1891. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a060843>
- Arena, R., Myers, J., Aslam, S. S., Varughese, E. B., & Peberdy, M. A. (2004). Peak VO₂ and VE/VCO₂ slope in patients with heart failure: A prognostic comparison. *American Heart Journal*, 147, 354–360.
- Banzett, R. B., Garcia, R. T., & Moosavi, S. H. (2000). Simple contrivance “clamps” end-tidal P CO₂ and PO₂ despite rapid changes in ventilation. *Journal of Applied Physiology*, 88, 1597–1600. <https://doi.org/10.1152/jap.2000.88.5.1597>
- Bloch, K. E., Barandun, J., & Sackner, M. A. (1995). Effect of mouthpiece breathing on cardiorespiratory response to intense exercise. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 151, 1087–1092. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.4.7697236>
- Borghi-Silva, A., Carrascosa, C., Oliveira, C. C., Barroco, A. C., Berton, D. C., Vilaça, D., ... Neder, J. A. (2008). Effects of respiratory muscle unloading on leg muscle oxygenation and blood volume during high-intensity exercise in chronic heart failure. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 294, H2465–H2472. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.91520.2007>
- Chua, T., & Coats, A. (1995). The reproducibility and comparability of tests of the peripheral chemoreflex: Comparing the transient hypoxic ventilatory drive test and the single-breath carbon dioxide response test in healthy subjects. *European Journal of Clinical Investigation*, 25, 887–892.
- Chua, T. P., Ponikowski, P., Harrington, D., Anker, S. D., Webb-Peploe, K., Clark, A. L., ... Coats, A. J. (1997). Clinical correlates and prognostic significance of the ventilatory response to exercise in chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 29, 1585–1590. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(97\)00078-8](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(97)00078-8)
- Chua, T., Ponikowski, P., Harrington, D., Chambers, J., & Coats, A. (1996). Contribution of peripheral chemoreceptors to ventilation and the effects of their suppression on exercise tolerance in chronic heart failure. *Heart*, 76, 483–489. <https://doi.org/10.1136/hrt.76.6.483>
- Chua, T., Ponikowski, P., Webb-Peploe, K., Harrington, D., Anker, S., Piepoli, M., & Coats, A. (1997). Clinical characteristics of chronic heart failure patients with an augmented peripheral chemoreflex. *European Heart Journal*, 18, 480–486. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a015269>
- Clement, I., Pandit, J., Bascom, D., & Robbins, P. (1996). Ventilatory chemoreflexes at rest following a brief period of heavy exercise in man. *Journal of Physiology*, 495, 875–884. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021639>
- Dean, J. B., Mulkey, D. K., Henderson, R. A. III, Potter, S. J., & Putnam, R. W. (2004). Hyperoxia, reactive oxygen species, and hyperventilation: Oxygen sensitivity of brain stem neurons. *Journal of Applied Physiology*, 96, 784–791.
- Despas, F., Lambert, E., Vaccaro, A., Labrunee, M., Franchitto, N., Lebrin, M., ... Esler, M. (2012). Peripheral chemoreflex activation contributes to sympathetic baroreflex impairment in chronic heart failure. *Journal of Hypertension*, 30, 753–760. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328350136c>
- Ding, Y., Li, Y. L., & Schultz, H. D. (2011). Role of blood flow in carotid body chemoreflex function in heart failure. *Journal of Physiology*, 589, 245–258. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.200584>
- Edgell, H., McMurtry, M. S., Haykowsky, M. J., Paterson, I., Ezekowitz, J. A., Dyck, J. R., & Stickland, M. K. (2015). Peripheral chemoreceptor control of cardiovascular function at rest and during exercise in heart failure patients. *Journal of Applied Physiology*, 118, 839–848. <https://doi.org/10.1152/jap.2014.00898>
- Edgell, H., & Stickland, M. K. (2014). Activation of the carotid chemoreflex secondary to muscle metaboreflex stimulation in men. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 306, R693–R700. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00472.2013>
- Eyzaguirre, C., & Lewin, J. (1961). Chemoreceptor activity of the carotid body of the cat. *Journal of Physiology*, 159, 222–237. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1961.sp006804>
- Eyzaguirre, C., & Lewin, J. (1961). The effect of sympathetic stimulation on carotid nerve activity. *Journal of Physiology*, 159, 251–267. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1961.sp006806>
- Forster, H. V., Haouzi, P., & Dempsey, J. A. (2012). Control of breathing during exercise. *Comprehensive Physiology*, 2, 743–777.
- Goodwin, G., McCloskey, D., & Mitchell, J. (1972). Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *Journal of Physiology*, 226, 173–190. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1972.sp009979>
- Gujic, M., Laude, D., Houssiere, A., Beloka, S., Argacha, J. F., Adamopoulos, D., ... Van De Borne, P. (2007). Differential effects of metaboreceptor and chemoreceptor activation on sympathetic and cardiac baroreflex control following exercise in hypoxia in human. *Journal of Physiology*, 585, 165–174. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.141002>
- Haouzi, P., Hill, J. M., Lewis, B. K., & Kaufman, M. P. (1999). Responses of group III and IV muscle afferents to distension of the peripheral vascular bed. *Journal of Applied Physiology*, 87, 545–553. <https://doi.org/10.1152/jap.1999.87.2.545>
- Lam, E., Greenhough, E., Nazari, P., White, M. J., & Bruce, R. M. (2019). Muscle metaboreflex activation increases ventilation and heart rate during dynamic exercise in humans. *Experimental Physiology*, 104(10), 1472–1481. <https://doi.org/10.1113/EP087726>

- Linton, R., & Band, D. (1985). The effect of potassium carotid chemoreceptor activity and ventilation in the cat. *Respiration Physiology*, *59*, 65–70. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(85\)90019-2](https://doi.org/10.1016/0034-5687(85)90019-2)
- Lugliani, R., Whipp, B. J., Seard, C., & Wasserman, K. (1971). Effect of bilateral carotid-body resection on ventilatory control at rest and during exercise in man. *New England Journal of Medicine*, *285*, 1105–1111. <https://doi.org/10.1056/NEJM19711112852002>
- Mezzani, A., Agostoni, P., Cohen-Solal, A., Corra, U., Jegier, A., Kouidi, E., ... Simon, A. (2009). Standards for the use of cardiopulmonary exercise testing for the functional evaluation of cardiac patients: A report from the Exercise Physiology Section of the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, *16*, 249–267.
- Morosin, M., Farina, S., Vignati, C., Spadafora, E., Sciomer, S., Salvioni, E., ... Agostoni, P. (2018). Exercise performance, haemodynamics, and respiratory pattern do not identify heart failure patients who end exercise with dyspnoea from those with fatigue. *ESC Heart Failure*, *5*, 115–119. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12207>
- Narkiewicz, K., Pesek, C. A., Van De Borne, P. J., Kato, M., & Somers, V. K. (1999). Enhanced sympathetic and ventilatory responses to central chemoreflex activation in heart failure. *Circulation*, *100*, 262–267. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.3.262>
- Negrao, C. E., Middlekauff, H. R., Gomes-Santos, I. L., & Antunes-Correa, L. M. (2015). Effects of exercise training on neurovascular control and skeletal myopathy in systolic heart failure. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, *308*, H792–H802. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00830.2014>
- Niewiński, P., Janczak, D., Rucinski, A., Jazwiec, P., Sobotka, P. A., Engelman, Z. J., ... Banasiak, W. (2013). Carotid body removal for treatment of chronic systolic heart failure. *International Journal of Cardiology*, *168*, 2506–2509. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.03.011>
- Olson, T. P., Joyner, M. J., Eisenach, J. H., Curry, T. B., & Johnson, B. D. (2014). Influence of locomotor muscle afferent inhibition on the ventilatory response to exercise in heart failure. *Experimental Physiology*, *99*, 414–426. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.075937>
- Olson, T. P., Joyner, M. J., & Johnson, B. D. (2010). Influence of locomotor muscle metaboreceptor stimulation on the ventilatory response to exercise in heart failure. *Circulation: Heart Failure*, *3*, 212. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.879684>
- O'Regan, R. G. (1981). Responses of carotid body chemosensory activity and blood flow to stimulation of sympathetic nerves in the cat. *Journal of Physiology*, *315*, 81–98. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1981.sp013734>
- Pandit, J., Bergstrom, E., Frankel, H., & Robbins, P. (1994). Increased hypoxic ventilatory sensitivity during exercise in man: Are neural afferents necessary? *Journal of Physiology*, *477*, 169–175. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1994.sp020181>
- Parkes, M. (2017). Reappraisal of systemic venous chemoreceptors: Might they explain the matching of breathing to metabolic rate in humans? *Experimental Physiology*, *102*, 1567–1583. <https://doi.org/10.1113/EP086561>
- Paula-Ribeiro, M., Ribeiro, I. C., Aranda, L. C., Silva, T. M., Costa, C. M., Ramos, R. P., ... Silva, B. M. (2019). Carotid chemoreflex activity restrains post-exercise cardiac autonomic control in healthy humans and in patients with pulmonary arterial hypertension. *Journal of Physiology*, *597*, 1347–1360. <https://doi.org/10.1113/JP277190>
- Ponikowski, P., Chua, T. P., Piepoli, M., Ondusova, D., Webb-Peploe, K., Harrington, D., ... Mazzuero, G. (1997). Augmented peripheral chemosensitivity as a potential input to baroreflex impairment and autonomic imbalance in chronic heart failure. *Circulation*, *96*, 2586–2594. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.96.8.2586>
- Potts, J., Paton, J., Mitchell, J., Garry, M., Kline, G., Angelov, P., & Lee, S. (2003). Contraction-sensitive skeletal muscle afferents inhibit arterial baroreceptor signalling in the nucleus of the solitary tract: Role of intrinsic GABA interneurons. *Neuroscience*, *119*, 201–214.
- Sackner, J. D., Nixon, A. J., Davis, B., Atkins, N., & Sackner, M. A. (1980). Effects of breathing through external dead space on ventilation at rest and during exercise. II. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *122*, 933–940.
- Scott, A., Davies, L., Coats, A., & Piepoli, M. (2002). Relationship of skeletal muscle metaboreceptors in the upper and lower limbs with the respiratory control in patients with heart failure. *Clinical Science*, *102*, 23. <https://doi.org/10.1042/CS20010077>
- Scott, A. C., Francis, D. P., Davies, L. C., Ponikowski, P., Coats, A. J., & Piepoli, M. F. (2000). Contribution of skeletal muscle 'ergoreceptors' in the human leg to respiratory control in chronic heart failure. *Journal of Physiology*, *529*, 863–870. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00863.x>
- Silva, T. M., Aranda, L. C., Paula-Ribeiro, M., Oliveira, D. M., Medeiros, W. M., Vianna, L. C., ... Silva, B. M. (2018). Hyperadditive ventilatory response arising from interaction between the carotid chemoreflex and the muscle mechanoreflex in healthy humans. *Journal of Applied Physiology*, *125*, 215–225. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00009.2018>
- Smith, J. R., & Olson, T. P. (2019). Ventilatory constraints influence physiological dead space in heart failure. *Experimental Physiology*, *104*, 70–80. <https://doi.org/10.1113/EP087183>
- Smith, S., Williams, M., Mitchell, J., Mammen, P., & Garry, M. (2005). The capsaicin-sensitive afferent neuron in skeletal muscle is abnormal in heart failure. *Circulation*, *111*, 2056. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000162473.10951.0A>
- Stickland, M. K., Miller, J. D., Smith, C. A., & Dempsey, J. A. (2007). Carotid chemoreceptor modulation of regional blood flow distribution during exercise in health and chronic heart failure. *Circulation Research*, *100*, 1371–1378. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000266974.84590.d2>
- Sullivan, M. J., Higginbotham, M. B., & Cobb, F. R. (1988). Increased exercise ventilation in patients with chronic heart failure: Intact ventilatory control despite hemodynamic and pulmonary abnormalities. *Circulation*, *77*, 552–559.
- Tasoulis, A., Dimopoulos, S., Repasos, E., Manetos, C., Tzanas, G., Soussonis, V., ... Nanas, S. (2014). Respiratory drive and breathing pattern abnormalities are related to exercise intolerance in chronic heart failure patients. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, *192*, 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2013.11.011>
- Taylor, B. J., Smetana, M. R., Frantz, R. P., & Johnson, B. D. (2015). Submaximal exercise pulmonary gas exchange in left heart disease patients with different forms of pulmonary hypertension. *Journal of Cardiac Failure*, *21*, 647–655. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2015.04.003>

- Timmers, H. J., Wieling, W., Karemaker, J. M., & Lenders, J. W. (2003). Denervation of carotid baro- and chemoreceptors in humans. *Journal of Physiology*, 553, 3–11. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.052415>
- Van Iterson, E. H., Johnson, B. D., Borlaug, B. A., & Olson, T. P. (2017). Physiological dead space and arterial carbon dioxide contributions to exercise ventilatory inefficiency in patients with reduced or preserved ejection fraction heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 19, 1675–1685. <https://doi.org/10.1002/ejhf.913>

How to cite this article: Machado AC, Vianna LC, Gomes EAC, et al. Carotid chemoreflex and muscle metaboreflex interact to the regulation of ventilation in patients with heart failure with reduced ejection fraction. *Physiol Rep*. 2020;8:e14361. <https://doi.org/10.14814/phy2.14361>