



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação Farmácia**

LETÍCIA RODRIGUES MENDES

**REPERCUSSÕES DA EXPIRAÇÃO ATIVA SOBRE A VENTILAÇÃO PULMONAR
EM SITUAÇÕES DE HIPÓXIA**

Araraquara, SP

2024

LETÍCIA RODRIGUES MENDES

**REPERCUSSÕES DA EXPIRAÇÃO ATIVA SOBRE A VENTILAÇÃO PULMONAR
EM SITUAÇÕES DE HIPÓXIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Farmacêutico(a).

Orientador: Prof Dr. Daniel Breseghello Zoccal

Araraquara, SP

2024

M538r Mendes, Letícia Rodrigues.
Repercussões da expiração ativa sobre a ventilação pulmonarem
situações de hipóxia / Letícia Rodrigues Mendes. – Araraquara, 2024.
40 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia) –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de
Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Daniel Breseghello Zoccal.

1. Atividade muscular. 2. Fluxo de ar. 3. Hipóxia. 4. Respiração. I.
Zoccal, Daniel Breseghello, orient. II. Título.

Ficha de Avaliação do Trabalho de Conclusão de Curso

Aluno(a): Leticia Rodrigues Mendes Ano de Curso: <input checked="" type="checkbox"/> 5º integral / (<input type="checkbox"/>) 6º noturno - Farmácia

Banca Examinadora - Fatores de Avaliação

1. PLANEJAMENTO Qualidade do projeto de TCC, cumprimento das exigências e grau de dificuldade do plano.		
2. QUALIDADE VERIFICADA DO TRABALHO ESCRITO Conteúdo, organização, forma, consistência técnica, Referências Bibliográficas, objetividade, criatividade e funcionalidade das propostas.		
3. APRESENTAÇÃO E DEFESA ORAL Qualidade, organização do raciocínio, consistência técnica, capacidade de argumentação e compatibilidade dos recursos utilizados na apresentação.		
CONCEITO	<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO	<input type="checkbox"/> REPROVADO
Observação (Em caso de alteração do título, favor redigir com letra legível):		

Atestamos que o(a) aluno(a) matriculado(a) no curso de Farmácia, cumpriu o Trabalho de Conclusão de Curso - TCC, conforme Portaria D.FCF/CAr nº 55/2017, e obteve avaliação da Banca Examinadora conforme conceito indicado acima.

Assinaturas:

 Digitally signed by Daniel Bresighello Zoccali.238115634836 Date: 2024.05.27 16:04:04 -03'00'	Orientador	 Digitally signed by Daniel Bresighello Zoccali.238115634836 Date: 2024.05.27 16:04:31 -03'00'
p/ Membro da Banca		p/ Membro da Banca

DESPACHO CCG/FB-CAr nº _____
 Homologado pelo Conselho de Curso de
 Graduação em sessão de ____/____/____

Prof. Dr. MARCELO TADEU MARIN
 Coordenador do Curso de Graduação

DEDICATÓRIA

Agradeço primeiramente, aos meus pais, aqueles que com seu amor e apoio, fizeram sacrifícios incansáveis para contribuir com meu aprendizado e futuro na jornada acadêmica. Me mantiveram financeiramente em uma cidade que fica a 5 horas de distância da minha cidade natal para que eu pudesse ter uma educação de qualidade, sem vocês esta conquista não seria possível. Pais vocês são meus pilares de força e inspiração em todos os momentos, desde noites em que virei estudando, até as ligações chorando com dúvidas em meu coração, ou apenas com o emocional abalado. Foram suas palavras de incentivo que me fizeram chegar até aqui.

Em segundo lugar coloco minha irmã, Beatriz, aquela que me guiou durante toda minha vida, me ajudando desde a escolha de um ensino técnico até meu curso de graduação, você é um exemplo de força, inspiração e orgulho, espero, quando ficar mais velha me tornar pelo menos metade da mulher que você é, saiba que essa conquista de me formar também é sua, porque você esteve ao meu lado, compartilhando altos e baixos, celebrando todas as minhas vitórias e me incentivando quando vinham os desafios.

Aos meus amigos de São Paulo escrevo essa dedicatória com o coração transbordando de gratidão e saudade, pois mesmo com a distância física entre nós, que muitas das vezes parecia imensa, o amor e a amizade de vocês foram minha força e essa transcendeu qualquer quilômetro. Espero que tenham conhecimento da importância que tem para mim e o quanto os valorizo, a distância pode nos separar fisicamente, mas nada pode separar nossos corações e os laços que nos unem.

Por fim, República Frapê, vocês literalmente foram meu lar e estiveram comigo em toda minha jornada da faculdade, começamos nossa história morando em um apartamento e viramos gigantes, uma casa com muitas mulheres, vocês foram para mim aquelas irmãs que não são de sangue, mas que eu daria tudo para ter vocês morando comigo pelo resto da vida, nos momentos em que a tristeza me tomava, era vocês que enxugavam minhas lágrimas, quando a vontade de desistir vinha, quem me colocava para cima eram vocês, o que às vezes era cinza se tornava cheio de luz e cores com vocês, obrigada por terem sido meu maior exemplo de amor e cumplicidade, obrigada por serem minha família em Araraquara. Eu consegui frapês, essa conquista só foi possível por conta de vocês.

Esse trabalho de conclusão de curso é dedicado a cada um citado acima, como uma pequena expressão da minha gratidão eterna. Que cada palavra escrita aqui seja um reflexo de

amor, da dedicação e do exemplo inspirador que vocês me proporcionaram ao longo de toda a minha vida.

Com todo meu amor e apreço,

Letícia Rodrigues Mendes

AGRADECIMENTOS

O começo do agradecimento de uma longa história na graduação, vem com minha mãe, Rosana, que com seu amor incondicional moldou quem eu sou hoje, você esteve me guiando em cada uma das etapas da minha vida, sua presença e abraço foram meu maior refúgio em momentos turbulentos. Com você eu aprendi o que é bondade, compaixão e resiliência, mas principalmente o que é amor. Que com essas palavras consiga transmitir apenas uma fração do amor e gratidão que sinto por você.

Pai, você sempre me mostrou a importância da educação e do trabalho e sempre se preocupou em me permitir estar onde eu me desenvolvesse mais. Você se interessa por ouvir sobre tudo o que eu faço, sobre o que eu desenvolvo, mesmo que nem sempre você entenda afundo sobre o que é, isso é extremamente importante para mim. Aprendi com você a nunca desistir e sempre ir atrás dos meus sonhos, por mais diferentes e desafiadores que sejam.

A minha república, é difícil citar cada uma de vocês individualmente, sendo assim vou citar todas em conjunto, ao longo dos meus anos de graduação, enfrentamos desafios juntas, celebramos várias conquistas e criamos as melhores memórias da minha vida, sei que posso contar com vocês para estarem ao meu lado, cada uma de vocês trouxe uma luz única para minha vida, iluminaram meus dias sombrios e tornaram os momentos ainda mais especiais. Obrigada, por serem minha família escolhida, por estarem sempre presentes, guardarei vocês para sempre em meu coração, espero poder retribuir todo o amor e apoio que vocês me deram ao longo dos anos.

A Camila Vargas da graduação, que sempre se manteve presente ajudando cada aluno da FCFAR, respondendo mensagens no seu número de telefone pessoal, ajudando com os termos, estágios, documentos, e muitas das vezes ajudando a lidar com nosso emocional, acalmando-nos com uma mensagem de carinho, ou palavras de conforto no presencial. Às vezes precisamos de alguém para nos guiar ao longo do caminho, pode ter certeza que você foi essencial na jornada da nossa turma que teve 2 anos de seu ensino prejudicado por uma pandemia.

A todos os meus professores, mas principalmente ao meu professor orientador, Daniel Zocal, gostaria de expressar minha sincera gratidão por todo apoio, orientação e inspiração

que vocês me deram ao longo da minha graduação. Palavras de sabedoria, dedicação e paixão pelo ensino, foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e pessoal. Cada aula, cada reunião, foi mais que uma simples transmissão de conhecimento, foi oportunidade de se desenvolver interpessoalmente, de refletir, de crescer. Vocês conseguiram me passar além do vasto conhecimento e experiência de vocês, me ensinaram a me autodesafiar e sempre buscar o melhor em mim mesma, ultrapassar meus limites. Obrigada por me levarem por estradas além do aprendizado, agora é meu momento de continuar voando longe das asas de vocês. Daniel, você foi além de um professor, foi como um pai, daqueles que não costuma passar a mão na nossa cabeça, mas sim nos ensinar como passar pela tortuosa estrada da vida, e que nos mostra estar sempre presente, seja com uma palavra de conforto, ou uma conversa mais séria, ou nos entregando vários artigos para ler, com risadas em um congresso, sem você não seria metade da farmacêutica que sou hoje, não saberia o tanto que sei hoje e sei que posso aprender muito mais, mas você está fazendo parte do início, que para mim é a parte mais importante, da jornada de vida que terei. Aquela Letícia que tinha medos, superou quase todos, porque teve um professor acreditando nela todas às vezes.

Prezadas escolas em que estudei e me permitiram chegar até a Unesp, uma universidade pública de qualidade, Instituto Prisma de Educação e Cultura, Externato Horto Florestal e Escola Técnica Estadual de São Paulo. Gostaria de expressar toda minha gratidão pela pessoa que vocês formaram enquanto estudei em cada uma das respectivas instituições. Os anos que passei nas suas instituições foram uma jornada de crescimento pessoal e acadêmico que sempre estarão em minha memória. Desde o primeiro dia em cada um desses locais, fui recebida com carinho, pelos educadores, funcionários e colegas tornando esses ambientes locais acolhedores, inclusivos, onde além de desenvolver minhas habilidades acadêmicas, desenvolvi minha autoconfiança e senso de responsabilidade. Cada uma foi essencial para me tornar a pessoa que sou hoje, sempre guardarei cada memória em meu coração como um local onde cresci e aprendi a me preparar para o que o futuro aguardava. A Letícia de hoje se formando na faculdade está orgulhosa da Letícia criança e adolescente que passou pela instituição de vocês, consegui, e as escolas de vocês foram essenciais nisso.

Obrigada a Unesp por me permitir fazer o curso dos meus sonhos na faculdade mais maravilhosa que poderia ter tido, nunca imaginei viver o que vivi aqui. Agradeço por todos os funcionários, alunos e professores, por criar esse mundo mágico onde eu aprendi tanto e estou sendo muito feliz.

Agradeço as extensões, que, com certeza, me desenvolveram de um jeito que nenhuma outra experiência iria me desenvolver. Jornada Farmacêutica da Unesp, AFEP, PAFE e Cacif, sem vocês, eu não seria nem metade de quem eu sou hoje, obrigada por todos os trabalhos, contatos e momentos e por me transformarem no quesito comunicação, confiança, didática, trabalho em equipe e liderança. Um agradecimento especial para aqueles que acreditaram em mim e me permitiram ser coordenadora geral da Jornada Farmacêutica por 2 anos. Essa foi uma das melhores oportunidades da minha vida. Liderar qualquer um dos projetos dessas entidades, me tornou uma pessoa melhor, uma pessoa que sabe pensar no outro, trabalhar em grupo, uma pessoa mais humana.

Agradeço também aos amigos que fiz nessas extensões, vocês fizeram parte da minha história, é impossível expressar em palavras o quanto vocês significaram para mim durante esses anos. Com vocês o trabalho, se tornava mais gostoso, risadas, abraços, apoio, dentre outros foram a melhor parte, vocês são mais que apenas pessoas que conheci nas extensões, vocês são aqueles que me mantiveram em cada uma delas.

Obrigada ao laboratório de pesquisa da Fisiologia e Patologia na faculdade de Odontologia de Araraquara, nunca imaginei ir para congressos científicos, apresentar minha pesquisa, viajar com meus colegas de laboratório. Fazer pesquisa é contribuir para humanidade e sempre, sem exceção alcançar patamares desconhecidos, se autodesafiar, e se tornar uma pessoa melhor, que nunca se contenta com o pouco. Obrigada por terem feito essa jornada comigo, por terem me ensinado, por terem tido paciência. Tudo foi mais leve tendo vocês ao meu lado.

A minha dupla de pesquisa e laboratório, Beatriz Nunes, você foi uma das minhas maiores amigas da faculdade, viver tudo isso com você tornou tudo mais leve, porque você é aquele caos que acalma a tempestade, sim, você é um turbilhão de sentimentos que salvou eu de mim mesma inúmeras vezes, amo-te.

Por fim, agradeço o financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio de bolsas PIBIC (Processo 143979/2022-1 - 2022-23 e Processo 127854/2023-1- 2023-24), e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2022/05717-0).

RESUMO

A coordenação da atividade dos músculos respiratórios é essencial para mover o ar para dentro e para fora dos pulmões. Em situação de repouso, a inspiração é um processo ativo, onde contrações dos músculos diafragmáticos (DIA) e intercostais externos (eIC) geram o fluxo do ar inspiratório. Entretanto, o fluxo de ar expiratório é gerado passivamente por forças elásticas de recuo do tórax e dos pulmões. A exposição a níveis reduzidos de oxigênio (hipóxia) ou excesso de dióxido de carbono (hipercapnia) transforma a expiração num processo ativo, com recrutamento dos músculos abdominais (ABD) e intercostais internos (iIC) que aumentam o fluxo respiratório. No entanto, ainda não está claro como os músculos ABD e iIC são coordenados durante a expiração ativa e como o seu recrutamento modifica o fluxo expiratório para melhorar a ventilação pulmonar. Para explorarmos esse questionamento, no presente estudo utilizamos ratos Holtzman adultos (n=15, 250-300 g) anestesiados (uretana, 1,2 mg/kg, i.v.), nos quais foram implantados eletrodos nos músculos DIA, eIC, iIC e ABD. Esses animais também receberam uma máscara no focinho que permitiu a exposição à mistura de gases enquanto monitorava-se o fluxo de ar nasal. Os parâmetros fisiológicos foram registrados em condições de repouso e durante a exposição a hipóxia (10% e 7% de O₂), hipercapnia (10% e 7% de CO₂) ou isquemia (10% O₂ e 7% CO₂) por 10 min. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo CEUA local (protocolo 17/2020). Em condições de repouso, o DIA e o eIC apresentaram atividades sincronizadas durante a fase inspiratória, ao passo que o ABD e o iIC não apresentaram atividade expressiva. O fluxo de ar expiratório apresentou um pico durante a primeira fase de expiração (E1). De forma geral, a exposição à hipóxia (n = 7) causou: 1) aumento inicial na frequência respiratória (fR, P<0,05) seguido de uma redução até os valores pré-hipóxia; 2) elevação (P<0,05) das amplitudes dos músculos DIA (Δ : 25-41%) e eIC (Δ : 37-58%); e 3) surgimento de atividade expiratória ABD (Δ : 60-120%) and iIC (Δ : 116-325%) durante os seis minutos iniciais de exposição (P<0,05). Esse padrão expiratório ativo foi acompanhado por um aumento progressivo do fluxo de ar durante a segunda fase de expiração (E2). A exposição à hipercapnia (n = 8) promoveu uma elevação da fR nos minutos finais de exposição, aumentos sustentados (P<0,05) na amplitude da atividade DIA (Δ : 45-56%) e eIC (Δ : 111-128%) (P<0,05), e incrementos nas atividades ABD (Δ : 105-144%) e iIC (Δ : 219-255%) especialmente nos momentos finais de exposição (P<0,02). Diferentemente da hipóxia, as alterações motoras promovidas pela hipercapnia não impactaram no padrão de fluxo de ar expiratório, que permaneceu com pico máximo durante a fase E1. Durante a isquemia, as alterações motoras e na fR observadas foram semelhantes à somação das respostas observadas

durante os estímulos isolados ($P < 0,05$), com exceção do padrão de fluxo de ar expiratório, que permaneceu com pico em E1 assim como observado durante a exposição à hipercapnia. Nossos resultados mostram que as exposições à hipóxia, hipercapnia e isquemia causam ativação dos músculos ABD e iIC de forma coordenada durante a fase expiratória. No entanto, a dinâmica e impacto da expiração ativa sobre fluxo de ar expiratório é diferente dependendo da condição gasosa (hipóxia ou hipercapnia e isquemia), indicando que os impactos da expiração ativa na mecânica pulmonar envolvem o recrutamento de músculos respiratórios adicionais.

Palavras chaves: atividade muscular, fluxo de ar, hipóxia, respiração.

ABSTRACT

The coordination of the activity of respiratory muscles is essential for moving air in and out of the lungs. At rest, inspiration is an active process where contractions of the diaphragmatic muscles (DIA) and external intercostal muscles (eIC) generate inspiratory airflow. However, expiratory airflow is passively generated by elastic recoil forces of the chest and lungs. Exposure to reduced oxygen levels (hypoxia) or excess carbon dioxide (hypercapnia) transforms expiration into an active process with recruitment of abdominal muscles (ABD) and internal intercostal muscles (iIC), which increase respiratory flow. However, it is still unclear how ABD and iIC muscles are coordinated during active expiration and how their recruitment modifies expiratory flow to improve lung ventilation. To explore this question, in the present study, we used anesthetized adult Holtzman rats ($n=15$, 250-300 g) (urethane, 1.2 mg/kg, i.v.), in which electrodes were implanted in the DIA, eIC, iIC, and ABD muscles. These animals also received a mask on their snouts that allowed exposure to gas mixtures while monitoring nasal airflow. Physiological parameters were recorded under resting conditions and during exposure to hypoxia (10% and 7% O₂), hypercapnia (10% and 7% CO₂), or ischemia (10% O₂ and 7% CO₂) for 10 min. Experimental protocols were approved by the local CEUA (protocol 17/2020). At rest, DIA and eIC showed synchronized activities during the inspiratory phase, while ABD and iIC showed no significant activity. Expiratory airflow exhibited a peak during the first phase of expiration (E1). Generally, exposure to hypoxia ($n=7$) caused: 1) initial increase in respiratory rate (fR, $P<0.05$) followed by a reduction to pre-hypoxia values; 2) elevation ($P<0.05$) of DIA (Δ : 25-41%) and eIC (Δ : 37-58%) burst amplitudes; and 3) emergence of ABD (Δ : 60-120%) and iIC (Δ : 116-325%) expiratory activity during the first six minutes of exposure ($P<0.05$). This active expiratory pattern was accompanied by a progressive increase in airflow during the second phase of expiration (E2). Exposure to hypercapnia ($n=8$) promoted an elevation of fR in the final minutes of exposure, sustained increases ($P<0.05$) in DIA (Δ : 45-56%) and eIC (Δ : 111-128%) activity amplitude ($P<0.05$), and increments in ABD (Δ : 105-144%) and iIC (Δ : 219-255%) activities especially in the final moments of exposure ($P<0.02$). Unlike hypoxia, the motor changes promoted by hypercapnia did not impact the pattern of expiratory airflow, which remained with a peak during the E1 phase. During ischemia ($n=7$), motor changes and fR observed were similar to the summation of responses observed during isolated stimuli ($P<0.05$), except for the pattern of expiratory airflow, which remained with a peak in E1 as observed during exposure to hypercapnia. Our results show that exposures to hypoxia, hypercapnia, and ischemia cause

activation of ABD and iIC muscles in a coordinated manner during the expiratory phase. However, the dynamics and impact of active expiration on expiratory airflow are different depending on the gaseous condition (hypoxia or hypercapnia and ischemia), indicating that the impacts of active expiration on lung mechanics involve the recruitment of additional respiratory muscles.

Keywords: muscle activity, airflow, hypoxia, breathing

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

Geração da respiração em repouso

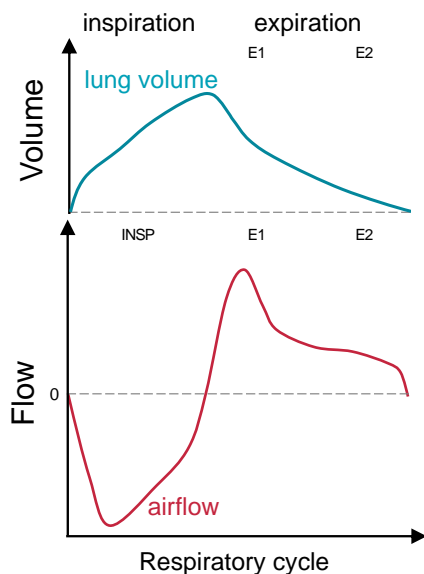


Figura 1 – Representações esquemáticas do volume pulmonar (*volume*) do fluxo de ar (*flow*) durante um ciclo respiratório (*respiratory cycle*). Nessa figura, estão ilustradas as fases inspiratória (*inspiration*) e expiratória (*expiration*), sendo que, nessa última, é possível ver as duas etapas do fluxo expiratório: estágio 1 (E1) e estágio 2 (E2).

O sistema nervoso central contém agrupamentos celulares que interagem entre si e formam padrões oscilatórios de atividade neuronal, os quais são de fundamental importância no processamento sensorial, memória, cognição, locomoção e outros. Dentre esses grupos neuronais se encontra a rede neural responsável pela geração da atividade motora respiratória (Del Negro et al, 2018). A respiração é um ato essencial à vida, tendo início durante a vida embrionária (Champagnat et al, 1997). Em mamíferos, o processo de movimentação do ar para dentro e fora dos pulmões, denominado de ventilação pulmonar, requer a contração cíclica, rítmica e coordenada dos músculos respiratórios,

gerando uma diferença de pressão entre o espaço alveolar e o ar atmosférico. Em um indivíduo saudável e em repouso, a respiração deve ocorrer de forma natural e sem esforços; porém os movimentos respiratórios devem ser ajustados durante situações como o estado de sono/vigília ou exercício físico, bem como devem ser coordenados com outros padrões motores, como a mastigação, deglutição, vocalização, tosse, espiro, etc. Dessa forma, a geração e controle da respiração requerem uma sofisticada e dinâmica programação motora, capaz de responder, de forma apropriada, às modificações do meio interno e externo.

A atividade respiratória se origina a partir da atividade de neurônios localizados na superfície ventral do bulbo, constituindo o chamado oscilador inspiratório. Esta região, denominada de complexo pré-Bötzing (pré-BötC), contém neurônios com propriedades que os permitem gerar atividade rítmica de forma espontânea (Reklow et al, 2019). As oscilações primárias geradas pelo pré-BötC são, então, transmitidas para os outros núcleos respiratórios contendo neurônios pré-motores e motores, dando início a uma sincronizada atividade entre os

grupamentos respiratórios responsáveis pela coordenação da atividade dos nervos cranianos e espinhais, levando a contração e relaxamento dos músculos respiratórios (Champagnat et al, 1997).

Dessa forma, a respiração em repouso (normóxia e normocapnia) se inicia com a contração dos músculos inspiratórios, especialmente o diafragma (que empurra o abdômen para baixo e para frente) e os músculos intercostais externos (que tracionam as costelas para cima e para frente), promovendo o aumento do volume pulmonar e a geração do fluxo inspiratório (**Figura 1**). Ainda durante a fase inspiratória, tem-se a contração dos músculos dilatadores da via aérea superior, como os abdutores da faringe (genioglosso) e laringe (por exemplo, o cricoaritenóideo e hióide), reduzindo à passagem de ar pelas vias aéreas (Ludlow et al 2005; Fregosi et al, 2011; Smith et al, 2013) .

A expiração, por sua vez, ocorre devido a inibição da atividade motora inspiratória, e a atuação das forças elásticas de recolhimento da caixa torácico e dos pulmões, gerando, de forma passiva (sem contração muscular), o fluxo expiratório (Smith et al, 2007). Apesar de ser gerado passivamente, o fluxo expiratório é regulado durante o primeiro estágio da expiração (E1, também conhecido como pós-inspiração) pela contração dos músculos adutores da laringe (por exemplo, músculos cricoaritenóideos laterais e tireoaritenóideos) que estreitam o diâmetro das vias aéreas superiores e reduzem o fluxo expiratório e velocidade do fluxo (20). Ao final da fase expiratória (ou estágio 2 da expiração, E2), nenhuma atividade muscular respiratória é observada, e o fluxo expiratório cessa quando o novo ciclo respiratório se inicia. As diferentes fases da expiração (E1 e E2) podem ser observadas pelas mudanças na dinâmica do fluxo expiratório, conforme ilustra a **Figura 1**.

Assim, por meio da atividade coordenada dos músculos respiratórios, o ar alveolar é renovado a cada ciclo respiratório, garantindo a adequada troca gasosa e a manutenção das pressões parciais de oxigênio (O_2) e dióxido de carbono (CO_2) no sangue arterial. Em situações em que a homeostase dos gases sanguíneos é perturbada, o funcionamento da rede neural respiratória, e conseqüentemente dos músculos respiratórios, sofrerá alterações reflexas para promover respostas ventilatórias compensatórias que buscarão restaurar os níveis de O_2 e CO_2 arteriais em valores adequados.

Controle da respiração em condições de hipóxia

O O_2 é uma molécula fundamental para a sobrevivência e funcionamento da maioria das formas de vida na Terra. Em animais terrestres, o O_2 é extraído do ar atmosférico e entregue às células para processos de produção de energia e outras reações bioquímicas, como síntese de moléculas e desintoxicação. Nos mamíferos, os níveis de O_2 no corpo devem ser mantidos dentro de uma faixa que atenda a todas as necessidades metabólicas exigidas e apoie adequadamente a atividade celular. A redução dos níveis fisiológicos de O_2 no sangue arterial pode ter consequências negativas a curto e longo prazo para o metabolismo celular, especialmente em tecidos com alta vulnerabilidade devido à elevada demanda metabólica e à ausência de reservas de energia, como o sistema nervoso central (SNC) (Falchetto et al, 2018). Alguns dos principais efeitos induzidos pela hipóxia no nível celular incluem redução da produção de ATP, interrupção do metabolismo da glicose e dos ácidos graxos, formação de espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*), comprometimento da síntese proteica e comprometimento da atividade celular, o que pode levar a danos nos tecidos, disfunção orgânica e até morte celular (Bailey et al, D.M et al, 2019). Assim, a presença de mecanismos sensoriais que monitorem, continuamente, os níveis de O_2 no sangue e tecidos deflagram respostas reflexas compensatórias em situação de reduzida disponibilidade de O_2 , são essenciais para a manutenção da vida.

Os mamíferos podem vivenciar a falta de oxigênio (ou hipóxia) em diversas situações fisiológicas ou patológicas. Por exemplo, indivíduos que se deslocam para regiões localizadas em altas altitudes estão expostos a um ambiente com diminuída disponibilidade de O_2 devido a redução da pressão barométrica em relação ao nível do mar, reduzindo, assim, a pressão parcial de O_2 no ar inspirado e, conseqüentemente, no sangue arterial. Nessas condições, a redução na pressão parcial de O_2 arterial (PaO_2) pode causar, dependendo da altitude, sintomas de falta de ar (dispneia), taquicardia, insônia, fadiga muscular, dores de cabeça, tonturas, dificuldades para respirar, mudanças de personalidade e, em casos graves, edema pulmonar, desbalanço autonômico e morte súbita (Dutschmann et al, 2014).

Nesses casos, observa-se também uma resposta de hiperventilação, acarretando uma redução do CO_2 sanguíneo. Em situações patológicas, situações de hipóxia podem ser observadas em pacientes com distúrbios respiratórios relacionados ao sono ou doenças

pulmonares obstrutivas, impedindo a renovação do ar nos alvéolos pulmonares. Dentre essas patologias respiratórias associadas ao sono, podemos citar a apneia obstrutiva do sono (**Figura 2A**), cujos pacientes apresentam interrupções de fluxo de ar para os pulmões durante o sono devido ao colapamento das vias aéreas superiores, mais especificamente as paredes da faringe (Mackem, et al 1971). Dentre os fatores que causam a obstrução das vias aéreas e, conseqüentemente, períodos de apneia/hipopneia, estão a obesidade, disfunções neuromusculares e doenças neurodegenerativas (Giordano, et al 2005; Ernst, et al 2004).

Outra patologia importante associada à exposição à hipóxia é a insuficiência cardíaca, a qual, quando não tratada adequadamente, pode induzir a um padrão irregular da respiração chamado de Cheyne-Stokes, caracterizado por períodos transientes de apneias/ hipopneias e hiperpneias (**Figura 2B**) (Cherniack et al, 2006). Nessas situações patológicas, além da hipóxia, observa-se um acúmulo de CO₂ no sangue arterial, ou seja, a hipóxia está associada a situação de hipercapnia.

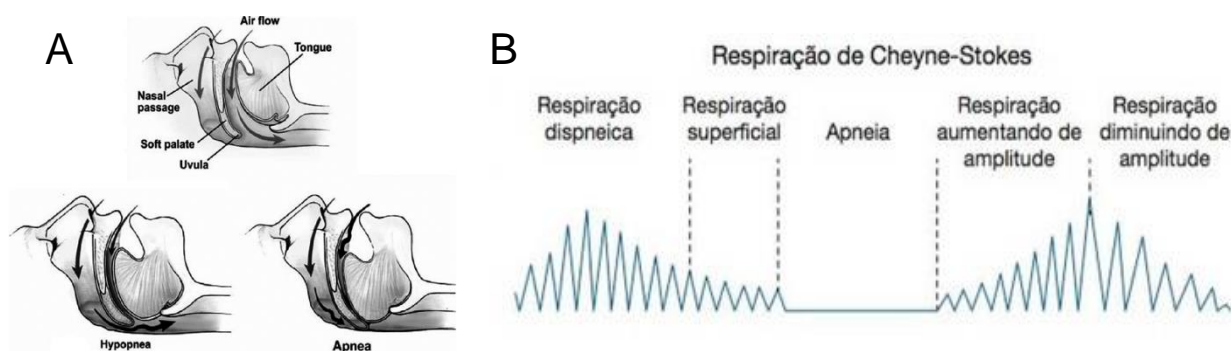


Figura 2 – Painel A: Representação esquemática de uma pessoa deitada respirando normalmente (desenho na parte superior) ou apresentando quadros de hiponeia/apneia (desenhos na parte inferior) decorrentes do colapamento das vias aéreas superiores. Modificado de Baker-Smith et al., JAHA, 2021 (32). **Painel B:** Representação do padrão irregular da respiração em caso de insuficiência cardíaca chamado de Cheyne-Stokes. Modificado de Giannoni et al., Am J Cardiol, 2020.

Em resposta à hipóxia, observa-se uma elevação imediata e compensatória da ventilação pulmonar, com o objetivo de aumentar a captação de O₂ do ar atmosférico para restabelecer a homeostase sanguínea. Vale acrescentar que além do sistema respiratório, outros sistemas fisiológicos, como os sistemas cardiovascular, endócrino, renal e algumas funções cerebrais, são também modificadas com o objetivo de promover respostas integradas que garantam a entrega de O₂ para todas as células do organismo (Zoccal et al., 2024). A resposta

ventilatória à hipóxia é rapidamente deflagrada pela ativação de sensores periféricos que monitoram, continuamente, a PaO_2 . Esses sensores, denominados de “quimiorreceptores periféricos”, são células neurosecretoras que aumentam sua atividade em condições de hipoxemia (diminuição da PaO_2), causando a liberação de neurotransmissores que ativam terminações sensoriais que ascendem até o sistema nervoso central.

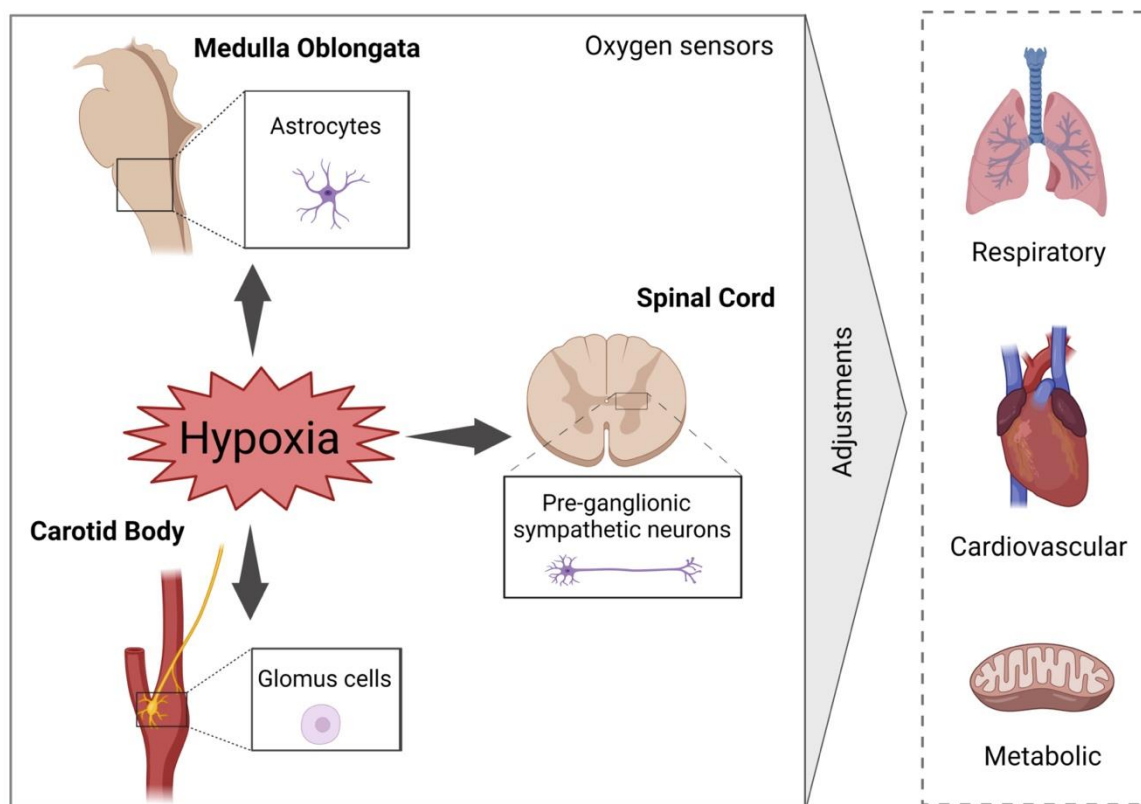


Figura 3 - Detecção de hipóxia no corpo e as respostas compensatórias sistêmicas. Desenho esquemático ilustrando os locais sensíveis ao O_2 dos mamíferos na periferia e no SNC. As células que são excitadas durante a hipóxia foram caracterizadas nos corpúsculos carotídeos (células glômicas), tronco cerebral (astrócitos no bulbo ventrolateral) e medula espinhal (neurônios simpáticos pré-ganglionares da coluna intermediolateral). A estimulação destas células durante a baixa disponibilidade de O_2 desencadeia ajustes nas redes cerebrais que controlam as atividades respiratórias e autonômicas que, por sua vez, provocam respostas compensatórias ventilatórias, cardiovasculares e metabólicas. Retirado de Zoccal et al., 2024.

As principais células sensíveis ao O_2 estão localizadas bilateralmente na bifurcação das artérias carótidas, em órgãos denominados de corpúsculos carotídeos (CBs, *carotid bodies*), conforme ilustra a **Figura 3** (Zoccal et al., 2024). Além do O_2 , as células dos CBs possuem propriedades sensoriais que permitem a deflagração de respostas excitatórias frente a outros estímulos, como sobrecarga de sal, dióxido de carbono/acidose elevada e aumento da concentração plasmática de insulina, ou leptina, angiotensina II e mediadores pró-inflamatórios (Lahiri et al, 1978; da Silva et al., 2019; Shin et al., 2019; Melo et al., 2020; Katayama et al.,

2022; Baby et al., 2023). Os CBs são altamente vascularizados e possuem terminais nervosos aferentes e eferentes para dois grupos de células, sendo um tipo, as células glômicas, o seu elemento sensorial, contendo canais para potássio sensíveis à redução do O₂, o outro grupo de células são chamadas do tipo II, não excitáveis, no entanto, possuem papel estrutural e servem como precursoras das células glômicas (Lopez-Barneo et al., 1988).

Evidências indicam que, na célula glômica, o complexo mitocondrial I é inibido em condições de hipóxia, levando a uma incompleta transferência de elétrons pela cadeia de transporte de elétrons e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) e NADH (Fernandez-Aguera et al., 2015; Arias-Mayenco et al., 2018). Outros estudos sugerem que a inibição ocorre no complexo IV, suprimindo também a cadeia de elétrons, por conta da sua elevada sensibilidade O₂ (Timon-Gomez et al., 2022). Independente de qual seja a via, a inibição dos complexos mitocondriais e formação de ROS nas células glômicas parece ser um importante mecanismo que causa a inibição de canais para K⁺, causando, conseqüentemente, despolarização da membrana, ativação de canais para Ca²⁺ voltagem dependente e liberação de neurotransmissores, tais como a acetilcolina e ATP (Telezhkin et al., 2010; Cabello-Rivera et al., 2022; Timon, Gomez et al., 2022).

Com a rápida estimulação da célula glômica pela hipóxia, e o conseqüente aumento da atividade do nervo do seio carotídeo, sinais excitatórios são transmitidos aos neurônios do trato solitário (NTS) – importante núcleo neuronal da região dorsal do bulbo, responsável por receber aferências sensoriais periféricas (Zoccal et al., 2014). As informações sensoriais do CB, após serem processadas pelos neurônios do NTS, são enviadas para outras regiões do tronco cerebral, mesencéfalo e prosencéfalo, responsáveis por regular a atividade respiratória, incluindo o pré-BötC (Takakura et al., 2006; Alheid et al., 2011; Song et al., 2011; Lopes et al., 2016; Barnett et al., 2017; Biancardi et al., 2021). As informações do NTS também chegam em regiões que controlam a atividade simpática e parassimpática, ciclo sono-vigília e funções neuroendócrinas (Aicher et al., 1996; King et al., 2012; Taxini et al., 2017).

Além dos CBs, evidências recentes demonstram que o SNC, especialmente na superfície ventral do bulbo e na coluna intermédia lateral da medula espinhal, possuem células (astrócitos, neurônios pré-simpáticos e neurônios pré-ganglionares, **Figura 3**) capazes de detectar redução na disponibilidade do O₂ no tecido cerebral e promover respostas de aumento

na ventilação e atividade simpática (Reis et al., 1994; Angelova et al., 2015; Barioni et al., 2022).

Quando a hipóxia é combinada com acúmulo de CO₂, a ativação dos quimiorreceptores periféricos ocorre de forma simultânea com a estimulação de células nervosas (neurônios e astrócitos) sensíveis à variação de CO₂/pH no parênquima cerebral. Essas células, coletivamente denominadas de “quimiorreceptores centrais”, estão presentes em núcleos do tronco encefálico, com o locus coeruleus, raphe e núcleo retrotrapezóide, e, quando ativadas em situações de hipercapnia, deflagram respostas reflexas de aumento da atividade motora inspiratória, expiração ativa e ajustes cardiovasculares (Guyenet et al., 2010; Wang et al., 2013; Leirão et al., 2021).

A resposta ventilatória a hipóxia, chamada de HVR (de *hypoxic ventilatory response*), é ocasionada pelo aumento da atividade motora para os músculos inspiratórios, como intercostais externos, diafragma e dilatadores das vias aéreas superiores, que promovem o aumento da frequência respiratória e do volume de ar inspirado (Morris et al, 1996; Rajani et al, 2018). Em consonância com a atividade inspiratória, a exposição à hipóxia transforma a expiração em um processo ativo, levando a contrações dos músculos abdominais (Lemes; Zoccal, 2014), com o suposto objetivo de impulsionar o fluxo de ar expirado (Jenkin; Milsom, 2014). O recrutamento da atividade expiratória está associado à ativação de um oscilador expiratório presente na porção ventral do bulbo, rostral ao pré-BötC, em uma região chamada grupo respiratório parafacial lateral (pFL) (Abdala et al., 2009; Moraes et al., 2012) .

Sobre o controle da atividade motora expiratória durante a hipóxia, muito do que sabemos hoje foi obtido a partir de registros da atividade abdominal. As evidências sobre o aumento da atividade abdominal nessas situações de alta demanda metabólica foram obtidas após manipulações farmacológicas no oscilador expiratório (pFL) ou em modelos experimentais reduzidos (*in situ*) (Abdala et al., 2009; Moraes *et al.*, 2012), com foco apenas para a atividade motora destinada para os músculos abdominais. No entanto, **as repercussões da expiração ativa sobre a ventilação pulmonar durante estímulos fisiológicos e em condições *in vivo* (onde o sistema respiratório encontra-se intacto) ainda são incertas. Também é desconhecida a forma como os diferentes músculos expiratórios (abdominais e intercostais internos) são coordenados para gerar modificações no fluxo expiratório.** Tais informações são essenciais para compreendermos como nosso organismo é capaz de gerar

respostas ventilatórias compensatórias à estímulos que colocam nossa vida em risco, como situações de baixa disponibilidade de O₂.

Do ponto de vista temporal, a exposição à hipóxia pode ser curta (segundos a poucos minutos) ou prolongada (vários minutos a vários dias). Nesse sentido, o aumento da ventilação

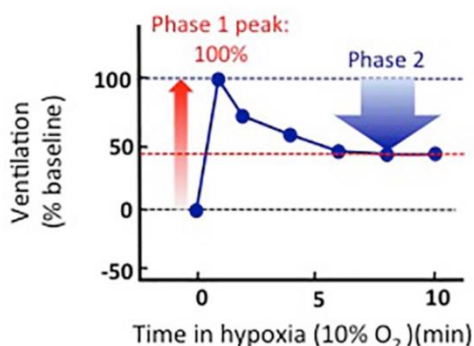


Figura 4 - Representação esquemática ilustrando o padrão de aumento da ventilação pulmonar em resposta à hipóxia. Retirado de Reklow et al., 2019.

pulmonar será, em um primeiro momento, inversamente proporcional à diminuição da PaO₂. Contudo, se estímulo hipóxico for prolongado, vemos que a resposta inicial aguda é seguida por uma depressão secundária, no qual o aumento da ventilação pulmonar atinge um novo patamar abaixo do aumento inicial (**Figura 4**) (Powell *et al.*, 1998). A fase depressora da resposta ventilatória à hipóxia é gerada pelo acúmulo de transmissores inibitórios (p. ex., adenosina) em regiões respiratórias, especialmente no

oscilador inspiratório (pré-BötC) (Reklow *et al.*, 2019). Essas duas fases é o que chamamos de resposta bifásica, esse segundo estado de depressão é atribuído a excitabilidade neuronal reduzida que é induzida por esse estímulo (Martin et al, 1994). Outro fator que contribui para determinar o nível da resposta ventilatória à hipóxia durante a segunda fase é a redução da taxa metabólica, por conta da supressão a termogênese (Saiki et al, 1994).

Estudos mostram que a fase depressora da HVR é decorrente, principalmente, de reduções na frequência respiratória, já que a amplitude da atividade motora diafragmática não sofre alterações significativas (Powell *et al.*, 1998). Em relação à atividade motora expiratória, **não há estudos mostrando a expressão da expiração ativa nas diferentes fases da resposta ventilatória à hipóxia (fase inicial vs fase depressora secundária), e qual a repercussão da expiração sobre o volume corrente, frequência respiratória e padrão do fluxo de ar.** O entendimento dos ajustes motores respiratórios durante a exposição à hipóxia ampliará nosso conhecimento sobre o funcionamento da rede neural e o comportamento do sistema respiratório frente a um estímulo vigoroso que, se não compensando, pode levar à morte.

Hipótese

Diante das informações apresentadas, no presente estudo consideramos a hipótese de que o padrão de expiração ativa consiste no recrutamento sincronizado dos músculos

intercostais internos e abdominais durante a hipóxia, hipercapnia e durante a isquemia (hipóxia + hipercapnia), levando a modificações no fluxo expiratório. Além disso, durante condições de redução do O_2 , consideramos que esse recrutamento ocorre, principalmente, durante a segunda fase da resposta ventilatória à hipóxia (fase depressora), como um mecanismo para aumentar o volume corrente e compensar a atenuação na frequência respiratória. Para explorarmos essa possibilidade, realizamos registros simultâneos da atividade elétrica dos músculos inspiratórios e expiratórios e do fluxo de ar durante a exposição a episódios de hipóxia em animais anestesiados. Em adição, comparamos o padrão motor da resposta ventilatória à hipóxia ao padrão observado na resposta ventilatória a hipercapnia e isquemia, sendo esta última uma condição onde níveis reduzidos de O_2 ocorrem juntos com níveis elevados de CO_2 .

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, simultaneamente, o padrão da atividade elétrica dos músculos diafragma, abdominal e intercostal interno e externo, e do fluxo de ar durante a exposição à hipóxia e isquemia em ratos anestesiados. Dessa forma, buscamos entender a influência do recrutamento e coordenação desses músculos no controle do fluxo de ar e ventilação pulmonar.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados ratos Holtzman, pesando entre 250g-300g, obtidos do Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr), Universidade Estadual Paulista (UNESP), mantidos no Biotério Setorial do Laboratório de Fisiologia da FOAr/UNESP até o momento dos experimentos. Os animais foram alojados em caixas coletivas com água e ração *ad libitum*, e mantidos em salas com controle de temperatura (22 ± 1 °C), umidade (55 ± 5 %) e ciclo claro-escuro (12 h, luzes acesas às 7:00 am). Todos os protocolos foram realizados no ciclo claro. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da FOAr/UNESP (nº 17/2020). Todas as medidas foram tomadas para evitar a dor e o sofrimento dos animais e minimizar o número de animais utilizados.

3.2. Anestesia

Todos os procedimentos, incluindo a coleta dos dados, foram realizados em animais anestesiados. Inicialmente, os animais foram anestesiados com isoflurano (via inalatória: 5% em ar ambiente para indução, e 2,5% em ar ambiente para manutenção). Após anestesiados, os animais foram transferidos para uma mesa cirúrgica aquecida, e posicionados em decúbito dorsal para início dos procedimentos cirúrgicos. Após, um cateter acoplado a uma agulha de insulina (31 G) foi inserido na veia caudal do animal para a administração do anestésico uretano (1,2 – 1,5 g/kg). Esse anestésico foi lentamente injetado, concomitante a retirada gradativa do anestésico inalatório. Durante todo o processo, o nível de anestesia foi monitorado, por meio da avaliação da ausência do reflexo de retirada da pata e reflexo corneal. Após a completa troca dos anestésicos, deu-se o início dos procedimentos cirúrgicos. Quando necessário, uma dose suplementar de uretano (10-20% da dose inicial) foi administrada para garantir o plano de anestesia. A escolha pelo anestésico uretano se deu pelo fato deste apresenta menor efeito adverso e é depressor sobre o sistema respiratório, quando comparado a outros anestésicos (Lemos, V, de A et al 2009) Após a indução da anestesia com uretano, e durante todo o protocolo experimental, os animais receberam oxigênio (100% O₂), por meio de uma máscara posicionada no focinho, para garantir adequada oxigenação dos animais. O modelo anestesiado foi escolhido por permitir o registro de múltiplos músculos respiratórios simultaneamente. Tal procedimento seria tecnicamente desafiador em animais não anestesiados. Além disso, o

modelo do animal anestesiado com uretano já se encontra bem descrito na literatura (Lemes e Zoccal, 2014), reproduzindo o perfil das respostas cardiorrespiratórias já documentadas em animais não anestesiados.

3.3 Registros eletromiográficos dos músculos respiratórios e do fluxo de ar

Os procedimentos para registros eletromiográficos foram realizados conforme descrito anteriormente (Lemes e Zoccal, 2014). Foram feitas três incisões nos animais. A primeira delas foi realizada para expor a região da musculatura abdominal esquerda, permitindo o

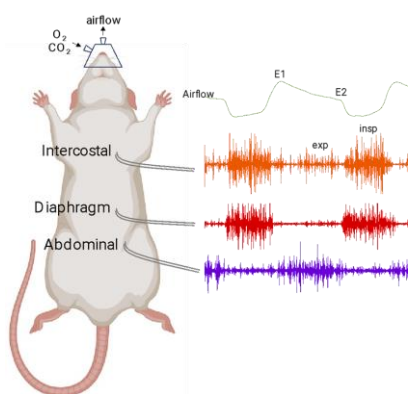


Figura 5 - Esquema ilustrando o posicionamento de eletrodos e registros elétricos da atividade dos músculos diafragma, abdominal e intercostais, e da máscara facial que permitiu a administração de misturas gasosas e o registro do fluxo de ar em animais anestesiados.

posicionamento de um par de eletrodos de aço, com a superfície de contato entre os músculos abdominais (oblíquo externo e interno, ABD) para registro da atividade motora expiratória (**Figura 5**). Em seguida, foi realizada outra incisão no lado direito do animal, na porção superior da cavidade abdominal, logo abaixo da porção central do gradil costal, para o posicionamento de outro par de eletrodos no diafragma (DIA, atividade inspiratória, **Figura 5**). Por fim, foi realizada uma incisão na porção média da caixa torácica, do lado direito, para a inserção de um terceiro par de eletrodos entre as costelas, em contato com os músculos intercostais externo (eIC, inspiratório) e interno (iIC).

Por se tratar de músculos muito próximos, o eIC e iIC foram registrados simultaneamente (**Figura 5**). Além do registro da atividade muscular, uma máscara foi posicionada no focinho do animal, a qual estava acoplada a um transdutor diferencial de pressão (Spirometer, ADInstruments, Australia), permitindo o monitoramento do padrão de fluxo de ar nasal (**Figura 5**).

Os sinais eletromiográficos foram filtrados (500-2000 Hz), amplificados (BioAmplificador, Insight, Brasil), digitalizados (PowerLab, ADInstruments, Austrália) e adquiridos em um computador (frequência amostragem: 4 KHz; LabChart, ADInstruments). A atividade de cada músculo foi avaliada por meio da análise da amplitude dos sinais, e alterações foram expressas em variações percentuais em relação à atividade em repouso. A partir da atividade do DIA e eIC, avaliamos o padrão de atividade motora inspiratória, enquanto a partir

do ABD e iIC avaliamos o padrão motor expiratório. A frequência respiratória foi calculada a partir do intervalo de tempo entre sucessivos *bursts* do DIA, e os valores foram expressos como ciclos por minuto. Os sinais do fluxo foram obtidos simultaneamente aos sinais de eletromiografia, utilizando o mesmo sistema de aquisição. Para avaliarmos alterações no fluxo expiratório, consideramos a razão entre os picos dos fluxos durante a fase E1 e E2, a qual chamamos de razão E2/E1. Assim, aumentos na razão E2/E1 indicam que há um aumento do fluxo durante a fase final da expiração, ao passo que reduções indicam um aumento do fluxo expiratório durante a fase inicial da expiração.

3.4. Protocolo experimental

Após os procedimentos cirúrgicos e posicionamento da máscara facial, foi aguardado um período de aproximadamente 15-20 min para estabilização dos animais e dos registros elétricos. Durante esse período, o animal recebeu 100% O₂ pela máscara facial. Ao final desse período, foi iniciado o registro das atividades musculares e do fluxo de ar em repouso, o qual teve duração de 10-15 min. Na sequência, os animais foram submetidos às seguintes condições: hipóxia 10% O₂, hipóxia 7% O₂ e isquemia 10% O₂ e 7% CO₂ – todas as misturas com balanço com nitrogênio (N₂). A duração de cada estímulo foi de 10 min, com intervalo de, pelo menos, 15 min entre estímulos consecutivos. As misturas gasosas foram obtidas utilizando um misturador de gases (AVS Projetos, São Carlos, Brasil) conectado a cilindros de O₂, CO₂ e N₂. Ao final dos experimentos, os animais foram sacrificados com uma sobredose de anestésico.

Em outro grupo experimental, sob as mesmas condições descritas acima, os animais, após o registro basal, foram expostos a hipercapnia: 10% de CO₂, 7% de CO₂ e por fim a isquemia 10% de O₂ e 7% de CO₂, sendo que todos os estímulos foram equilibrados com 21% O₂ e balanço com N₂. Cada estímulo durou 10 minutos, havendo intervalos de recuperação (em 100% de O₂) de pelo menos 15 min entre estímulos consecutivos.

3.5. Análise dos dados e estatística

As respostas à hipóxia e hipercapnia foram avaliadas temporalmente e os dados apresentados a cada 2 min. Os resultados numéricos são apresentados e analisados como média \pm desvio padrão e graficamente representados como média \pm erro padrão. Após a análise da distribuição normal, utilizando o teste de Shapiro-Wilk, os dados foram comparados utilizando a análise de variância para medidas repetidas (*one-way* ANOVA) seguido do pós-teste de

Bonferroni, para dados paramétricos, ou por meio do teste de Friedman, para dados não paramétricos. As operações gráficas e estatísticas foram feitas utilizando o software Prism (versão 8, GraphPad, EUA). O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Resposta ventilatória a hipóxia

Em condições de repouso ($n=7$), o DIA e o eIC apresentaram atividades sincronizadas durante a fase inspiratória, ao passo que o ABD e o iIC não apresentaram atividade expressiva. O fluxo de ar expiratório apresentou um pico durante a primeira fase de expiração (E1). Este padrão em repouso pode ser visualizado na **Figura 6**.

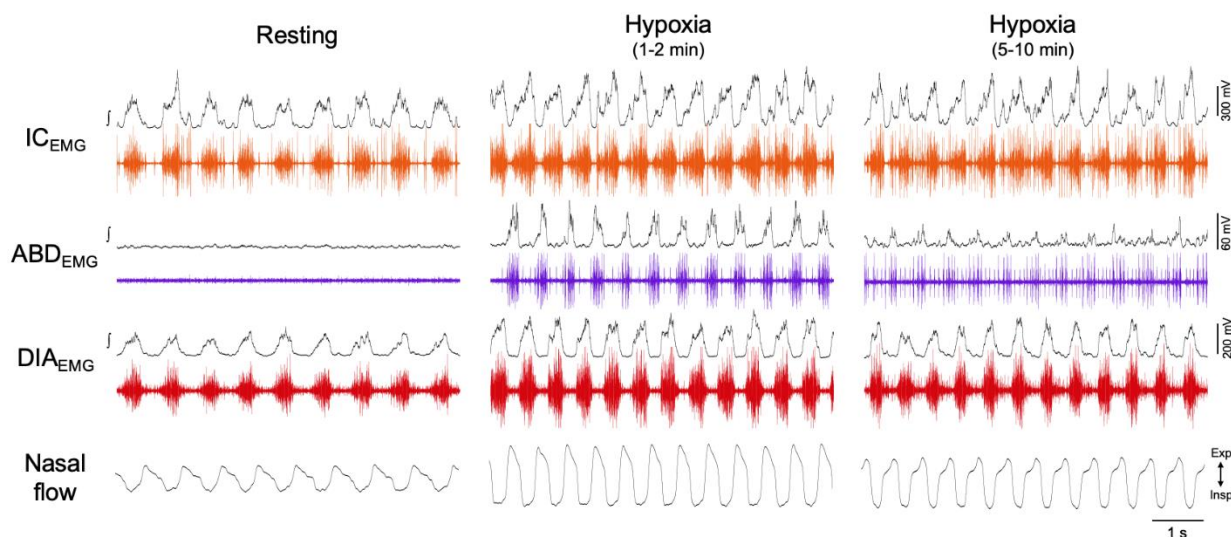


Figura 6 – Registros originais e integrados (\int) da atividade elétrica dos músculos intercostal (IC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA) junto com o fluxo de ar nasal, em um animal anestesiado com uretano, representativo do grupo, ilustrado o padrão motor respiratório em condições de repouso (*resting*) e durante os momentos iniciais (1-2) e finais (5-10) durante a exposição à hipóxia (*hypoxia*).

A exposição à hipóxia de 10% (**Figura 7**) e 7% (**Figuras 6 e 8**) causou: 1) aumento inicial na frequência respiratória, seguido de uma depressão, 2) elevação persistente das amplitudes das atividades inspiratórias DIA e eIC; 3) aumento da amplitude da atividade expiratória ABD e iIC, o qual foi mais expressivo na primeira metade do período de exposição. Essas alterações motoras estavam associadas a uma modificação do padrão do fluxo expiratório, o qual apresentou uma elevação progressiva do pico durante o segundo estágio (E2), especialmente a partir do 4º minuto de exposição. Os valores de alteração percentual dos parâmetros avaliados estão demonstrados nas **Tabelas 1 e 2**.

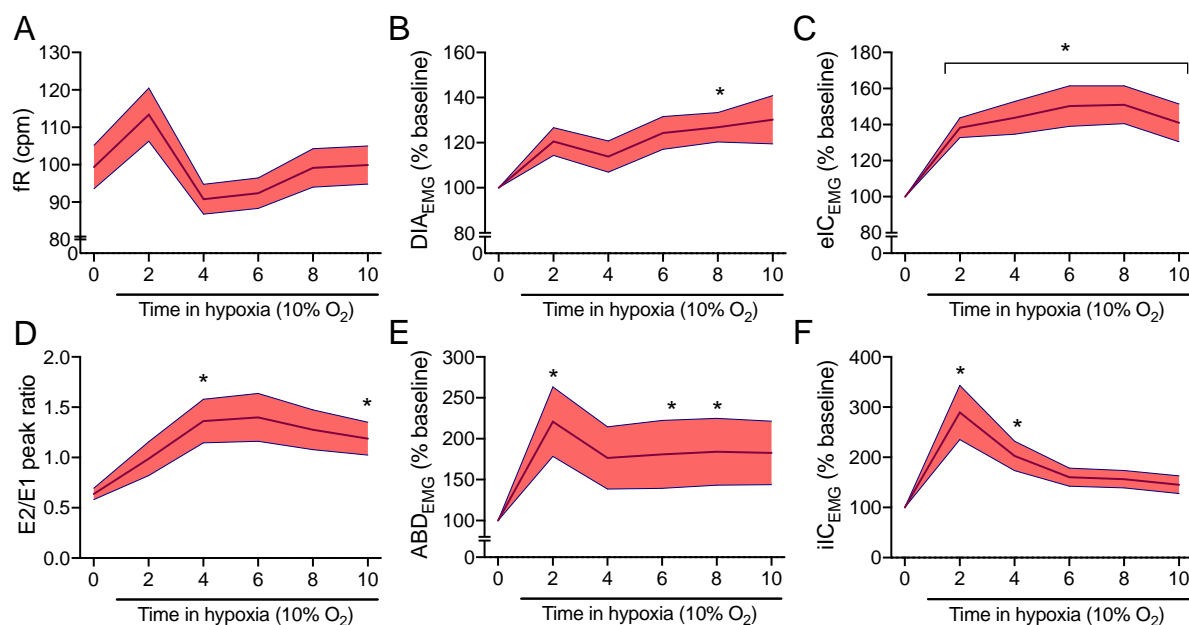


Figura 7. Valores das alterações percentuais na frequência respiratória (fR, A), amplitudes das atividades dos músculos diafragma (DIA, B), intercostal externo (eIC, C), abdominal (ABD, E) e intercostal interno (iIC, F), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal (D) de ratos anestesiados (n=7) expostos a hipóxia (10% O₂) por 10 minutos. A linha central representa os valores médios e a área ao redor representa o erro padrão. * diferente em relação ao tempo 0 (repouso); P<0,05.

Tabela 1. Valores médios \pm desvio padrão da frequência respiratória (fR), amplitudes das atividades dos músculos intercostais (interno e externo, iIC e eIC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal de animais (n=7) expostos à hipóxia (10% O₂, 10 min). * - diferente em relação ao tempo 0 (repouso), P<0,05.

Tempo (min)	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
0	99 \pm 16	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	0.64 \pm 0.16
2	113 \pm 20	289 \pm 143*	138 \pm 15*	221 \pm 113*	120 \pm 15	0.98 \pm 0.48
4	91 \pm 11	203 \pm 77*	144 \pm 24*	177 \pm 100	114 \pm 17	1.36 \pm 0.61*
6	92 \pm 11	160 \pm 48	147 \pm 36*	181 \pm 110*	124 \pm 18	1.4 \pm 0.68
8	99 \pm 14	157 \pm 46	151 \pm 28*	184 \pm 108*	127 \pm 16*	1.27 \pm 0.56
10	100 \pm 14	145 \pm 47	141 \pm 28*	183 \pm 103	130 \pm 26	1.18 \pm 0.46

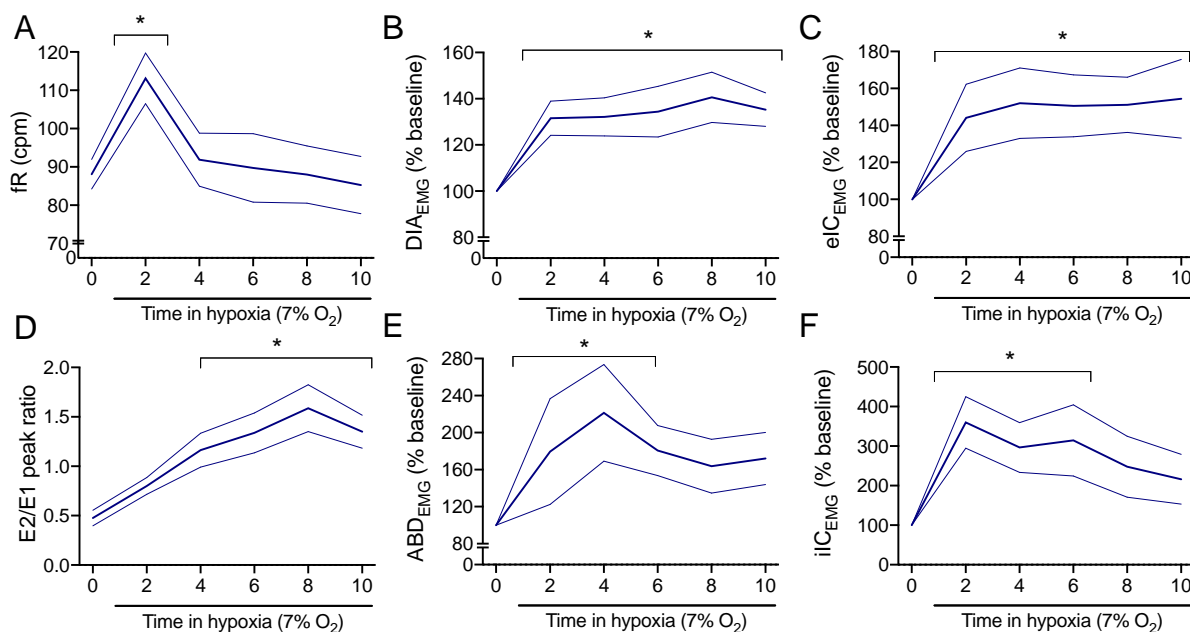


Figura 8. Valores das alterações percentuais na frequência respiratória (fR, A), amplitudes das atividades dos músculos diafragma (DIA, B), intercostal externo (eIC, C), abdominal (ABD, E) e intercostal interno (iIC, F), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal (D) de ratos anestesiados (n=7) expostos a hipóxia (7% O₂) por 10 minutos. A linha central representa os valores médios e a área ao redor representa o erro padrão. * diferente em relação ao tempo 0 (repouso); P<0,05.

Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão da frequência respiratória (fR), amplitudes das atividades dos músculos intercostais (interno e externo, iIC e eIC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal de animais (n=7) expostos à hipóxia (7% O₂, 10 min). * - diferente em relação ao tempo 0 (repouso), P<0,05.

Tempo (min)	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
0	88 \pm 11	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	0.47 \pm 0.22
2	113 \pm 19*	360 \pm 172*	144 \pm 48*	177 \pm 151*	132 \pm 20*	0.80 \pm 0.25
4	92 \pm 19	296 \pm 167*	152 \pm 50*	221 \pm 138*	132 \pm 22*	1.16 \pm 0.48*
6	90 \pm 25	314 \pm 238*	151 \pm 44	181 \pm 71*	134 \pm 29*	1.34 \pm 0.57*
8	88 \pm 21	247 \pm 204	151 \pm 39	164 \pm 77	141 \pm 29*	1.7 \pm 0.72*
10	85 \pm 21	216 \pm 166	154 \pm 56*	172 \pm 74	135 \pm 19*	1.35 \pm 0.47*

4.2. Resposta ventilatória à hipercapnia

Em condições de repouso (n=8), o DIA e o eIC apresentaram atividades sincronizadas durante a fase inspiratória, ao passo que o ABD e o iIC não apresentaram atividade expressiva. O fluxo de ar expiratório apresentou um pico durante a primeira fase de expiração (E1). Este padrão em repouso pode ser visualizado na **Figura 9**.

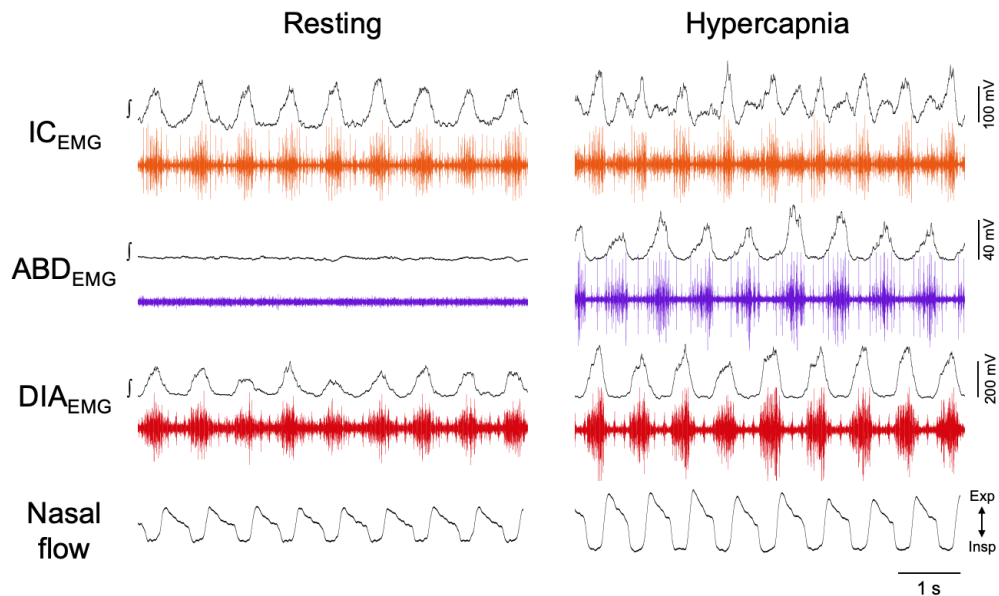


Figura 9 – Registros originais e integrados (∫) da atividade elétrica dos músculos intercostal (IC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA) junto com o fluxo de ar nasal, em um animal anestesiado com uretano, representativo do grupo, ilustrado o padrão motor respiratório em condições de repouso (*resting*) e durante a exposição à hipercapnia (*hypercapnia*).

A exposição à hipercapnia de 10% (**figura 10**) e 7% (**Figuras 9 e 11**) causou: 1) aumento final na frequência respiratória nos minutos finais de exposição; 2) elevação persistente das amplitudes das atividades inspiratórias DIA e eIC; 3) aumento da amplitude da atividade expiratória ABD e iIC, o qual foi mais expressivo após a metade do período de exposição. Essas alterações motoras não levaram a modificações do padrão do fluxo expiratório e podem ser observadas na **Figura 9**. Os valores médios estão demonstrados nas **Tabelas 3 e 4**.

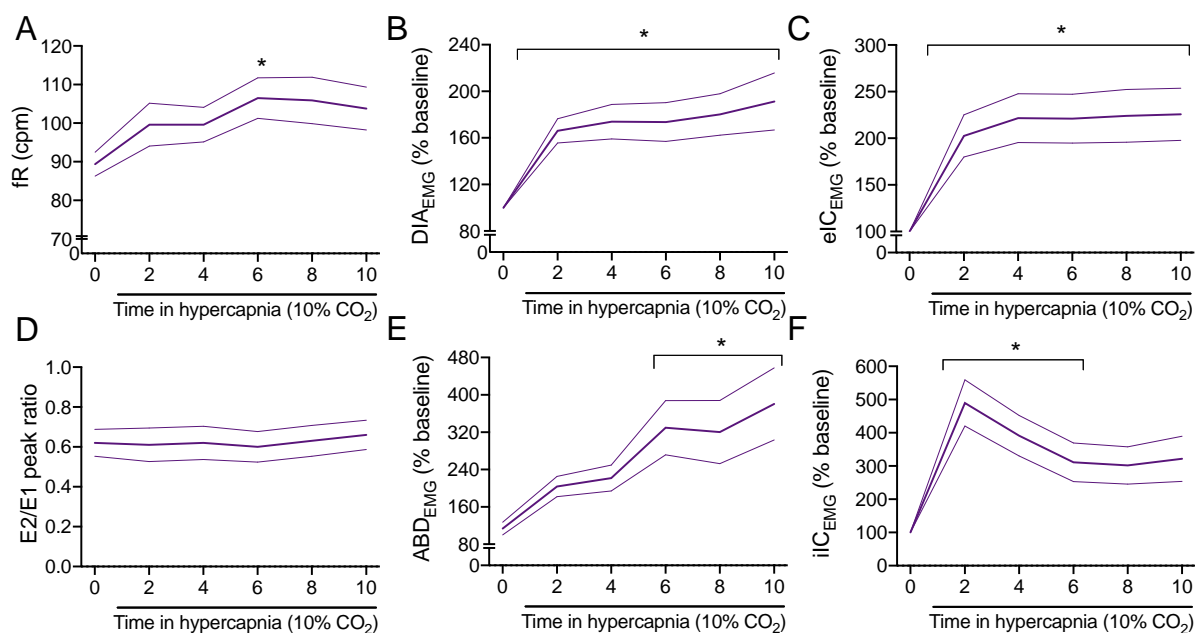


Figura 10 – Valores das alterações percentuais na frequência respiratória (fR, A), amplitudes das atividades dos músculos diafragma (DIA, B), intercostal externo (eIC, C), abdominal (ABD, E) e intercostal interno (iIC, F), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal (D) de ratos anestesiados (n=8) expostos à hipercapnia (10% CO₂) por 10 minutos. A linha central representa os valores médios e a área ao redor representa o erro padrão. * diferente em relação ao tempo 0 (repouso); P<0,05.

Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão da frequência respiratória (fR), amplitudes das atividades dos músculos intercostais (interno e externo, iIC e eIC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal de animais (n=7) expostos à hipóxia (10% CO₂, 10 min). * - diferente em relação ao tempo 0 (repouso), P<0,05.

Tempo (min)	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
0	89 \pm 9.8	100 \pm 0	100 \pm 0	114 \pm 30	100 \pm 0	0.62 \pm 0.21
2	99 \pm 18	490 \pm 170*	203 \pm 68*	204 \pm 48	166 \pm 29*	0.61 \pm 0.27
4	99 \pm 14	391 \pm 149*	222 \pm 78*	222 \pm 62	174 \pm 42*	0.62 \pm 0.27
6	106 \pm 16*	311 \pm 142*	221 \pm 79*	330 \pm 130*	174 \pm 47*	0.60 \pm 0.24
8	106 \pm 19	302 \pm 137	224 \pm 85*	320 \pm 151*	180 \pm 50*	0.63 \pm 0.24
10	104 \pm 17	322 \pm 167	226 \pm 84*	381 \pm 173*	191 \pm 69*	0.66 \pm 0.23

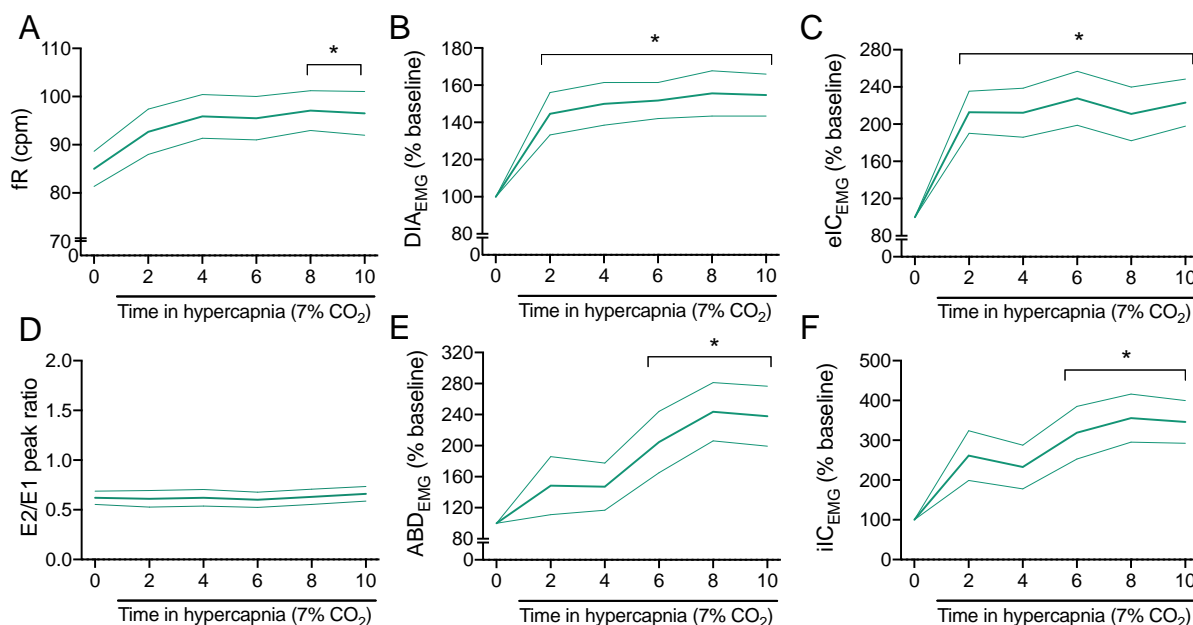


Figura 11 – Valores das alterações percentuais na frequência respiratória (fR, A), amplitudes das atividades dos músculos diafragma (DIA, B), intercostal externo (eIC, C), abdominal (ABD, E) e intercostal interno (iIC, F), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal (D) de ratos anestesiados (n=8) expostos à hipercapnia (7% CO₂) por 10 minutos. A linha central representa os valores médios e a área ao redor representa o erro padrão. * diferente em relação ao tempo 0 (repouso); P<0,05.

Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) da frequência respiratórias, amplitudes das atividades dos músculos intercostais (interno e externo, iIC e eIC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA), e da razão E2/E1 do fluxo nasal de animais (n=8) expostos à hipercapnia (7% CO₂, 10 min). * - diferente em relação ao tempo 0 (repouso), P<0,05.

Tempo (min)	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
0	85 \pm 12	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	0.59 \pm 0.22
2	93 \pm 15	261 \pm 166	213 \pm 68*	148 \pm 92	145 \pm 34*	0.60 \pm 0.25
4	96 \pm 15	233 \pm 146	212 \pm 79*	147 \pm 74	150 \pm 35*	0.64 \pm 0.23
6	96 \pm 14	319 \pm 176*	228 \pm 87*	204 \pm 97*	156 \pm 37*	0.60 \pm 0.23
8	97 \pm 13*	356 \pm 161*	211 \pm 87*	244 \pm 91*	156 \pm 37*	0.62 \pm 0.24
10	96 \pm 14*	346 \pm 142*	223 \pm 76*	238 \pm 958	155 \pm 34*	0.64 \pm 0.24

4.3. Resposta ventilatória à isquemia

A exposição à isquemia (10% O₂ + 7% CO₂) realizada depois da exposição a hipóxia e hipercapnia, também promoveu aumentos nas atividades motoras inspiratórias (DIA e eIC) e expiratórias (**Figuras 12 e 13**), sendo que o aumento da atividade expiratória ABD e iIC se mostrou mais duradouro e correndo ao longo de todo o período de exposição. Além disso, a

exposição à isquemia não promoveu alterações significativas na fR e na razão E2/E1 do fluxo de ar, de forma semelhante a hipercapnia, os quais permaneceram semelhantes aos valores basais. Os resultados referentes à resposta à isquemia estão demonstrados na **Tabela 5**.

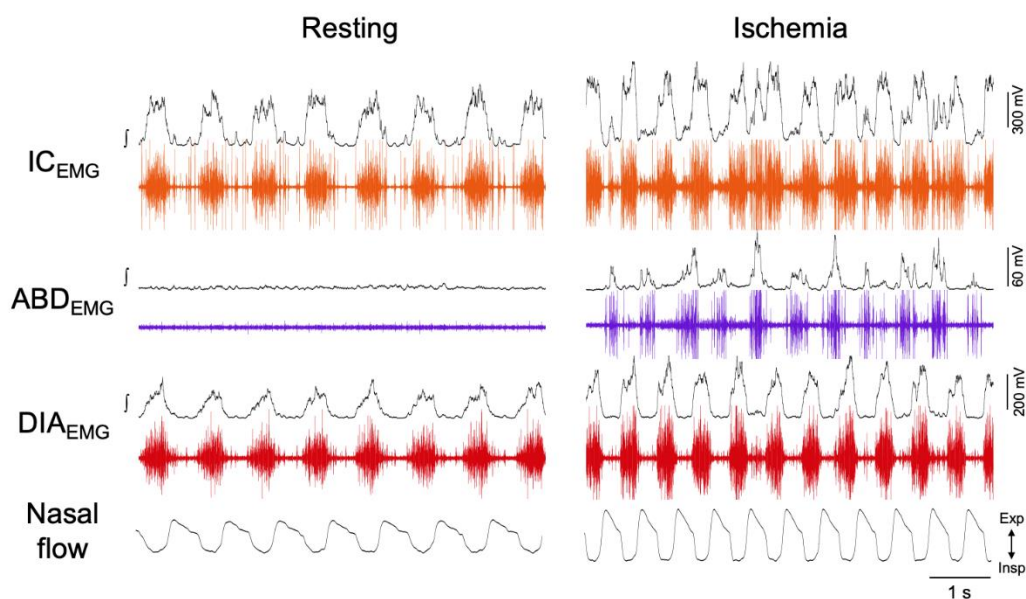


Figura 12. Registros originais e integrados (J) da atividade elétrica dos músculos intercostal (IC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA) junto com o fluxo de ar nasal, em um animal anestesiado com uretano, representativo do grupo, ilustrado o padrão motor respiratório em condições de repouso (*resting*) e durante a exposição à isquemia (*ischemia*).

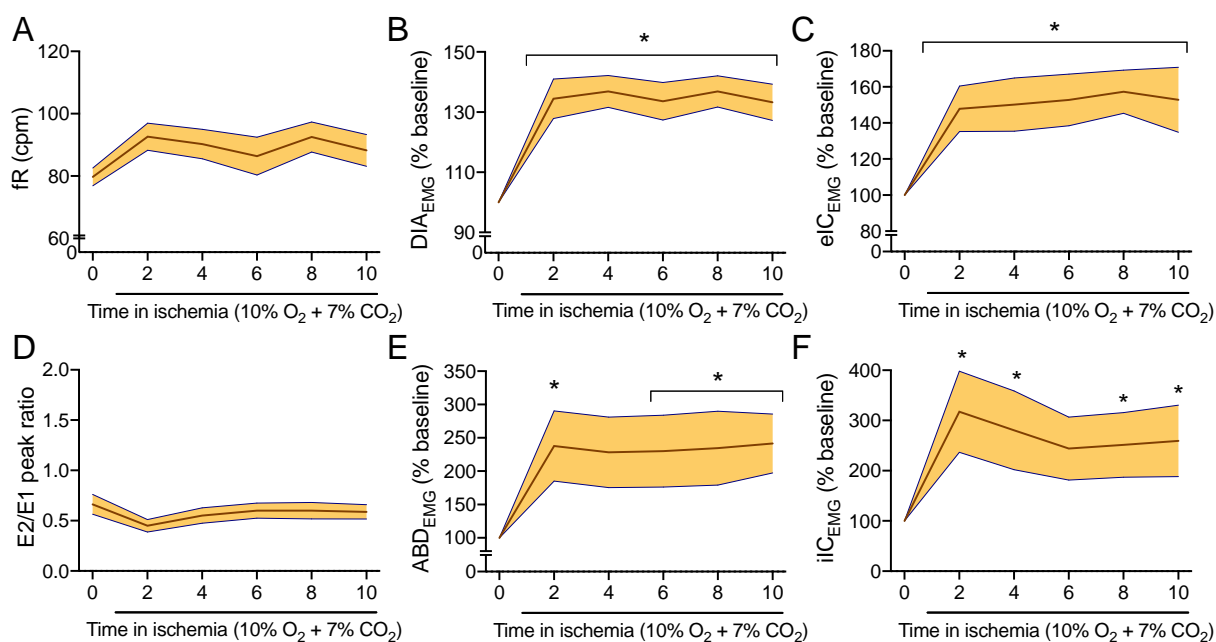


Figura 13. Valores das alterações percentuais na frequência respiratória (fR, A), amplitudes das atividades dos músculos diafragma (DIA, B), intercostal externo (eIC, C), abdominal (ABD, E) e intercostal interno (iIC, F), e da razão dos picos E2/E1 do fluxo nasal (D) de ratos anestesiados (n=7) expostos à isquemia (10% O₂ + 7% CO₂) por 10 minutos. A linha central representa os valores médios e a área ao redor representa o erro padrão. * diferente em relação ao tempo 0 (repouso); P<0,05.

Tabela 5. Valores médios (\pm desvio padrão) da frequência respiratórias, amplitudes das atividades dos músculos intercostais (interno e externo, iIC e eIC), abdominal (ABD) e diafragma (DIA), e da razão E2/E1 do fluxo nasal de animais (n=7) expostos à isquemia (10% O₂ + 7% CO₂, 10 min). * - diferente em relação ao tempo 0 (repouso), P<0,05.

Tempo (min)	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
0	80 \pm 8	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	0.66 \pm 0.28
2	93 \pm 12	317 \pm 213*	148 \pm 34	238 \pm 129*	134 \pm 17*	0.45 \pm 0.18
4	90 \pm 13	280 \pm 207*	150 \pm 39	228 \pm 130	137 \pm 14*	0.55 \pm 0.22
6	86 \pm 17	244 \pm 166	153 \pm 38*	230 \pm 133*	134 \pm 16*	0.60 \pm 0.22
8	92 \pm 14	251 \pm 171*	157 \pm 32*	234 \pm 136*	137 \pm 14*	0.60 \pm 0.23
10	88 \pm 14	259 \pm 188*	153 \pm 48*	241 \pm 108*	133 \pm 16*	0.59 \pm 0.20

5. DISCUSSÃO

Até o presente momento, não há estudos caracterizando a coordenação dos diferentes músculos inspiratórios e expiratórios durante condições prolongadas de hipóxia, hipercapnia e isquemia. Nesse sentido, nosso estudo mostra que, durante situações de hipóxia, há aumentos transitórios mais expressivos nas atividades motoras expiratórias ABD e iIC que acompanham os aumentos iniciais na fR, ao passo que as atividades motoras inspiratórias DIA e eIC apresentaram aumentos sustentados durante todo o período de exposição. Em relação ao fluxo de ar expiratório, notamos que este apresentou mudanças no seu padrão durante a hipóxia, com aumentos na fase E2 nos estágios finais da exposição. Semelhante a hipóxia, a exposição à hipercapnia ou isquemia promoveu aumentos duradouros da atividade motora inspiratória. Por outro lado, o aumento da atividade motora expiratória na hipercapnia foi mais expressivo após a segunda metade do estímulo, porém sustentado durante o período de exposição à isquemia. Ademais, a alteração na fR também foi diferente em relação à hipóxia, sendo maior nos momentos finais de exposição à hipercapnia ou ausentes durante a isquemia. Por fim, a razão E2/E1 do fluxo de ar expiratório não se modificou durante a isquemia e hipercapnia. A **Tabela 6** e a **Figura 14** apresentam um sumário das alterações motoras apresentadas em cada situação. Em conjunto, tais achados mostram que a resposta ventilatória à redução de O₂ ou aumento do CO₂ é associado a padrões distintos de recrutamento dos músculos respiratórios, especialmente dos músculos que modulam o fluxo de ar expiratório.

Tabela 4. Comparação entre respostas motoras e de fluxo de ar durante a exposição à hipóxia, hipercapnia ou isquemia.

	fR	iIC	eIC	ABD	DIA	E2/E1
Repouso	valores basais	Sem / baixa atividade expiratória	atividade inspiratória sincronizada com o DIA	sem / baixa atividade expiratória	atividade inspiratória sincronizada com o eIC	valor máximo observado em E1, com decaimento progressivo em E2
Hipóxia	aumento inicial seguido por depressão	aumento inicial seguido por redução	aumento durante todo o período de exposição	aumento inicial seguido por redução	aumento durante todo o período de exposição	aumento progressivo do fluxo expiratório em E2
Hipercapnia	aumento final na frequência respiratória	aumento acentuado durante metade final	aumento durante todo o período de exposição	aumento acentuado durante metade final	aumento durante todo o período de exposição	ausência de alterações na fase E2 (igual ao repouso)
Isquemia	sem alterações	aumento durante todo o período de exposição	aumento durante todo o período de exposição	aumento durante todo o período de exposição	aumento durante todo o período de exposição	ausência de alterações na fase E2 (igual ao repouso)

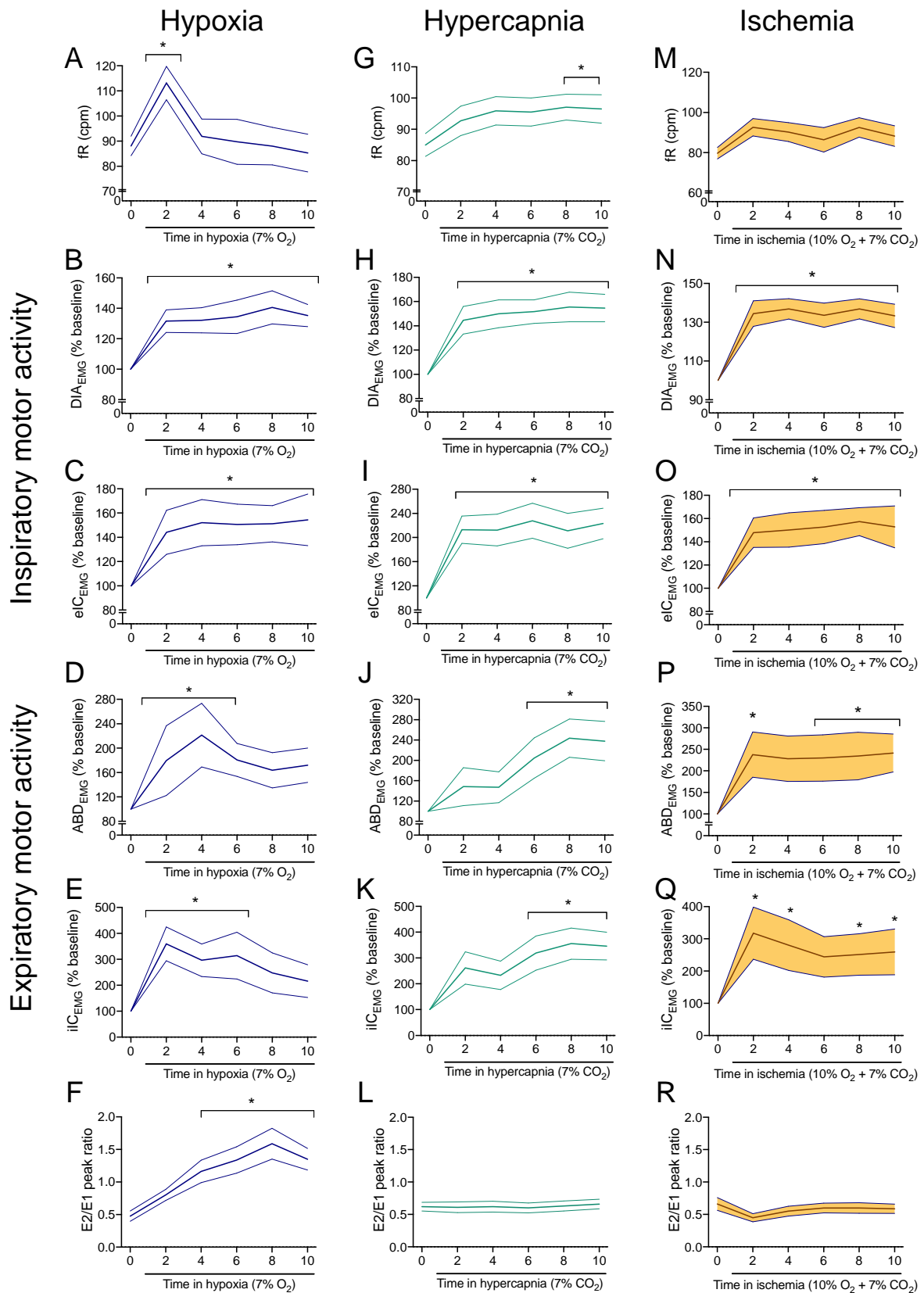


Figura 14 - Comparação das alterações motoras respiratórias durante à hipóxia (7% O₂, gráficos da esquerda, painéis A-F), hipercapnia (7% CO₂, gráficos centrais, painéis G-L) e isquemia (10% O₂ + 7% CO₂, gráficos da direita, painéis M-R) em animais anestesiados. As descrições das respostas à cada condição gasosa, bem como as comparações estatísticas, se encontram anteriormente na seção Material e Métodos.

5.1. Alterações na atividade motora e fluxo de ar em condições de hipóxia

A redução prolongada da disponibilidade de O₂ nos tecidos e células podem ter drásticas consequências deletérias para o organismo, podendo causar a morte. Em condições de hipóxia, ajustes integrados são observados em vários sistemas fisiológicos com o objetivo restaurar a homeostase dos gases sanguíneos. Tais respostas reflexas incluem aumento da atividade simpática, do débito cardíaco e da condutância vascular, a fim de manter a perfusão de O₂ aos tecidos de órgãos críticos (Braga et al., 2007; Hainsworth; Drinkhill, 2007). Além disso como respostas temos também ajustes metabólicos, incluindo a redução da temperatura corporal (Madden; Morrison, 2005; Mortola, 2016), mudanças no consumo de oxigênio (Mortola; Matsuoka, 1993) e demanda ATP (Hochachka et al., 1996), e o aumento da ventilação pulmonar (Lovering et al., 2003; Moraes et al., 2011), com o objetivo de aumentar a captação de O₂ do ar atmosférico. A deflagração dessas respostas ocorre em grande parte, pela estimulação de células quimiossensíveis, os quimiorreceptores periféricos, que são excitados em caso de redução da PaO₂ (Lahiri et al., 2006).

Sobre a ventilação, a atividade aferente dos corpúsculos carotídeos é transmitida para rede neural respiratória localizada no tronco encefálico (Lindsey et al., 1994), a qual irá promover o aumento das atividades motoras inspiratória e expiratória. Nós observamos aumentos na amplitude das atividades diafragmática e intercostal externa (atividade motora inspiratória) durante todo o período de exposição à hipóxia. Tal aumento pode estar associado à ativação do oscilador inspiratório, o preBötC, por meio dos neurônios do NTS (Zoccal et al., 2014). O aumento da atividade do preBötC, por sua vez, é transmitida para neurônios motores na medula espinhal, promovendo o aumento da atividade do DIA e eIC. Há também evidências de projeções do NTS para a medula espinhal (Zoccal et al., 2014), as quais também poderiam contribuir para o aumento da atividade motora inspiratória em condições de hipóxia. O aumento das oscilações do preBötC durante a hipóxia é também um mecanismo neural para o aumento da frequência respiratória, observado durante os momentos iniciais de exposição. Contudo, com o prolongamento da exposição à hipóxia (vários minutos), há o acúmulo de adenosina na região do preBötC, proveniente de astrócitos, a qual tem efeitos inibitórios sobre os neurônios inspiratórios (Reklow et al., 2019) – um possível mecanismo envolvido na redução da frequência respiratória (resposta bifásica).

Sobre o componente motor expiratório, a expiração ativa durante a hipóxia parece ocorrer devido a ativação de outro oscilador, presente na região ventral do bulbo, mas de forma rostral ao preBötC. Tal oscilado expiratório é chamado de grupo respiratório parafacial lateral (pFL) (Abdala et al., 2009). Os neurônios do pFL encontram-se silenciados (sem atividade) em condições de repouso; contudo, em situações de hipóxia, estímulos excitatórios provenientes dos quimiorreceptores periféricos promovem a ativação dos neurônios expiratórios do pFL, causando o aumento da atividade motora abdominal (Moraes et al., 2012; Zoccal et al., 2018), via ativação dos neurônios pré-motores expiratórios do bulbo, os quais, por sua vez, estimulam neurônios motores expiratórios da medula espinhal (de Britto e Moraes, 2017). Nós consideramos a hipótese de que esse mecanismo também cause o aumento da atividade dos neurônios motores que inervam os músculos expiratórios intercostais, causando a sincronia entre os músculos ABD e iIC. De forma diferente da atividade inspiratória, observamos um padrão “bifásico” na resposta motora expiratória, com aumentos mais expressivos na atividade ABD e iIC nos momentos iniciais da exposição à hipóxia, seguido de uma acomodação em patamares inferiores. Não há estudos na literatura reportando esse perfil de resposta dos músculos expiratórios durante a hipóxia, representando um novo achado do nosso estudo. Evidências experimentais mostram que a também adenosina tem efeito inibitório sobre os neurônios da região parafacial (Falquetto et al., 2018). Portanto, assim como acontece com os neurônios do preBötC e a fR, sugerimos que a resposta bifásica da atividade expiratória aconteça devido à presença de neuromoduladores inibitórios no pFL durante a exposição à hipóxia. Entretanto, tal possibilidade necessita de estudos adicionais para serem elucidados.

O aumento da atividade motora inspiratória durante a hipóxia resulta em maiores modificações da caixa torácica e, conseqüentemente, do volume pulmonar, acarretando um maior volume de ar inspiratório. Sobre a atividade motora expiratória, ainda não há estudos que mostrem, com clareza, os impactos do aumento da atividade ABD e iIC sobre a mecânica respiratória. O recrutamento dos músculos abdominais aumenta a pressão intra-abdominal, empurrando o diafragma para cima e, dessa forma, leva a expulsão do ar (West, 2013). De forma semelhante, os músculos iIC impulsionam o fluxo expiratório por tracionar as costelas para baixo e para dentro (West, 2013). Nossos achados mostram que nos momentos iniciais da exposição à hipóxia, há uma correlação temporal entre a elevação da fR e o aumento da atividade motora expiratória. Assim, podemos sugerir que, na fase inicial à hipóxia, o aumento da atividade ABD e iIC sejam importantes para acelerar o esvaziamento pulmonar, promovendo o aumento da fR. Tais observações são condizentes com o aumento dos picos

inspiratórios e expiratórios do fluxo de ar nasal (avaliados nesse estudo de forma qualitativa). Contudo, com o prolongamento da exposição à hipóxia, notamos que o perfil do fluxo ar expiratório mudou, apresentando um novo na fase E2 da expiração. O aumento do fluxo de ar na parte final da fase expiratória junto com a atividade motora abdominal já foi sugerido ser um mecanismo para aumentar o volume corrente, devido ao recrutamento do volume expiratório de reserva (Jenkin; Milsom, 2014). Assim, é possível que exista uma mudança da contribuição da expiração ativa durante a exposição à hipóxia, dependendo do tempo de exposição. Os motivos que promovem essas alterações no impacto da expiração ativa sobre a mecânica respiratória ainda são incertos. Sabemos que durante a inspiração e expiração há a contração de músculos abdutores da língua e músculos constritores e dilatadores da laringe, os quais promovem alterações na resistência à passagem do ar pelas vias aéreas (Paton; Dutschmann, 2002; Richter; Smith, 2014). Assim, especulamos que isso possa estar associado a modificações no controle de músculos que impactam a resistência do ar pelas vias aéreas. Para verificação dessa possibilidade, estudos futuros ainda serão necessários.

5.2. Alterações na atividade motora e fluxo de ar em condições de hipercapnia ou isquemia

Em situações de aumento do CO₂ e diminuição do pH no sangue arterial, neurônios e astrócitos localizados em regiões do bulbo, denominados de quimiorreceptores centrais, são ativados, promovendo a estimulação da rede respiratória do tronco encefálico. Uma importante região com sensibilidade ao CO₂/pH é o núcleo retrotrapezóide (RTN), a qual envia projeções para os neurônios dos osciladores inspiratório e expiratório, ou seja, preBötC e pFL (Guyenet; Bayliss, 2015). Assim, em condições de hipercapnia, os aumentos da atividade motora inspiratória e expiratória são decorrentes da ativação desses circuitos neurais, levando ao aumento da atividade dos neurônios motores. Interessantemente, as atividades DIA e eIC apresentaram aumentos desde o início até o final do estímulo hipercápnico, enquanto os aumentos nas atividades ABD e iIC foram significativos apenas durante a segunda metade do período exposição. Não sabemos explicar os mecanismos relacionados a essa dinâmica diferenciada, mas pode estar associado aos mecanismos inibitórios de controle da atividade dos neurônios do pFL em situações de hipercapnia (Barnett et al., 2017). Além disso, notamos que o aumento da atividade expiratória esteve, temporalmente, associado ao aumento da fR. Assim, consideramos a hipótese que a expiração ativa, em condições de hipercapnia, seja um importante mecanismo para acelerar o esvaziamento pulmonar na expiração, impulsionando a renovação de ar nos alvéolos pulmonar. Uma vez que não notamos modificações no perfil do

fluxo de ar nasal durante a hipercapnia (ou seja, esteve semelhante ao padrão em repouso), também especulamos a hipótese de que na hipercapnia, diferentemente da hipóxia, não há modificações no controle da resistência das vias aéreas superiores no momento da expiração ativa. Tal possibilidade, se comprovada experimentalmente, indicará que a expiração ativa tem repercussões mecânicas diferentes na hipóxia e hipercapnia, devido ao recrutamento distinto de regiões pré-motoras e motoras da rede neural respiratória.

Quando os estímulos de hipóxia e hipercapnia foram combinados, observamos que o aumento da atividade motora inspiratória foi semelhante às respostas observadas com os estímulos isolados. Os aumentos nas atividades expiratórias ABD e iIC durante a isquemia, por outro lado, se mostraram mais duradouros em relação às respostas observadas durante a exposição à hipóxia ou hipercapnia isoladamente. Apesar dessas semelhanças com a resposta motora à hipóxia, não foram observadas alterações na fR e no padrão do fluxo de ar, os quais ficaram semelhantes aos valores basais. Assim, na situação de isquemia, sugerimos que a co-ativação dos mecanismos sensoriais para O₂ e CO₂ cause uma “somação” das respostas motoras e de fR. Por outro lado, do ponto de vista de fluxo de ar, o padrão observado durante a isquemia foi semelhante àquele verificado durante a hipercapnia, ou seja, aumento de amplitude e manutenção do fluxo máximo em E1. Diante dessas observações, para que o recrutamento expiratório tenha repercussões mecânicas diferentes na hipóxia e hipercapnia/isquemia, novamente consideramos a possibilidade de que outros músculos, potencialmente aqueles que controlem o diâmetro das vias aéreas superiores, sejam ativados de forma diferencial. No caso da isquemia, especula-se que tais músculos não sejam recrutados, permitindo a saída do ar sem modificações na resistência (ou seja, de forma semelhante ao repouso), não havendo impactos no padrão do fluxo de ar. Tais possibilidades ainda necessitam de estudos adicionais para serem comprovadas.

6. CONCLUSÃO

Estudos mostram que mamíferos expostos a ambientes com reduzida disponibilidade de O₂ (hipóxia) ou excesso de CO₂ (hipercapnia) promovem aumentos reflexos e compensatórios na ventilação pulmonar. Além disso, evidências indicam que as respostas de hiperventilação estão associadas ao aumento das atividades motoras inspiratória e expiratória. Em um primeiro momento, o presente estudo confirma as observações já descritas na literatura sobre as respostas ventilatórias à hipóxia e hipercapnia. Contudo, nossos achados mostram que a coordenação dos músculos inspiratórios e expiratórios, e seus impactos sobre o controle de fluxo de ar pulmonar, são distintos dependendo da condição gasosa. Em situações de hipóxia, a resposta motora expiratória apresentou um padrão bifásico, acompanhando modificações na fR. Por outro lado, a combinação da hipóxia e hipercapnia (isquemia) promoveu alterações diferentes na fR e no padrão de fluxo de ar quando comparadas à hipóxia, apesar do recrutamento da expiração ativa. Tais observações sugerem um controle diferencial no processamento central do padrão de expiração ativa, com o possível recrutamento de músculos adicionais dependendo da situação à qual o animal é exposto (hipóxia, hipercapnia ou isquemia). Ainda não sabemos especular o impacto dessas diferenças motoras e mecânicas sobre a troca dos gases e manutenção da homeostase de O₂ e CO₂ no sangue arterial. Contudo, nosso estudo abre perspectivas importantes para a melhor compreensão das respostas compensatórias à hipóxia e hipercapnia, e suas implicações nas adaptações do organismo à altas altitudes ou no desenvolvimento de distúrbios respiratórios como a apneia central e/ou obstrutiva do sono ou a síndrome da hipoventilação congênita central.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALA, A.P. et al. Abdominal expiratory activity in the rat brainstem spinal cord in situ: patterns, origins and implications for respiratory rhythm generation. **J Physiol**, v.587, p.3539-3559, 2009.

AICHER, S.A. et al. Monosynaptic projections from the nucleus tractus solitarii to C1 adrenergic neurons in the rostral ventrolateral medulla: comparison with input from the caudal ventrolateral medulla. **J Comp Neurol**, v. 373, p.62-75, 1996.

ALHEID, G.F. et al. Caudal nuclei of the rat nucleus of the solitary tract differentially innervate respiratory compartments within the ventrolateral medulla. **Neuroscience**, v.190, p.207-227, 2011.

ANGELOVA, P.R. et al. Functional Oxygen Sensitivity of Astrocytes. **J Neurosci.**, v. 35, p.10460-10473, 2015.

ARIAS-MAYENCO, I. et al. Acute O₂ Sensing: Role of Coenzyme QH₂/Q Ratio and Mitochondrial ROS Compartmentalization. **Cell Metab.**, v. 28, p.145-158 e144, 2018.

BABY, S.M. et al. Acute effects of insulin and insulin-induced hypoglycaemia on carotid body chemoreceptor activity and cardiorespiratory responses in dogs. **Exp Physiol.**, v.108, p.280-295, 2023.

BAILEY, D. M. Oxygen and brain death; back from the brink. **Exp Physiol**, v.104, n. 12, p.1769-1779, 2019.

BAKER-SMITH, C. M. et al. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease in children and adolescents: a scientific statement from the American heart association. **J Am Heart Assoc**, v.10, n.18, 2021. Acesso em: 21 jun. 2024.

BARIONI, N.O. et al. Novel oxygen sensing mechanism in the spinal cord involved in cardiorespiratory responses to hypoxia. **Sci Adv**, v.8, eabm 1444, 2022.

BARNETT, W.H. et al. Chemoreception and neuroplasticity in respiratory circuits. **Exp Neurol** v.287, p.153-164, 2017.

BIANCARDI, V. et al. Mapping of the excitatory, inhibitory, and modulatory afferent projections to the anatomically defined active expiratory oscillator in adult male rats. **J Comp Neurol.**, v.529, p.853-884, 2021.

BRAGA, V. A. et al. Involvement of L-glutamate and ATP in the neurotransmission of the sympathoexcitatory component of the chemoreflex in the commissural nucleus tractus solitarii of awake rats and in the working heart-brainstem preparation. **J. Physiol.**, v. 581, p.1129-1145, 2007a

BRAGA, V. A. et al. Activation of peripheral chemoreceptors causes positive inotropic effects in a working heart-brainstem preparation of the rat. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.34, p.1156-1159, 2007b.

- CABELLO-RIVERA, D. et al. Oxygen regulation of breathing is abolished in mitochondrial complex III deficient arterial chemoreceptors. **Proc Natl Acad Sci U S A** 119, e2202178119, 2022.
- CHERNIACK, N. S. et al. “Mathematical Models of Periodic Breathing and Their Usefulness in Understanding Cardiovascular and Respiratory Disorders.” **Exp Physiol.**, v. 91 n.2, p.295-305, 2006.
- DE BRITTO, A .A. et al. Non-chemosensitive parafacial neurons simultaneously regulate active expiration and airway patency under hypercapnia in rats. **J Physiol .**, v.595, p.2043-2064.
- DEL NEGRO, C.A. et al. Breathing matters. **Nat Rev Neurosci .**, v.19, p.351-367, 2018.
- DUTSCHMANN, M. et al. The physiological significance of post-inspiration in respiratory control. **Prog Brain Res.**, v. 212, p.113-130, 2014.
- ERNST, A. et al. Central airway obstruction. **Am J of Res and Crit Care Med**, v.169, n. 12, p.1278-1297, 2004.
- FALQUETTO, B. et al. **TS. Neuropharmacol** .Inhibition of the hypercapnic ventilatory response by **adenosine** in the **retrotrapezoid nucleus** in awake rats. v.138, p.47-56, 2018.
- FERNANDEZ-AGUERA, M.C. et al. Oxygen Sensing by Arterial Chemoreceptors Depends on Mitochondrial Complex I Signaling. **Cell Metab**, v. 22, p.825- 837, 2015.
- FREGOSI, R. F.; LUDLOW, C. L. Activation of upper airway muscles during breathing and swallowing. **J of Appl Physiol**, v.116, n. 3, p.291-301, 2014.
- GIANNONI, A. et al. Upright Cheyne-stokes respiration in patients with heart failure. **J of the Am College of Cardiol**, v.75, n. 23, p.2934-2946, 2020.
- GILL, M. B.; PEREZ-POLO, J. R. Hypoxia ischemia-mediated cell death in neonatal rat brain. **Neurochem Res**, v.33, n. 12, p. 2379-2389, 2008.
- GIORDANO, F. J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. The J of **Clin Invest.**, v.115, n. 3, p.500-508, 2005.
- GUYENET, P. G. ; BAYLISS, D.A. Neural Control of Breathing and CO2 **Homeostasis. Neuron**, v. 87, p.946-961, 2015.
- GUYENET. P.G. Regulation of breathing and autonomic outflows by chemoreceptors. **Compr Physiol.**, v.4, p.1511-1562, 2014.
- HAINS,WORTH, R.; DRINKHILL, M.J. Cardiovascular adjustments for life at high altitude. **Respir Physiol Neurobiol**, v.158, p.204-211, 2007.
- HOCHACHKA, P.W. et al. Sherpa brain glucose metabolism and defense adaptations against chronic hypoxia. **J Appl Physiol** 1985v. 81, p.1355-1361, 1996.

JENKIN, S.E. ; MILSOM ,W.K. Expiration: breathing's other face. **Prog Brain Res.**, v.212, p.131-147, 2014.

KATAYAMA, P.L. et al. The carotid body detects circulating tumor necrosis factoralpha to activate a sympathetic anti-inflammatory reflex. **Brain Behav Immun.**,v. 102, p.370-386, 2022.

KING, T.L. et al. Hypoxia activates nucleus tractus solitarii neurons projecting to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** . v.302, R1219-1232, 2012.

LAHIRI, S. et al. Arterial PO₂ and PCO₂ stimulus threshold for carotid chemoreceptors and breathing. **Resp Physiol**, v.34, n.3, p.359-375, 1978

LAHIRI, S. Oxygen sensing in the body, 2006.

LEMES, E.V. ; ZOCCAL, D.B. Vagal afferent control of abdominal expiratory activity in response to hypoxia and hypercapnia in rats. **Respir Physiol Neurobiol.** , v. 203, p.90-97, 2014.

LEMES, E. V.; ZOCCAL, D. B. Vagal afferent control of abdominal expiratory activity in response to hypoxia and hypercapnia in rats. **Respir Physiol Neurobiol.**, n. 203, p. 90-97, 2014.

LEMOS, V. de A. Efeitos da exposição à altitude sobre os aspectos neuropsicológicos: uma revisão da literatura. **Revista brasileira de psiquiatria**, v.32, n.1, p.70-76, 2009.

LINDSEY, B. G.et al. Distributed actions and dynamic associations in respiratory-related neuronal assemblies of the ventrolateral medulla and brain stem midline: evidence from spike train analysis. **J Neurophysiol.**, v. 72, n. 4, p. 1830 -1851, 1994.

LOPES, L.T. et al. Anatomical and functional connections between the locus coeruleus and the nucleus tractus solitarius in neonatal rats. **Neuroscience.**, v.324, p.446-468, 2016.

LOPEZ-BARNEO, J. et al. Chemotransduction in the carotid body: K⁺ current modulated by PO₂ in type I chemoreceptor cells. **Science**, v. 241, p.580-582, 1988.

LOVERING, A.T.et al. Ventilatory response of the cat to hypoxia in sleep and wakefulness. **J Appl Physiol** v.95, n.2, p.545-554, 2003.

MACKLEM, P. T. Airway obstruction and collateral ventilation. **Physiol Rev**, v.51, n.2, p. 368- 436, 1971.

MADDEN, C.J. ; MORRISON, S.F. Hypoxic activation of arterial chemoreceptors inhibits sympathetic outflow to brown adipose tissue in rats. **J Physiol.** , v. 566, p.559-573, 2005.

MASSEY, C.A.; RICHERSON, G.B. **J Neurophysiol.** Isoflurane, ketamine-xylazine, and urethane markedly alter breathing even at subtherapeutic doses.,v.118, n. 4, p. 2389-2401, 2017.

MENUET, C. et al. PreBotzinger complex neurons drive respiratory modulation of blood pressure and heart rate. **Elife**, 2020.

MOLKOV, Y. I. et al. Intermittent hypoxia-induced sensitization of central chemoreceptors contributes to sympathetic nerve activity during late expiration in rats. **J. Neurophysiol.**, v. 105, p.3080-3091, 2011.

MORAES, D.J. et al. Contribution of the retrotrapezoid nucleus/parafacial respiratory region to the expiratory-sympathetic coupling in response to peripheral chemoreflex in rats. **J Neurophysiol.** , v. 108, p.882-890, 2012.

MORAES, D.J.; ZOCCAL, D.B ; MACHADO, B.H. Sympathoexcitation during chemoreflex active expiration is mediated by L-glutamate in the RVLM/Botzinger complex of rats. **J Neurophysiol.**, v. 108, p.610-623, 2012c

MORRIS, K.F. Inspiratory drive and phase duration during carotid chemoreceptor stimulation in the cat: medullary neurone correlations. **J Physiol.** , v. 491, parte 1, p.241-259, 1996.

MORTOLA, J. P.

Gender and the circadian pattern of body temperature in normoxia and hypoxia. **Respir. Physiol. Neurobiol.**, v. 245, p. 4-12, 2016.

MORTOLA, J. P.; MATSUOKA, T. Interaction between CO₂ production and ventilation in the hypoxic kitten. **J. Appl. Physiol.**, v. 74, p. 905-910, 1993.

PAGLIARDINI, S., Active expiration induced by excitation of ventral medulla in adult anesthetized rats. **J Neurosci.** , v.31, p.2895-2905, 2011.

PATON, J.F.; DUTSCHMANN, M. Central control of upper airway resistance regulating respiratory airflow in mammals. **J Anat.**, v. 201, p.319-323, 2002.

POWELL, F.L; MILSOM, W.K.; MITCHELL, G.S. Time domains of the hypoxic ventilatory response. **Respir Physiol** , v.112, p.123-134, 1998.

CHAMPAGNAT, J.; FORTIN G. **Trends Neurosci.** Primordial **respiratory**-like rhythm generation in the vertebrate embryo., v.20, n. 3, p.119-124, 1997.

RAJANI V, ZHANG Y, JALUBULA V, RANCIC V, SHEIKHBAHAEI S, ZWICKER JD, PAGLIARDINI S, DICKSON CT, BALLANYI K, KASPARVOV S, GOURINE AV, FUNK GD. (2018). Release of ATP by pre-Botzinger complex astrocytes contributes to the hypoxic ventilatory response via a Ca²⁺-dependent P2Y₁ receptor mechanism. **J Physiol** **596**, 3245-3269.

REKLOW RJ, ALVARES TS, ZHANG Y, MIRANDA TAPIA AP, BIANCARDI V, KARZELL AK, FRANGOS SM, HANSEN MA, TOOHEY AW, CASS CE, YOUNG

- JD, PAGLIARDINI S, BOISON D; FUNK GD. (2019). The Purinome and the preBotzinger Complex - A Menage of Unexplored Mechanisms That May Modulate/Shape the Hypoxic Ventilatory Response. **Front Cell Neurosci** **13**, 365.
- RICHTHER, D.W. ; SMITH, J.C. Respiratory rhythm generation in vivo. **Physiol**, v. 29, p.58-71, 2014.
- SAIKI, C. et al. Metabolic-ventilatory interaction in conscious rats: effect of hypoxia and ambient temperature. **J Appl Physiol.**, v.76, n.4, p.1594-1599, 1994.
- SHIN, M.K. et al. Leptin Induces Hypertension Acting on Transient Receptor Potential Melastatin 7 Channel in the Carotid Body. **Circ Res.**, v.125, p.989-1002, 2019.
- SMITH, J.C. et al. Spatial and functional architecture of the mammalian brain stem respiratory network: a hierarchy of three oscillatory mechanisms. **J Neurophysiol.**, v. 98, p.3370-338, 2007.
- SMITH, J.C. et al. **Pre-Botzinger complex**: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*, v. 254, p.726-729, 1991.
- SONG, G. et al .Hypoxia-excited neurons in NTS send axonal projections to Kolliker-Fuse/parabrachial complex in dorsolateral pons. **Neuroscience** , v.175, p.145- 153, 2011.
- STROLLO, P. J.et al. Obstructive sleep apnea. **The New Engl J of Med**, v.334, n.2, p.99-104, 1996.
- SUN, M.K. et al. Central neural mechanisms mediating excitation of sympathetic neurons by hypoxia. **Prog Neurobiol.**, v 44, p.197-219,1994
- TAKAKURA, A.C. et al. Peripheral chemoreceptor inputs to retrotrapezoid nucleus (RTN) CO₂-sensitive neurons in rats. **J Physiol** ., v.572, p.503-523, 2006.
- TAXINI, C.L. et al. Role of A5 noradrenergic neurons in the chemoreflex control of respiratory and sympathetic activities in unanesthetized conditions. **Neuroscience**, v. 354, p.146-157, 2017.
- TELEZHKIN, V. et al. Mechanism of inhibition by hydrogen sulfide of native and recombinant BKCa channels. **Respir Physiol Neurobiol.**, v.172, p.169- 178, 2010.
- TIMON-GOMEZ, A. et al. Tissue-specific mitochondrial HIGD1C promotes oxygen sensitivity in carotid body chemoreceptors. **Elife** , v.11, 2022.
- WEST, J. B. Fisiologia respiratória - princípios básicos. In: **Mecânica da respiração**. 9. ed. Porto alegre: Artmed, 2013. cap.7.
- ZOCCAL, D.B. et al. The nucleus of the solitary tract and the coordination of respiratory and sympathetic activities. **Front Physiol.**, v. 5, p.238, 2014.
- ZOCCAL, D.B.et al. Interaction between the retrotrapezoid nucleus and the parafacial respiratory group to regulate active expiration and sympathetic activity in rats. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.**, v. 315, p. L891-L909, 2018.

ZOCCAL, D. B. et al. Hypoxia sensing in the body: An update on the peripheral and central mechanisms. **Experimental Physiology**, v.109, n.4, p.461-469, 2024