



Università degli Studi di Cagliari

## **DOTTORATO DI RICERCA**

Biologia e Biochimica dell'Uomo e dell'Ambiente

Ciclo XXVIII

La risposta cardiocircolatoria all'attivazione dei metaboriflessi muscolari  
nella sclerosi multipla.

Settore scientifico disciplinare di afferenza

BIO/09

|                        |                          |
|------------------------|--------------------------|
| Presentata da:         | Andrea Loi               |
| Coordinatore Dottorato | Prof. Emanuele Sanna     |
| Tutor                  | Dott. Antonio Crisafulli |

Esame finale anno accademico 2014 – 2015

## ***Indice***

|                                                                                                  |                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <b><i>Introduzione</i></b>                                                                       | <b><i>pag. 3</i></b> |
| <b><i>Aggiustamenti cardiovascolari durante l'esercizio fisico: i meccano-metaboriflessi</i></b> | <b><i>pag. 5</i></b> |
| <b><i>Ipotesi di studio</i></b>                                                                  | <b><i>pag.11</i></b> |
| <b><i>Materiali e metodi</i></b>                                                                 | <b><i>pag.13</i></b> |
| <b><i>Protocollo sperimentale</i></b>                                                            | <b><i>pag.14</i></b> |
| <b><i>Analisi dei dati</i></b>                                                                   | <b><i>pag.17</i></b> |
| <b><i>Discussione</i></b>                                                                        | <b><i>pag.20</i></b> |
| <b><i>Foto</i></b>                                                                               | <b><i>pag.25</i></b> |
| <b><i>Tabelle e figure</i></b>                                                                   | <b><i>pag.31</i></b> |
| <b><i>Bibliografia</i></b>                                                                       | <b><i>pag.37</i></b> |

## ***Introduzione.***

La sclerosi multipla (MS) è una malattia infiammatoria progressiva che interessa il sistema nervoso centrale, con presunta eziologia autoimmune (Flachenecker et al. 2001), caratterizzata principalmente dalla presenza di diffuse demielinizzazioni segmentali, che causano svariati sintomi, tra cui le disautonomie (Labuz-Roszak et al. 2007).

Nel decorso della malattia, il sistema nervoso può essere coinvolto nel suo complesso, comportando la comparsa di un elevato numero di disfunzioni. Tra queste, vengono riferiti molti sintomi legati al coinvolgimento del Sistema Nervoso Autonomo (Chia et al. 1995, de Sèze et al. 2007, Hennessy et al. 1999, Zorzon et al. 1999). A seconda della localizzazione delle lesioni, l'attività del Simpatico e del Parasimpatico può essere interrotta a vari livelli, compromettendo di conseguenza qualsiasi funzione vegetativa (Lensch et al. 2011).

Nella MS, uno dei sintomi maggiormente riportato è la ridotta tolleranza allo sforzo fisico, con il 50-60% di pazienti che riferiscono come questa sia la difficoltà più marcata ed il 75% di essi che soffrono di fatica cronica (Andreasen et al. 2011, Mollaouğlu et al. 2009, Tartaglia et al. 2005). Alcuni autori hanno ipotizzato che eventuali disfunzioni del simpatico siano correlabili con la fatica, anche se con meccanismi non ancora chiari (Cohen et al. 1989, Flachenecker et al. 2001, 2003, Keselbrener et al. 2000, Ng et al. 2000). Altri autori hanno riscontrato, in pazienti affetti da MS, una riduzione della risposta pressoria durante la tenuta isometrica su dinamometro, il che potrebbe indicare un'alterazione dell'attività simpatica (Pepin et al. 1996).

E' noto che una normale risposta cardiovascolare all'esercizio fisico necessita dell'integrità del sistema nervoso autonomo. Durante l'esercizio fisico, la risposta cardiovascolare avviene per effetto dell'integrazione a livello del bulbo dei segnali originatisi dalla corteccia motoria (central command) e dai segnali afferenti dai recettori muscolari (riflesso motorio muscolare). Ne consegue una risposta autonoma caratterizzata da un concomitante rallentamento del tono parasimpatico ed un aumento progressivo del tono simpatico (Nóbrega et al. 2014).

Recentemente è stato riscontrato che, durante l'esercizio fisico compiuto da soggetti sani, i riflessi innescati dall'accumulo di metaboliti nei muscoli coinvolti, contribuiscono significativamente all'omeostasi; tali riflessi sono denominati metaboriflessi. I rami afferenti di tali riflessi producono la stimolazione delle fibre afferenti di tipo III e IV, che originano dalle corna dorsali del midollo spinale (Crisafulli et al. 2006). La risposta autonoma che deriva dalla stimolazione dei metaboriflessi è un'attivazione simpatica che sostiene la pressione sanguigna ad un livello tale da garantire un'adeguata perfusione muscolare (Amann et al. 2011, Roberto et al. 2012). In alcune patologie, che comportano una ridotta o eccessiva attivazione simpatica, è stato riscontrato che tale riflesso è alterato (Choi et al. 2013, Crisafulli et al. 2007, Diplà et al. 2010, Roberto et al. 2012).

Alla luce delle disautonomie riferite nella MS e della sua presunta relazione con una scarsa tolleranza allo sforzo, l'ipotesi del presente studio è che nei soggetti affetti da tale patologia, la risposta cardiovascolare all'attivazione dei metaboriflessi, poiché necessita di una corretta attività simpatica, possa risultare alterata. Un'alterazione del riflesso potrebbe avere delle conseguenze sulla ridotta tolleranza allo sforzo riferita dai soggetti affetti da MS.

Pertanto, in funzione di tale ipotesi, ci si è posti il quesito se un test in grado di evocare i metaboriflessi possa contribuire ad individuare precocemente un'alterata regolazione cardiovascolare negli individui affetti da MS. Nel dettaglio, da parte loro ci si aspetta che, in presenza di una ridotta risposta simpatica, durante la stimolazione dei metaboriflessi, la pressione sanguigna presenti una flessione. Effettivamente, un calo dell'attività simpatica comporterebbe una minore capacità di accrescere le resistenze vascolari sistemiche e la performance cardiaca, con conseguente incapacità ad aumentare la pressione sanguigna. Tali aspetti permetterebbero di identificare precocemente segni di alterate regolazioni autonome (Roberto et al. 2012). Altresì, l'eventuale alterazione della regolazione simpatica potrebbe essere implicata nella fatica precoce che tali soggetti riferiscono come uno dei principali sintomi. Pertanto, nel tentativo di dare una risposta a tali quesiti, la risposta emodinamica all'evocazione dei metaboriflessi di un gruppo di soggetti affetti da MS è stata confrontata con quella di un gruppo di soggetti sani.

### ***Aggiustamenti cardiovascolari durante l'esercizio fisico: i meccano-metaboriflessi,***

Nel passaggio dallo stato di riposo alla condizione di esercizio fisico, si innescano delle variazioni che richiedono aggiustamenti rapidi del sistema cardiovascolare e del metabolismo energetico. Tra le variabili esaminate si osserva un incremento lineare della frequenza cardiaca (HR) rispetto all'intensità del carico lavorativo, un incremento della gittata sistolica (SV) e del consumo d'ossigeno ( $VO_2$ ). L'effetto dell'incremento combinato della HR e dello SV determina un aumento della portata cardiaca (CO) sufficiente a supportare l'aumentata richiesta di ossigeno dai tessuti muscolari in attività.

Inoltre, per garantire che la pressione arteriosa media (MBP) sia sufficiente a garantire la perfusione muscolare e dei tessuti nobili (encefalo, cuore etc.), si verifica una modulazione della vasodilatazione, mediante la modificazione della soglia operativa dei barocettori arteriosi. Tale equilibrio tra CO e resistenze vascolari periferiche (SVR) si attua per un'interazione tra l'influenza autonoma sul cuore, l'effetto delle sostanze vasodilatatorie liberate dalle masse muscolari attive e dall'azione di vasocostrizione dei mediatori simpatici nervosi e umorali.

Nella normale risposta all'esercizio fisico la CO aumenta linearmente con la richiesta di  $O_2$  muscolare e la pratica di attività che coinvolgono grosse masse muscolari determina vasodilatazione e riduzione delle SVR. L'esercizio fisico dinamico è caratterizzato da un lieve aumento della MBP. Durante la contrazione, il muscolo scheletrico rilascia diverse sostanze vasoattive ad azione dilatante quali adenosina, potassio, idrogenioni,  $CO_2$  e fosfati oltre che un aumento della stress di parete che a sua volta determina il rilascio di Ossido Nitrico (NO) da parte degli endoteli. L'aumento della CO è ottenuto mediante l'incremento della HR e della SV che contrastano la riduzione delle SVR, mantenendo così una MBP adeguata al fine di garantire la perfusione degli organi. Queste risposte cardiovascolari sono regolate da meccanismi meccanici (pompa muscolare e respiratoria) e da meccanismi nervosi (che regolano il tono vagale e simpatico) (Warburton E.R.

Darren et al. 2006). La pompa muscolare si avvale della pressione generata dai muscoli sulle vene periferiche che spinge il sangue verso il cuore, il quale a sua volta, recluta il meccanismo di Frank Starling. La componente nervosa caratterizzata dall'attivazione del sistema nervoso simpatico e parasimpatico è, a sua volta, funzione della intensità dell'esercizio. Si determinano degli aggiustamenti del sistema parasimpatico che riduce la sua attività, e di quello simpatico, che invece aumenta il suo tono, i quali insieme concorrono all'incremento della HR. Inoltre, l'attivazione simpatica determina anche aumento della contrattilità miocardica, con conseguente aumento della SV e venospremitura, che determina una "centralizzazione" di masse sanguigne e un incremento del ritorno venoso al cuore. Inoltre si produce un aumento del tono arteriolare nei visceri e nei distretti muscolari non coinvolti direttamente nell'esercizio. Questi aggiustamenti autonomici sono sotto il controllo di almeno tre meccanismi nervosi. Uno è il cosiddetto meccanismo di controllo centrale o "central command". È stato dimostrato che impulsi che partono da varie aree del sistema nervoso centrale che vengono attivate durante l'esercizio possono a loro volta attivare le aree di controllo cardiocircolatorio localizzate nel midollo allungato. Cioè, lo stesso attivazione delle unità motorie può a sua volta regolare il sistema nervoso autonomo e, di conseguenza, il sistema cardiovascolare sulla base dell'intensità e del tipo di sforzo che si sta compiendo. Il secondo meccanismo è invece basato sulla modulazione autonoma riflessa originata da segnali periferici. In dettaglio, impulsi nervosi originati dai meccanorecettori e metaborecettori localizzati nei muscoli possono, per via riflessa, modulare il tono simpatico dell'organismo sulla base dello stato metabolico (quantità e tipo di metaboliti che si accumulano nel muscolo durante la contrazione) e meccanico (dovuto all'intensità e alla durata della contrazione muscolare) dei muscoli che si contraggono. Questo meccanismo è noto come "exercise pressor reflex", ed è composto da due distinti fenomeni: i metaboriflessi ed i meccanoriflessi. Questi riflessi hanno il loro ramo afferente nelle fibre nervose lente del gruppo III e IV, che si proiettano al corno dorsale del midollo spinale. Il midollo allungato sarebbe invece il centro del riflesso stesso (Nobrega et al 2013).

In particolare l'attivazione del metaboriflesso sarebbe capace di stimolare un aumento significativo del tono nervoso simpatico, della HR, dello SV, della contrattilità ventricolare (miocardica), del pre-carico e del post-carico cardiaco, cioè di tutti i modulatori emodinamici (Marongiu et al. 2013). Nei pazienti con MS i metaboriflessi appaiono iperattivi (Crisafulli et al. 2007). Il motivo non è stato ancora definitivamente chiarito ma si pensa che possa dipendere dall'instaurarsi di un circolo vizioso caratterizzato da: accumulo di metaboliti-> attivazione dei metaboriflessi-> vasocostrizione -> aumentato accumulo di metaboliti -> iperattivazione dei metaboriflessi -> ipoperfusione muscolare -> ipertono dei metaboriflessi.

Infine il terzo meccanismo nervoso che si attiva durante esercizio è il baroriflesso, che contrasta l'attività del Central Command e del metaboriflesso modulando l'attività autonoma e contrastando eccessivi incrementi del tono simpatico e/o pressori. Diverse ricerche dimostrano che il metaboriflesso durante esercizio provoca una ri-locazione dell'operating point, che aumenta, mentre la sua sensibilità rimane inalterata (Iellamo et al 1997, 2006, Raimondi et al. 1998, Crisafulli et al. 2015 ). Tale attività regolatrice è quindi il risultato di una integrazione multi sistemica, atta a trasformare l'informazione proveniente dalla periferia (ovvero dai distretti muscolari in attività) in una serie di stimolazioni finalizzate ad aggiustare la risposta cardiovascolare per far sì che SV, CO e MBP possano soddisfare le accresciute richieste metaboliche muscolari. Questa complessa rete di modificazioni viene comunemente identificata come "exercise pressor reflex" e numerosi studi hanno dimostrato come sia indispensabile per una normale risposta cardiovascolare durante l'esercizio (Mitchell 1983, Rowell 1990, Crisafulli 2006a,b).

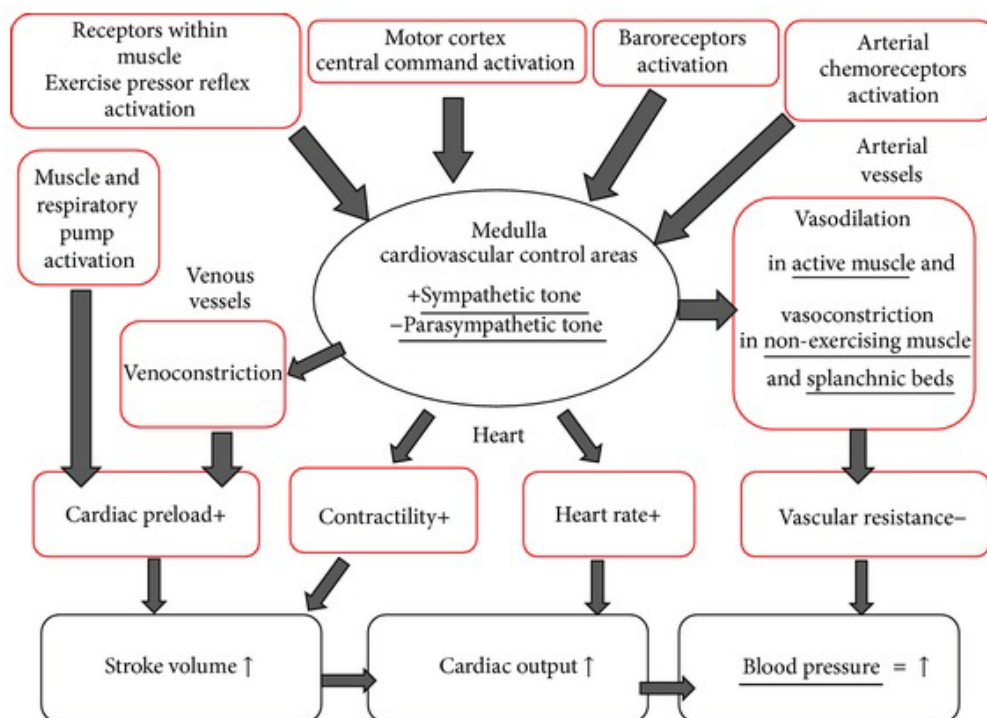


Fig.1 Estratto da: Neural Regulation of Cardiovascular Response to Exercise: Role of Central Command and Peripheral Afferents. Antonio C. L. Nobrega, Donal O'Leary, Bruno Moreira Silva, Elisabetta Marongiu, Massimo F. Piepoli, and Antonio Crisafulli.

BioMed Research International Volume 2014.

È comunemente riconosciuto che i recettori dei metaboriflessi siano le terminazioni nervose libere di tipo III e IV che si trovano nei muscoli. Tali terminazioni sarebbero sensibili sia a stimoli meccanici (stiramento e compressione) che chimici (accumulo di acido lattico, ioni  $H^+$ , adenosina, metaboliti dell'acido arachidonico, ioni  $K^+$  etc.). Gli impulsi originati da questi “metaborecettori” raggiungerebbero il midollo spinale e quindi i centri di controllo cardiocircolatorio presenti nel midollo allungato da cui originerebbe la risposta riflessa. Tale risposta sarebbe costituita da un incremento pressorio dovuto a stimolazione sia cardiaca che vasale (Crisafulli 2003, 2006a,b).

Comunemente si pensa che tale risposta sia mediata primariamente da un incremento delle resistenze vascolari sistemiche (SVR) causato da una vasocostrizione simpatico-mediata in quanto gli effetti sulla frequenza cardiaca sembrerebbero trascurabili (Rowell 1990). Tuttavia recentemente diverse osservazioni sull'uomo e su animali hanno portato alla ribalta il ruolo svolto dalla performance ventricolare e dalla gittata sistolica nel raggiungere la risposta pressoria osservata



durante l'attivazione dei metaboriflessi (Crisafulli 2003, O'Leary 1998, Crisafulli 2006a). In particolare, senza un incremento della contrattilità cardiaca in risposta ad un aumento del post-carico indotto dalla vasocostrizione, ci si dovrebbe attendere una caduta della gittata sistolica in seguito all'attivazione dei metaboriflessi.

Tale fenomeno invece non appare nei soggetti sani, ove appunto una normale risposta cardiovascolare all'esercizio è caratterizzata da un concomitante rallentamento del tono parasimpatico ed aumento del tono simpatico.

Nei soggetti affetti da MS, i fenomeni che si innescano non sono ancor del tutto chiariti, sia per il ruolo che assume la fatica in tali soggetti, che per la variabile dislocazione delle lesioni. Infatti, a seconda delle lesioni, possono essere compromesse numerose funzioni vegetative, dipendenti sia dall'attività del simpatico che del parasimpatico.

Numerosi studi sono stati effettuati sulle disautonomie nella MS, ma solo in alcuni sono state studiate le regolazioni autonome di carattere cardiovascolare in tale patologia (Flachenecker et al. 2001).

In alcuni di tali studi sono state osservate le risposte a dei test per le funzioni autonome, al fine di descrivere quantitativamente l'entità di disfunzioni simpatiche e parasimpatiche (Flachenecker et al. 1997, 1999).

In particolare, tali studi hanno dimostrato un comportamento differente delle disfunzioni autonome nei pazienti affetti da MS; mentre le disfunzioni simpatiche sono attribuibili alla durata della patologia, quelle parasimpatiche sono intimamente connesse con la progressione della disabilità. L'associazione tra disfunzioni simpatiche e l'attività clinica di lunga durata, suggeriscono che il sistema nervoso simpatico può essere intimamente connesso con una disordinata regolazione autoimmune nella MS, mentre le disfunzioni parasimpatiche possono essere causate dalla stessa patologia (Chelmicka et al. 1994).

Di contro, altri studi non hanno stabilito una relazione diretta tra disfunzioni autonome, da un lato, e grado di disabilità, fase attiva della malattia o sintomi clinici dall'altro lato (Anema et al. 1991, Frontoni et al. 1996, Nordenbo et al. 1989).

Anche se, coerentemente con una distribuzione sparsa delle lesioni, le anomalie nella regolazione cardiovascolare si presentano sempre secondo un modello eterogeneo (Serman et al. 1985), è stata riportata una significativa correlazione tra disfunzioni autonome e, rispettivamente, evidenze cliniche e immagini da risonanze magnetiche di lesioni del tronco encefalico in pazienti affetti da MS (Vita et al. 1993).

Relativamente all'aspetto della fatica, anch'esso è stato abbondantemente studiato; rimangono ancora da indagare soprattutto quali e quanti fattori contribuiscano ad innescarla.

Alcuni autori che hanno testato le funzioni autonome in pazienti affetti da MS, ritengono che la fatica sia correlata con disfunzioni simpatiche, con un intatto controllo vagale cardiaco (Flachenecker et al. 2003), mentre altri hanno concluso i loro studi con i pazienti affetti da MS con fatica cronica presentavano una normale attività simpatica con una verosimile leggera riduzione dell'attività vagale (Keselbrener et al. 2000) .

In un simile scenario, rimangono ancora da indagare approfonditamente le funzioni vegetative compromesse e quanto queste intervengano sulla fatica.

Ma soprattutto comprendere e quindi poter intervenire nel circolo vizioso che si genera nella MS (al pari di altre patologie), ossia una malattia che incrementa le disfunzioni vegetative le quali a loro volta aumentano l'evolvere della malattia stessa; portando successivamente il sintomo della fatica precoce tra i principali lamentati dai pazienti.

### ***Ipotesi di studio.***

Alla luce delle disautonomie riferite nella MS e della loro presunta relazione con una scarsa tolleranza allo sforzo, l'ipotesi del presente studio è che nei soggetti affetti da tale patologia, la risposta cardiovascolare all'attivazione dei metaboriflessi, poiché necessita di una corretta attività simpatica, possa risultare alterata. Considerato che, in questi pazienti la risposta cardiodinamica al metaboriflesso rappresenta un indice attendibile del grado di funzionalità cardiovascolare, si è realizzato un protocollo sperimentale il quale, passando per una valutazione clinica di tipo cardiopolmonare, applichi il test di evocazione ai metaboriflessi come metodica di controllo dello stato emodinamico e come predittivo dello stato di salute e/o di presenza di eventuali complicanza dovute alla patologia. Un'alterazione del riflesso potrebbe avere delle conseguenze e spiegare da un punto di vista fisiopatologico la ridotta tolleranza allo sforzo riferita dai soggetti affetti da MS.

Pertanto, in funzione di tale ipotesi, ci si è posti il quesito se un test in grado di evocare i metaboriflessi potesse contribuire ad individuare precocemente un'alterata regolazione cardiovascolare negli individui affetti da MS. Nel dettaglio, da parte loro ci si aspettava che, durante la stimolazione dei metaboriflessi, in presenza di una ridotta risposta simpatica, la pressione sanguigna presentasse una riduzione rispetto alla norma. Effettivamente, un calo dell'attività simpatica comporterebbe una minore capacità di accrescere le resistenze vascolari sistemiche e la performance cardiaca, con conseguente incapacità ad aumentare la pressione sanguigna. Tali aspetti permetterebbero di identificare precocemente segni di alterate regolazioni autonome (Roberto et al. 2012).

La risposta al test di evocazione del metaboriflesso sembrerebbe potersi inserire come metodica di screening della popolazione per quanto concerne la valutazione dell'integrità del sistema cardiocircolatorio, essendosi dimostrato un test di semplice esecuzione, ben tollerato dal soggetto, affidabile e facilmente ripetibile non essendo inficiato dall'operatore. Questo è un test ampiamente

utilizzato dal gruppo di ricerca del Laboratorio di Fisiologia degli Sport, che ha al suo attivo varie sperimentazioni mirate a caratterizzare il profilo emodinamico di soggetti con patologie cronico-degenerative quali ad esempio il diabete mellito (Roberto et al. 2012) e lo scompenso cardiaco (Crisafulli et al. 2007). Altresì, nella specifica patologia oggetto del presente studio, l'eventuale alterazione della regolazione simpatica potrebbe essere implicata nella fatica precoce che tali soggetti riferiscono come uno dei principali sintomi. Pertanto, nel tentativo di dare una risposta a tali quesiti, la risposta emodinamica all'evocazione dei metaboriflessi di un gruppo di soggetti affetti da MS è stata confrontata con quella di un gruppo soggetti sani.

### ***Materiali e metodi.***

La popolazione oggetto della sperimentazione era costituita da un gruppo di studio (Gruppo MS) ed un gruppo di controllo (Gruppo CTL).

Il gruppo MS era composto da 43 soggetti affetti da Sclerosi Multipla (18 femmine e 24 maschi, di età media  $\pm$  deviazione standard (SD) di  $43,7 \pm 12,2$  anni), i cui parametri antropometrici sono riassunti in Tabella 1.

Al loro reclutamento, i soggetti soddisfacevano i seguenti criteri di inclusione: 1) una diagnosi di MS definita in accordo con i criteri proposti da Poser e coll. (Poser et al. 1983); 2) età compresa tra i 18 ed i 65 anni; 3) nessuna ricaduta o accentuazione della patologia nelle 4 settimane precedenti i test; 4) assenza di altre patologie associate che potessero interferire con le funzioni autonome e/o malattie cardiopolmonari croniche. Sono stati esclusi soggetti sotto terapia con  $\beta$ -bloccanti, simpatomimetici, e/o antidepressivi triciclici. L'anamnesi di ogni soggetto è stata redatta con particolare attenzione ai sintomi di carattere cardiopolmonare e a disfunzioni autonome. È stata altresì svolto l'esame neurologico ed il grado di disabilità è stato valutato in accordo con la Kurtzke expanded disability status scale (EDSS), che ha rilevato un valore medio di  $3,5 \pm 0,9$  (in un intervallo tra 1,5 e 4,5) (Keselbrener et al. 2000, McDougall et al. 2003). Al momento della sperimentazione, 32 soggetti erano sotto terapia immunomodulatoria, principalmente con  $\beta$ -interferone e/o con natalizumab.

Il gruppo CTL era costituito da 21 soggetti sani (11 femmine e 10 maschi); dopo anamnesi e visita medica sono risultati esenti da patologie cardiache, metaboliche e neurologiche. I parametri antropometrici sono riassunti nella Tabella 1.

I volontari hanno rilasciato consenso scritto alla partecipazione allo studio, conforme alla Dichiarazione di Helsinki e approvato dal comitato etico locale.

### ***Protocollo sperimentale.***

Successivamente alla valutazione medica preliminare, tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un test cardiopolmonare standard (CPT) su cicloergometro a freno elettromagnetico (CUSTO Med, Ottobrunn, Germany) al fine di valutare le loro capacità fisiche. Il test consisteva in un costante incremento del carico lavorativo (10W/min o 30W/min, a seconda del sesso e dello stato di forma fisica), con partenza a 10W ad una frequenza di pedalata di 60 rpm, fino ad esaurimento ossia il momento in cui, per affaticamento muscolare, il soggetto non era più in grado di sostenere una frequenza di pedalata di almeno 50 rpm.

Durante il test sono stati rilevati il massimo carico lavorativo raggiunto ( $W_{max}$ ) e la frequenza cardiaca massima ( $HR_{max}$ ). Inoltre, è stato rilevato il Massimo Consumo di Ossigeno ( $VO_{2max}$ ), misurato mediante un analizzatore di gas (Ultima CPX, MedGraphics, St. Paul, MN).

Successivamente alla sessione CPT (dopo almeno 3 giorni, con un intervallo tra i 3 e i 7 giorni), ciascun soggetto è stato sottoposto, in forma randomizzata, al protocollo finalizzato all'evocazione dei metaboriflessi:

A) Sessione di ischemia muscolare post-esercizio (sessione PEMI): Tre minuti di riposo, seguiti da tre minuti di esercizio fisico con dinamometro (MAP 1.1, Kern, Balingen, Germany), tarato al 30% del massimale, ad una frequenza di 30 compressioni/min.

Al termine dell'esercizio seguivano tre minuti di recupero, in cui veniva occlusa la circolazione nel braccio che aveva eseguito l'esercizio.

L'occlusione è stata indotta gonfiando rapidamente ( $<3''$ ) un manicotto posto sul bicipite ad una pressione di 50 mmHg oltre la massima pressione sistolica rilevata durante l'esercizio.

Successivamente, rimosso il manicotto, trascorrevano altri tre minuti di recupero, per un totale di sei minuti di recupero.

Questo protocollo si è dimostrato valido per trattenere i metaboliti muscolari dell'arto impegnato nell'esercizio e stimolare i metaborecettori (Crisafulli et al. 2003, Crisafulli et al. 2013, Marongiu et al. 2013).

B) Sessione di controllo del recupero post esercizio (sessione CER): veniva impiegato lo stesso protocollo di esercizio e recupero utilizzato nel PEMI, eseguito con un recupero di sei minuti senza occlusione.

Tra l'esecuzione di una sessione e l'altra è trascorso almeno 24 ore, con un intervallo tra 1 e 7 giorni.

Le valutazioni mediche preliminari, i test di valutazione cardiopolmonare e i protocolli di evocazione dei metaboriflessi (PEMI e CER), sono stati eseguiti presso il Laboratorio di Fisiologia degli Sport del Dipartimento di Scienze Mediche dell'Università degli studi di Cagliari.

Tutte le prove sono state effettuate in un ambiente condizionato, con temperatura di 22°C ed umidità relativa del 50%.

Durante tutte le fasi della sperimentazione, i parametri emodinamici sono stati misurati mediante un cardiografo ad impedenza (NCCOM 3, BoMed Inc., Irvine, CA), che ha permesso le misurazioni cardiodinamiche continue e non invasive. È un dispositivo già ampiamente utilizzato in altre sperimentazioni con analoghe caratteristiche (Crisafulli et al. 2003, 2007, 2008).

Mediante l'uso di un registratore digitale, (ADInstruments, PowerLab 8sp, Castle Hill, Australia) sono state memorizzate le tracce analogiche dell'elettrocardiogramma, impedenza toracica (Z0) e la sua prima derivata, provenienti dal NCCOM 3.

Successivamente, applicando l'equazione di Sramek-Bernstein (Bernstein DP 1986), dalle tracce dell'impedenza trans-toracica memorizzate è stata determinata la SV battito per battito.

Inoltre, dalle tracce dell'impedenza, è stato misurato il rapporto tra il periodo di pre-eiezione e il tempo di eiezione ventricolare (PEP/VET), così come illustrato in precedenti studi (Crisafulli et al. 2003, 2007). Tale rapporto rappresenta un indice indiretto della performance miocardica (Lewis et al. 1977). Altresì, sottraendo dal periodo di ciclo cardiaco totale la somma di PEP e VET, è stato ottenuto il tempo diastolico (DT). Dal rapporto tra SV e DT si è ottenuto il tasso di riempimento ventricolare (VFR), come misura indicativa del flusso medio diastolico (Marongiu et al. 2013).

La HR è stata ottenuta con la rilevazione dell'intervallo R-R delle tracce dell'elettrocardiogramma e dal prodotto tra questa e la gittata sistolica si è potuta calcolare la CO.

I soggetti inoltre avevano posizionato nel braccio non utilizzato nell'esercizio uno sfigmomanometro manuale standard, per la stima della pressione sanguigna sistolica (SBP) e diastolica (DBP), misurate durante tutta la durata del test dallo stesso medico. Per calcolare la MBP è stata utilizzata la formula descritta da Moran e coll. (Moran et al. 1995), che tiene conto dei cambiamenti durante le fasi diastoliche e sistoliche.

Le SVR sono state calcolate attraverso il prodotto tra il rapporto MBP/CO e 80, considerato 80 come fattore di conversione per ottenere unità di resistenza standard.



### ***Analisi dei dati.***

Le differenze nelle caratteristiche antropometriche tra i due gruppi di soggetti sono state ricavate mediante t test per dati non appaiati. Le variabili di  $W_{\max}$ ,  $HR_{\max}$  e  $VO_{2\max}$ , riferite ai valori medi  $\pm$  deviazione standard, raggiunte dai soggetti durante le prove CPT sono state calcolate sulla media degli ultimi 15 sec di esercizio e le differenze tra i due gruppi in tali variabili sono state stimate attraverso le medie del t test per dati non appaiati.

Durante i test PEMI e CER, le risposte emodinamiche sono state mediate ogni minuto. Per ciascun parametro, sono stati presi in considerazione i valori al terzo minuto di recupero dall'esercizio (momento in cui ci si aspetta che sia stata raggiunta un condizione di equilibrio).

I parametri emodinamici, confrontati tra i gruppi (MS e CTL) e tra i protocolli (PEMI e CER), sono stati comparati attraverso l'analisi della varianza a due vie (ANOVA) per misure non ripetute, seguita dal Tukey post-hoc, quando appropriato. Inoltre, sono state calcolate le differenze per ogni parametro tra le due prove PEMI e CER. Tale procedura ha consentito di valutare la risposta causata dall'attivazione dei metaboriflessi (Crisafulli et al. 2013), analizzata dal t test per dati non appaiati. L'analisi statistica è stata compiuta utilizzando un software disponibile in commercio (GraphPad Prism, La Jolla, CA).

La significatività statistica è stata fissata per un valore di  $p < 0.05$  in tutti i casi.

Tutti i soggetti hanno completato il protocollo e nessuno di loro ha lamentato fastidi o dolori insopportabili nel tempo trascorso con l'occlusione del braccio o durante il test incrementale. La tabella 1 mostra i dati antropometrici dei due gruppi, ove non si riscontra alcuna differenza tra età, altezza, peso e Indice di Massa Corporea (BMI), mentre è stata osservata una significativa differenza relativamente ai parametri del CPT. Nel dettaglio, il gruppo MS ha raggiunto dei valori inferiori di  $W_{\max}$ ,  $HR_{\max}$  e  $VO_{2\max}$ . La tabella 2 riporta i valori medi di tutti i parametri emodinamici rilevati durante il periodo di riposo precedente l'attività con dinamometro. I dati statistici

evidenziano valori più elevati al riposo di HR, MAP, PEP/VET e SVR nel gruppo MS confrontato con il gruppo CTL, mentre SV, CO e VFR risultano inferiori.

Le Figure 1-3 mostrano i parametri cardiovascolari e le risposte ottenute da ciascun gruppo nel corso del terzo minuto di recupero delle sessioni PEMI e CER. La Figura 1 (quadro A) mostra quanto la MBP, nel gruppo MS, fosse significativamente più alta che nel gruppo CTL. In particolare, tale parametro ha raggiunto valori di  $97.2 \pm 11.9$  e  $90.7 \pm 10.7$  mmHg rispettivamente per le sessioni PEMI e CER nel gruppo MS, mentre il gruppo CTL presentava valori di  $92.1 \pm 8.8$  e  $83.7 \pm 8$  mmHg, rispettivamente per le sessioni PEMI e CER. La condizione ha prodotto una significativa differenza all'interno dei gruppi, con il test PEMI che induce un aumento della MBP più marcato rispetto al test CER. Il protocollo PEMI ha prodotto un aumento della MBP in misura simile in entrambi i gruppi, come si evince dalla differenza non significativa mostrata nel quadro B della Figura 1. Il quadro C della Figura 1 mostra che l'HR viene influenzata dalla MS, con i soggetti di tale gruppo che presentavano livelli più alti di HR rispetto ai soggetti del gruppo CTL, ma non vi erano differenze nella risposta dell'HR tra i due gruppi (quadro D). La SV (quadro E) era più alta nel gruppo CTL (con dei valori medi tra  $83.2 \pm 22.6$  ml durante il CER e  $89.3 \pm 26.8$  ml durante il PEMI) piuttosto che nel gruppo MS (in cui i valori medi erano tra  $62.6 \pm 19$  ml durante il CER e  $62.0 \pm 19.0$  durante il PEMI) (quadro F).

Come conseguenza della risposta di HR e SV, CO (Figura 2, quadro A) era maggiore tra il gruppo CTL rispetto al gruppo MS.

Altresì, veniva rilevato che la risposta della CO è stata significativamente influenzata dalla MS, visto che tale parametro era più elevato nel gruppo CTL (quadro B). SVR (Figura 2, quadro C) era significativamente più elevata nel gruppo MS rispetto al CTL ( $1929.1 \pm 838$  dyne $\cdot$ s $^{-1}$  e  $1791.5 \pm 764.9$  dyne $\cdot$ s $^{-1}$  rispettivamente nelle sessioni PEMI e CER del gruppo MS, contro i  $1320.7 \pm 354.4$  dyne $\cdot$ s $^{-1}$  and  $1329 \pm 384$  dyne $\cdot$ s $^{-1}$  rispettivamente nelle sessioni PEMI e CER del gruppo CTL). La risposta di tale parametro (quadro D) era anch'essa significativamente influenzata dalla patologia, visto che è cresciuta solo nel gruppo MS, mentre è rimasta sostanzialmente invariata nel gruppo CTL.

Il quadro A della Figura 3 mostra differenze nel rapporto PEP/VET tra i gruppi, dove è più alto nel MS rispetto al CTL. Peraltro, in ciascun gruppo, durante il PEMI, tale parametro risultava inferiore rispetto al CER. La risposta del parametro (quadro B) era simile tra i gruppi. In conclusione, VFR era più alto nel gruppo CTL che nel gruppo MS (quadro C). La risposta di tale variabile nel gruppo CTL era più elevata che nel gruppo MS (quadro D).

## ***Discussione.***

Il presente studio intendeva indagare se soggetti affetti da Sclerosi Multipla mostrassero una compromissione della capacità di innalzare la pressione sanguigna in risposta all'evocazione dei metaboriflessi. Per quanto in alcuni studi condotti in tali pazienti sia stata riscontrata una riduzione dell'attività simpatica durante l'esercizio fisico (Cohen et al. 1989, Flachenecker et al. 2001, Flachenecker et al. 2003, Keselbrener et al. 2000, Ng et al. 2000, Pepin et al. 1996), la nostra argomentazione si basava sul fatto che un test in grado di indurre l'attivazione simpatica avrebbe rivelato segnali precoci di una ridotta attività simpatica. A tale riguardo è stato utilizzato il protocollo PEMI al fine di stimolare i metaboriflessi, causare conseguentemente un aumento del tono simpatico ed indurre un incremento della pressione sanguigna (Crisafulli et al. 2003, 2007, Nishiyasu et al. 1994, O'Leary et al. 1999, O'Leary et al. 2004). La normale risposta emodinamica standard al protocollo PEMI consiste in un incremento della MBP rispetto ai valori a riposo (Crisafulli et al. 2003, 2006, 2007, 2008, O'Leary et al. 1999), che può essere ottenuta attraverso meccanismi di vasocostrizione o flusso-mediati, o entrambi (Nóbrega et al. 2014). Contrariamente all'ipotesi iniziale, i risultati del presente studio non supportano il concetto che i pazienti affetti da MS soffrano di una forma di incapacità ad incrementare adeguatamente la pressione sanguigna in risposta alla stimolazione dei metaboriflessi. Oltretutto, i valori del parametro HR non mostrano alcuna differenza tra i gruppi MS e CTL, indicando così che i pazienti MS fossero in grado di incrementare adeguatamente la loro attività simpatica durante il metaboriflesso.

È stato riscontrato che questi pazienti erano in grado di incrementare la MBP nella stessa misura dei soggetti CTL (p. es. circa 7-8 mmHg di incremento medio rispetto al protocollo CER), come osservabile (Figura 1, quadro B) dalla risposta del parametro MBP durante il protocollo PEMI. Pertanto, la loro capacità ad incrementare la pressione sanguigna è apparsa intatta. Altresì, nel gruppo MS, durante il protocollo PEMI, vi era un aumento delle SVR, rafforzando l'ipotesi che l'attività simpatica fosse intatta, poiché questo tipo di risposta generalmente è conseguente ad un

aumento del tono simpatico [Iellamo et al. 1999, Nishiyasu et al. 1994]. Effettivamente, una ridotta attività simpatica comporterebbe un decremento della capacità di aumentare il tono arteriolare, con conseguente incapacità di migliorare le SVR. A titolo esemplificativo, una ridotta capacità a raggiungere una vasocostrizione arteriolare simpatico-mediata è stata ritenuta responsabile di una ridotta risposta pressoria al protocollo PEMI in soggetti affetti da diabete di tipo 1 senza evidenti segni di disautonomia (Roberto et al. 2012). Inoltre, la performance cardiaca (ottenuta dall'inverso della formula  $PEP/VET$ ) presentava analoghi miglioramenti in risposta al protocollo PEMI in entrambi i gruppi. Tale manifestazione era probabilmente una conseguenza dell'aumento del tono simpatico metaboriflesso-mediata (Crisafulli et al. 2003, 2007), avvalorando indirettamente la tesi che i soggetti affetti da MS possono presentare una normale attivazione del sistema nervoso autonomo. D'altra parte, c'è da tener conto che il rapporto  $PEP/VET$  fornisce una stima indiretta della performance cardiaca e tale parametro risponde al pre-carico ventricolare mediato dal reclutamento del meccanismo di Frank-Starling.

Nel loro insieme, tali risultati sembrerebbero contrastare con la presenza di eventuali perdite di risposta autonoma nei soggetti affetti da MS. Ma, di contro, suggerirebbero che la risposta emodinamica al protocollo PEMI era simile a quella mostrata da pazienti con malattie cardiovascolari e metaboliche, ove la pressione sanguigna attesa viene raggiunta prevalentemente attraverso la vasocostrizione (Choi et al. 2013, Crisafulli et al. 2007, Dipla et al. 2010). Sia nella popolazione di soggetti sani che nei pazienti, l'effetto più evidente dell'attivazione dei metaboriflessi mediante il protocollo PEMI è l'innalzamento della MBP, la quale non ritorna alla condizione pre-esercizio (Crisafulli et al. 2003, 2011, O'Leary et al. 1999). È accertato che nei soggetti sani l'attivazione dei metaboriflessi comporta un miglioramento della funzione ventricolare accrescendo la performance del miocardio, aumentando in tal modo la SV. Questo aspetto implica che in tale popolazione il meccanismo di mediazione del flusso riveste un ruolo primario nell'aumento della MBP indotta dal PEMI. Di contro, nei pazienti con problematiche circolatorie

(per esempio scompenso cardiaco, ipertensione e sindrome metabolica), la vasocostrizione arteriolare appare come la principale determinante nella risposta pressoria.

Vi è un accordo diffuso che la marcata vasocostrizione in tali pazienti sia la conseguenza di un accresciuto tono simpatico (Choi et al. 2013, Dipla et al. 2010, Piepoli et al. 2014). Altresì, nei soggetti affetti da insufficienza cardiaca, tale fenomeno è attribuibile, almeno parzialmente, come conseguenza di uno stato cronicizzato di decondizionamento, causa a sua volta di una ipo-perfusione tissutale durante la contrazione muscolare e di modificazioni metaboliche e strutturali. La marcata vasocostrizione in risposta ai metaboriflessi può danneggiare la funzionalità muscolare, innescando un circolo vizioso che pregiudicherebbe un metabolismo muscolare già a sua volta compromesso (Piepoli et al. 2014).

I risultati del presente lavoro, effettuato con soggetti affetti da MS, nella risposta ai metaboriflessi mostrano uno scenario non dissimile da quest'ultimo caso, ossia un marcato incremento delle SVR dovuto al decondizionamento fisico. A supporto di tale considerazione, esistono studi precedenti che mostrano come in soggetti affetti da MS si verifichi, come conseguenza del decondizionamento, una modificazione nelle proporzioni di composizione delle fibre muscolari, dal I tipo al II tipo (Dalgas et al. 2008). Inoltre, altri studi indicano come il decondizionamento possa svolgere su tale popolazione un ruolo prevalente nella ridotta tolleranza allo sforzo (Rampello et al. 2007). Il fatto che i soggetti reclutati per il presente studio fossero decondizionati si evince dai ridotti valori rilevati del  $VO_{2max}$  e dal massimo carico lavorativo raggiunto durante il CPT (cfr tabella 1). Pertanto, il decondizionamento e la sedentarietà conseguenti alla disabilità e alla percezione di fatica dei soggetti affetti da MS potrebbe, almeno parzialmente, essere responsabile del marcato aumento della vasocostrizione (ossia delle SVR) e dell'alterata regolazione cardiovascolare manifestata da tali soggetti durante esercizio fisico. Questo elemento potrebbe ulteriormente indurre un circolo vizioso similmente a quello manifestato dai soggetti affetti da insufficienza cardiaca (Piepoli et al. 2014).

Per quanto è risultato nel presente lavoro, si potrebbe dedurre che maggiore è lo stato di disabilità, maggiore dovrebbe essere il disuso muscolare e conseguentemente sarebbe più accentuato l'effetto del decondizionamento sull'alterazione della regolazione cardiovascolare. Altresì, potrebbe essere vantaggioso verificare se tale alterazione possa venir attenuata da un aumento dell'attività motoria, indotto mediante idoneo protocollo di esercizio fisico.

A differenza di quanto sia emerso dal presente lavoro, in cui non viene osservata una ridotta risposta pressoria nei soggetti affetti da MS, altri studi hanno riscontrato invece che i soggetti affetti da MS presentavano una ridotta risposta pressoria ad un esercizio di carattere isometrico rispetto ad una popolazione sana (Ng et al. 2000).

Tali autori hanno attribuito questo aspetto ad una ridotta produzione di metaboliti muscolari durante l'esercizio e non ad una disautonomia nella regolazione cardiovascolare. Fornire una spiegazione definitiva di questi risultati contrastanti è complesso. Probabilmente, il coinvolgimento di muscoli differenti (i pazienti compivano flessioni dorsali del piede) e il tipo di esercizio eseguito (dinamico vs isometrico) potrebbe spiegare parzialmente questa variabilità di risultati.

È altresì da evidenziare il fatto che i pazienti in questo studio erano compresi tra 1,5 e 4,5 nella scala EDSS. Quindi, non è possibile risalire al fatto che, durante l'evocazione dei metaboriflessi, pazienti con alti livelli di disabilità mostrino differenti segni di alterata regolazione cardiovascolare.

In conclusione, i risultati del presente studio non supportano l'ipotesi che i pazienti affetti da MS manifestino alcun segno di deficit simpatico durante l'attivazione del riflesso metabolico. Piuttosto, la risposta emodinamica a tale riflesso sostiene l'ipotesi che la risposta cardiovascolare di tali soggetti è basata principalmente sulla vasocostrizione, conseguente probabilmente ad decondizionamento cronico e una riduzione dell'attività muscolare. Sarebbe rilevante verificare se questa condizione emodinamica possa essere migliorata attraverso adeguati programmi di esercizio fisico.

L'esercizio fisico produce degli effetti benefici su varie patologie, come riportato da numerosi studi. E' stata riscontrata l'efficacia nell'insufficienza cardiaca, nella cardiopatia ischemica cronica,

l'ipertensione, il diabete ed altre patologie metaboliche (Pedersen et al. 2015). Per quanto riguarda le patologie neurologiche, sono stati dimostrati la regressione dei sintomi ed il miglioramento della qualità della vita. Tra tali patologie, anche la MS sembra essere influenzata positivamente. Anche se i risultati circa gli effetti sulla qualità della vita di tali pazienti sono esigui (Dalgas et al. 2008, Pedersen et al. 2015, Rampello et al. 2007).

È comunque indubbio che un intervento di carattere motorio sia in grado di accrescere la capacità di carico lavorativo nei pazienti affetti da MS, così come perseguire uno stile di vita attivo si rivela un utile strumento per contrastare le conseguenze negative della MS in termini di capacità fisica, percezione della fatica e stato di forma. Nonché, di contro, supporta il concetto che uno stile di vita sedentario influenzi negativamente la patologia e che tali abitudini riducano le capacità fisiche e le abilità a svolgere le routine quotidiane (Andreasen et al. 2011, Dalgas et al. 2008, Petajan et al. 1999, Ponichtera-Mulcare et al. 1993, Rampello et al. 2007).



***Foto.***

**Foto 1.** Cicloergometro a freno elettromagnetico (CUSTO Med, Ottobrunn, Germany) e soggetto impegnato all'effettuazione del test incrementale.



**Foto 2.** Analizzatore di gas (Ultima CPX, MedGraphics, St. Paul, MN).



**Foto 3.** Cardiografo ad impedenza (NCCOM 3, BoMed Inc., Irvine, CA) e registratore digitale, (ADInstruments, PowerLab 8sp, Castle Hill, Australia).



**Foto 4.** Esecuzione dei protocolli PEMI E CER.



***Tabelle e figure.***

**Tabella 1.** Caratteristiche antropometriche, parametri cardiometabolici e meccanici della popolazione di studio. Valori del massimo carico lavorativo raggiunto ( $W_{max}$ ), della frequenza cardiaca massima ( $HR_{max}$ ) ed il Massimo Consumo di Ossigeno ( $VO_{2max}$ ). Valori medi  $\pm$  SD. La significatività statistica è fissata per  $P < 0,05$ .

|                                                           | MS<br>N=43       | CTL<br>N=21      | <i>P</i> value |
|-----------------------------------------------------------|------------------|------------------|----------------|
| <b><i>Età (a)</i></b>                                     | 43.7 $\pm$ 11.2  | 39.5 $\pm$ 12    | <i>P</i> >0.05 |
| <b><i>Peso (kg)</i></b>                                   | 64.7 $\pm$ 15.2  | 61.4 $\pm$ 10.6  | <i>P</i> >0.05 |
| <b><i>Altezza (cm)</i></b>                                | 166.9 $\pm$ 8.4  | 166 $\pm$ 9.2    | <i>P</i> >0.05 |
| <b><i>BMI</i></b>                                         | 23.1 $\pm$ 4.4   | 22 $\pm$ 2.5     | <i>P</i> >0.05 |
| <b><i>W<sub>max</sub> (W)</i></b>                         | 98.3 $\pm$ 44.1  | 191.4 $\pm$ 19.5 | <i>P</i> <0.05 |
| <b><i>HR<sub>max</sub> (bpm)</i></b>                      | 140.4 $\pm$ 21.5 | 169.4 $\pm$ 5.6  | <i>P</i> <0.05 |
| <b><i>VO<sub>2 max</sub> (ml/kg·min<sup>-1</sup>)</i></b> | 21.6 $\pm$ 8.9   | 36.4 $\pm$ 4.6   | <i>P</i> <0.05 |

**Tabella 2.** Parametri emodinamici misurati nella condizione pre-test nei momenti sperimentali PEMI e CER per i gruppi MS e CTL. Valori medi  $\pm$  SD. La significatività statistica è fissata per  $P < 0,05$ .

|                                            | MS                 | CTL                | <i>P</i> Value<br>group effect | <i>P</i> Value<br>condition effect |
|--------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| <b><i>HR (bpm)</i></b>                     |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 74.5 $\pm$ 10.5    | 68.2 $\pm$ 9.7     | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 73.7 $\pm$ 11.2    | 68.6 $\pm$ 11.5    |                                |                                    |
| <b><i>SV (ml)</i></b>                      |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 61.2 $\pm$ 16.5    | 82.5 $\pm$ 22.6    | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 60.5 $\pm$ 17.6    | 79.7 $\pm$ 24.4    |                                |                                    |
| <b><i>CO (l·min<sup>-1</sup>)</i></b>      |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 4.5 $\pm$ 1.2      | 5.6 $\pm$ 1.7      | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 4.4 $\pm$ 1.3      | 5.4 $\pm$ 1.6      |                                |                                    |
| <b><i>PEP/VET</i></b>                      |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 0.58 $\pm$ 0.19    | 0.42 $\pm$ 0.11    | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 0.58 $\pm$ 0.20    | 0.45 $\pm$ 0.10    |                                |                                    |
| <b><i>MBP (mmHg)</i></b>                   |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 89.5 $\pm$ 10.9    | 84.5 $\pm$ 10.8    | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 90.9 $\pm$ 10.5    | 85.5 $\pm$ 10.1    |                                |                                    |
| <b><i>SVR (dyne·s·cm<sup>-5</sup>)</i></b> |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 1729.2 $\pm$ 662.5 | 1307 $\pm$ 403     | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 1815 $\pm$ 689.5   | 1394.7 $\pm$ 467.1 |                                |                                    |
| <b><i>VFR (ml·s<sup>-1</sup>)</i></b>      |                    |                    |                                |                                    |
| Rest before PEMI                           | 148.39 $\pm$ 51.12 | 179.98 $\pm$ 66.22 | <i>p</i> < 0.05                | NS                                 |
| Rest before CER                            | 144.98 $\pm$ 59.62 | 173.82 $\pm$ 62.36 |                                |                                    |



Figure 1

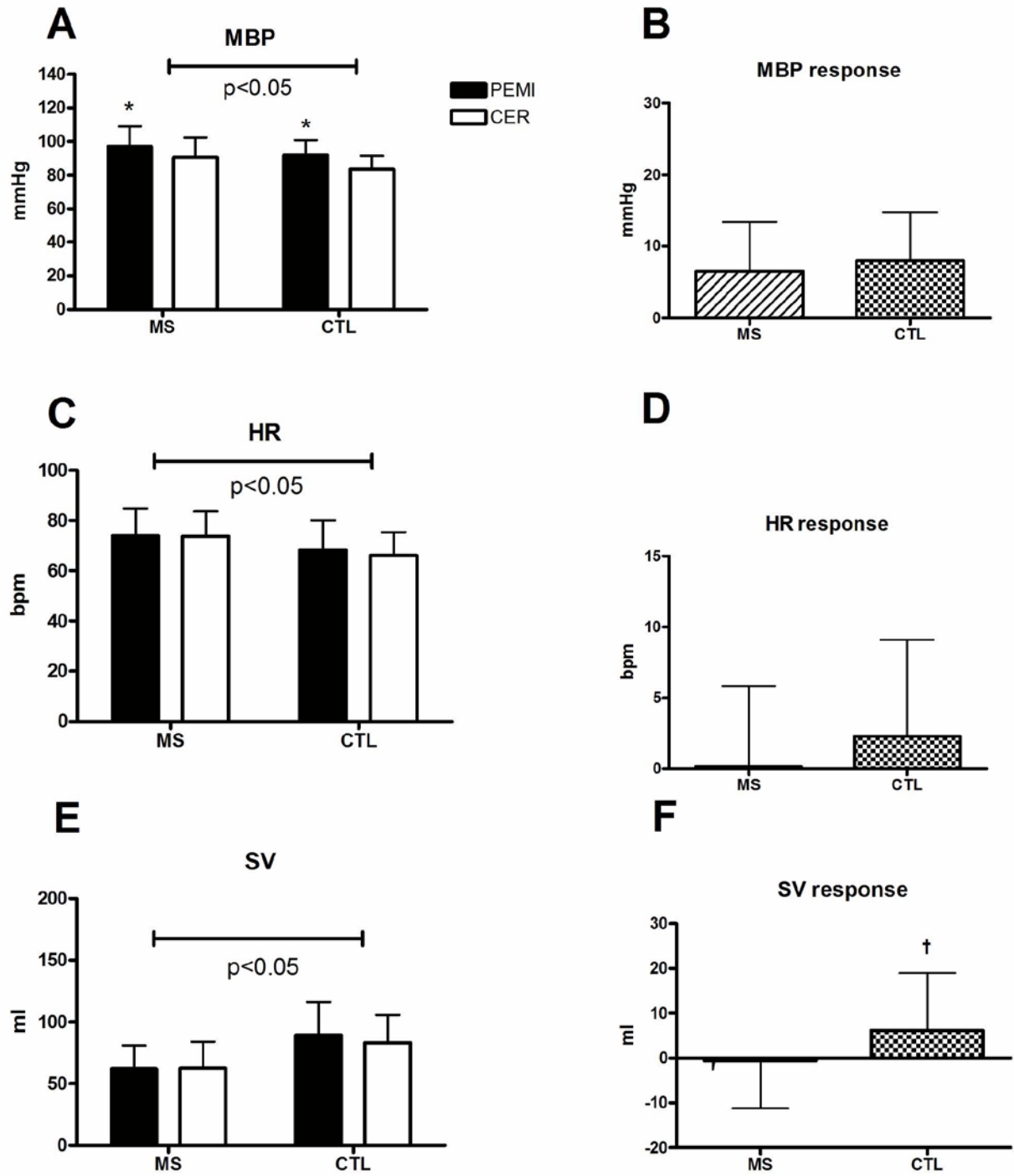


Figure 2

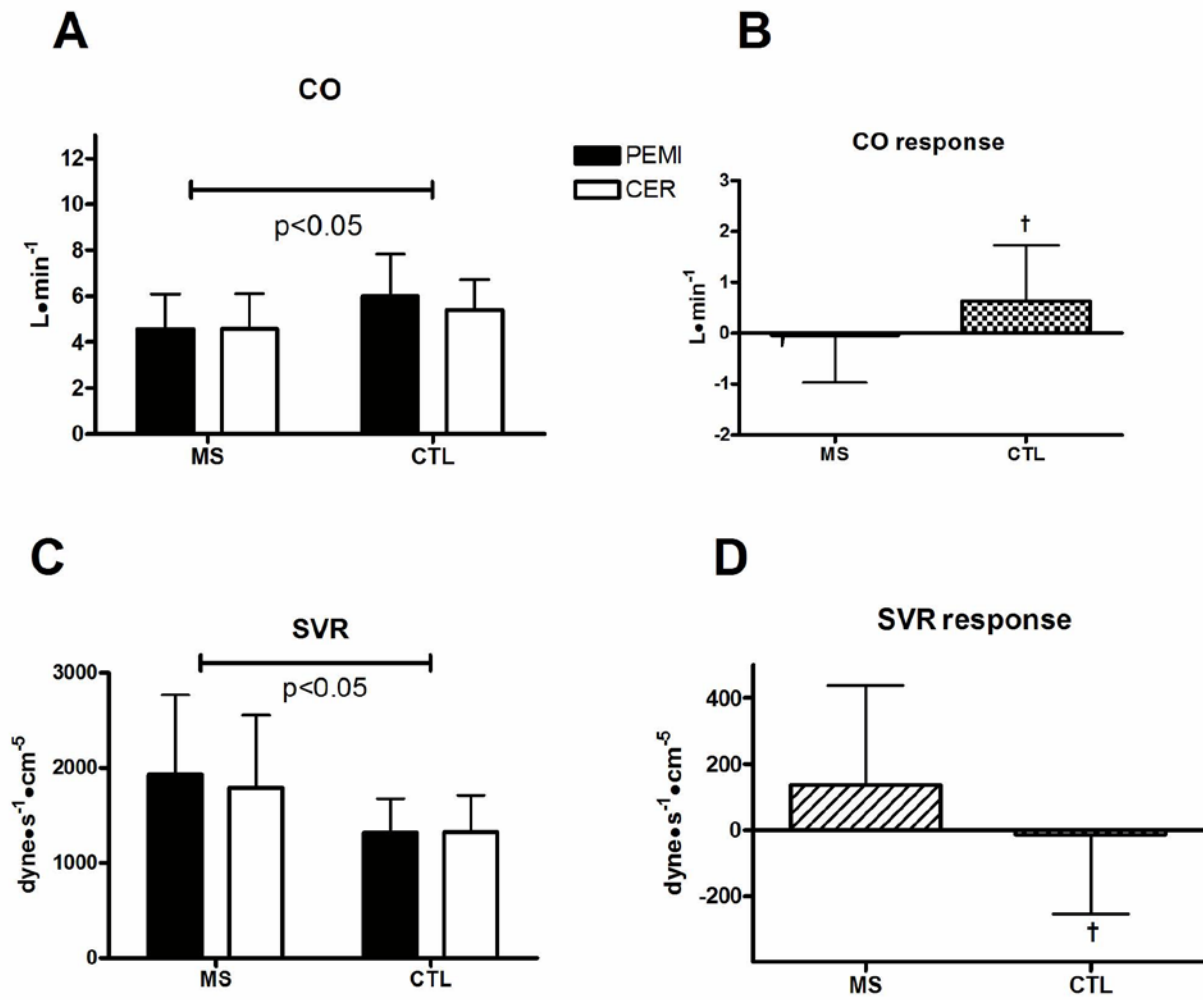
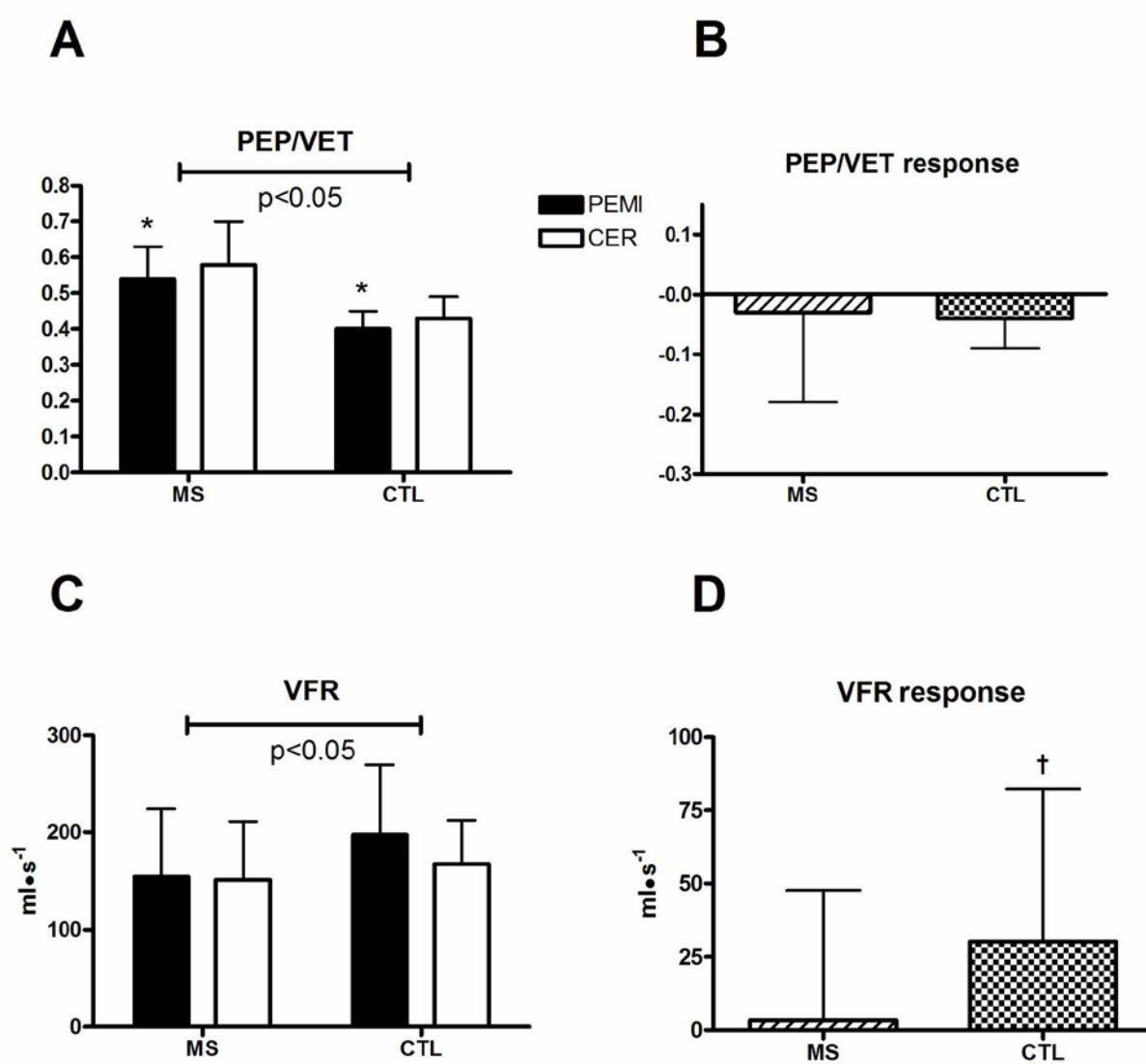
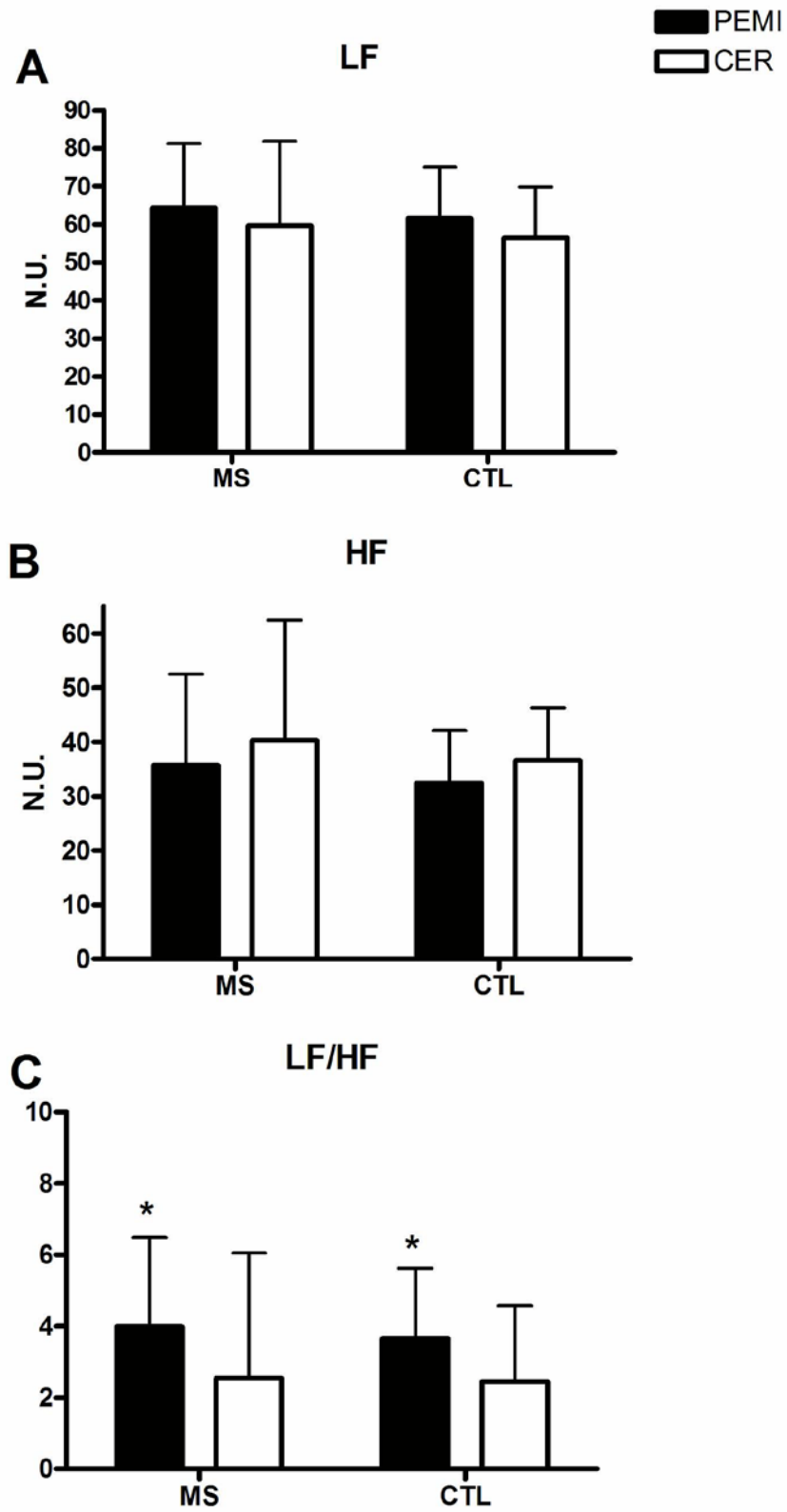


Figure 3



**Figure 4**



## **Bibliografia**

- Amann M, Runnels S, Morgan DE, Trinity JD, Fjeldstad AS, Walter Wray D, Reese VR, Richardson RS. On the contribution of group III and IV muscle afferents to the circulatory response to rhythmic exercise in humans. *J Physiol* 2011; 589: 3855-3866.
- Andreassen AK, Stenager E, Dalgas U. The effect of exercise therapy on fatigue in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17: 1041-54.
- Bernstein DP. A new stroke volume equation for Thoracic Electrical Bioimpedance: Theory and rationale. *Crit Care Med* 1986; 14: 904-909.
- Chia YW, Fowler CJ, Kamm MA, Henry MM, Lemieux MC, Swash M. Prevalence of bowel dysfunction in patients with multiple sclerosis and bladder dysfunction. *J Neurol* 1995; 242: 105-108.
- Choi HM, Stebbins CL, Lee O, Nho H, Lee J, Chun J, Kim K, Kim J. Augmentation of the exercise pressor reflex in pre-hypertension: roles of the muscle metaboreflex and mechanoreflex. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38: 209-215.
- Cohen JA, Hossack KF, Franklin GM. Multiple sclerosis patients with fatigue: relationship among temperature regulation, autonomic dysfunction, and exercise capacity. *J Neurol Rehabil* 1989; 3: 193–198.
- Crisafulli A, Concu A. Exercise-induced cardiovascular adjustments by muscle receptors stimulation. In: *Focus on Exercise and Health Research*. Hauppauge, NY: Nova Science, 2006, p. 181–201.
- Crisafulli A, Milia R, Lobina A, Caddeo M, Tocco F, Concu A, Melis F. Hemodynamic effect of metaboreflex activation in men after running above and below the velocity of the anaerobic threshold. *Exp Physiol* 2008; 93: 447-457.
- Crisafulli A, Piras F, Filippi M, Piredda C, Chiappori P, Melis F, Milia R, Tocco F, Concu A.

Role of heart rate and stroke volume during muscle metaboreflex-induced cardiac output increase: differences between activation during and after exercise. *J Physiol Sci* 2011; 61: 385–394.

- Crisafulli A, Salis E, Tocco F, Melis F, Milia R, Pittau G, Caria MA, Solinas R, Meloni L, Pagliaro P, Concu A. Impaired central hemodynamic response and exaggerated vasoconstriction during muscle metaboreflex activation in heart failure patients. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2007; 292: H2988-H2996.
- Crisafulli A, Scott AC, Wensel R, Davos CH, Francis DP, Pagliaro P, Coats AJ, Concu A, Piepoli M. Muscle metaboreflex-induced increases in stroke volume. *Med Sci Sport Exerc* 2003; 35: 221-228.
- Crisafulli A, Tocco F, Milia R, Angius L, Pinna M, Olla S, Roberto S, Marongiu E, Porcu M, Concu A. Progressive improvement in hemodynamic response to muscle metaboreflex in heart transplant recipients. *J Appl Physiol* 2013; 114: 421-427.
- Dalgas U, Stenager E, Ingemann-Hansen T. Multiple sclerosis and physical exercise: recommendations for the application of resistance-, endurance- and combined training. *Mult Scler* 2008; 14: 35-53.
- de Sezé M, Ruffion A, Denys P, Joseph PA, Perrouin-Verbe B, GENULF. The neurogenic bladder in multiple sclerosis: review of the literature and proposal of management guidelines. *Mult Scler* 2007; 13: 915-928.
- Dipla K, Zafeiridis A, Koidou I, Geladas N, Vrabas IS, Altered hemodynamic regulation and reflex control during exercise and recovery in obese boys. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2010; 299: H2090-H2096.
- Flachenecker P, Reiners K, Krauser M, Wolf A, Toyka K. Autonomic dysfunction in multiple sclerosis is related to disease activity and progression of disability. *Mult Scler* 2001; 7: 327-334.
- Flachenecker P, Rufer A, Bihler I, Hippel C, Reiners K, Toyka KV, Kesselring J. Fatigue in MS

is related to sympathetic vasomotor dysfunction. *Neurology* 2003; 61: 851–853.

- Hennessy A, Robertson NP, Swingler R, Compston DAS. Urinary, fecal and sexual dysfunction in patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 1999; 246:1027-1032.
- Higginbotham MB, Morris KG, Williams RS, McHale PA, Coleman RE, Cobb FR. Regulation of stroke volume during submaximal and maximal upright exercise in normal man. 1986 Feb; 58(2):281-91.
- Iellamo F, Di Rienzo M, Lucini D, Legramante JM, Pizzinelli P, Castiglioni P, Pigozzi F, Pagani M, Parati G. Muscle metaboreflex contribution to cardiovascular regulation during dynamic exercise in microgravity: insights from mission STS-107 of the space shuttle Columbia. *J Physiol.* 2006 May 1;572(Pt 3):829-38.
- Iellamo F, Legramante JM, Raimondi G, Peruzzi G; Baroreflex control of sinus node during dynamic exercise in humans: effects of central command and muscle reflexes. *Am J Physiol.* 1997 Mar; 272(3 Pt 2):H1157-64.
- Iellamo F, Pizzinelli P, Massaro M, Raimondi G, Peruzzi G, Legramante JM. Muscle metaboreflex contribution to sinus node regulation during static exercise. *Circulation* 1999; 100: 27–32.
- Keselbrener L, Akselrod S, Ahiron A, Eldar M, Barak Y, Rotstein Z. Is fatigue in patients with multiple sclerosis related to autonomic dysfunction? *Clin Auton Res* 2000; 10: 169-175.
- Kim JK, Sala-Mercado JA, Hammond RL, Rodriguez J, Scislo TJ, O'Leary DS. Attenuated arterial baroreflex buffering of muscle metaboreflex in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 Dec; 289(6):H2416-23.
- Koba S, Gao Z, Sinoway LI; Oxidative stress and the muscle reflex in heart failure. *J Physiol.* 2009 Nov 1; 587(Pt 21):5227-37.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444-1452.

- Labuz-Roszak B, Pierzchala K. Difficulties in the diagnosis of autonomic dysfunction in multiple sclerosis. *Clin Auton Res* 2007; 17: 375-377.
- Lensch E, Jost H. Autonomic disorders in multiple sclerosis. *Autoim Dis* 2011; 2011: article ID: 8034841.
- Lewis RP, Rittgers SE, Forester WF, Boudoulas A. A critical review of the systolic time intervals. *Circulation* 1977; 56: 146-158.
- Marongiu E, Piepoli M, Milia R, Angius L, Pinna M, Bassareo P, Roberto S, Tocco F, Concu A. Effects of acute vasodilation on the hemodynamic response to muscle metaboreflex. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2013; 305: H1387-H1396.
- McDougall AJ, McLeod JG. Autonomic nervous system function in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2003; 215: 79-85.
- Mollaouğlu M, Üstün E. Fatigue in multiple sclerosis patients. *J Clin Nurs* 2009; 18: 1231-1238.
- Moran D, Epstein Y, Keren G, Laor A, Sherez J, Shapiro Y. Calculation of mean arterial pressure during exercise as a function of heart rate. *Appl Human Sci* 1995; 14: 293-295.
- Ng AV, Dao HT, Miller RG, Gelinas DF, Kent-Braun JA. Blunted pressor and intramuscular metabolic responses to voluntary isometric exercise in multiple sclerosis. *J Appl Physiol* 2000; 88: 871-880.
- Nishiyasu T, Nobusuke T, Morimoto K, Nishiyasu M, Yamaguchi Y, Murakami N. Enhancement of parasympathetic cardiac activity during activation of muscle metaboreflex in humans. *J Appl Physiol* 1994; 77: 2778–2783.
- Nóbrega ACL, O'Leary DS, Silva BM, Marongiu E, Piepoli MF, Crisafulli A. Neural regulation of cardiovascular response to exercise: role of central command and peripheral afferents. (review). *Biomed Res Int* 2014; Article ID 478965, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/478965>.
- O'Leary DS, Augustyniak RA, Ansorge EJ, Collins HL. Muscle metaboreflex improves O<sub>2</sub> delivery to ischemic active skeletal muscle. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1999; 276:



H1399–H1403.

- O'Leary DS, Sala-Mercado JA, Augustyniak RA, Hammond RL, Rossi NF, Ansorge EJ. Impaired muscle metaboreflex-induced increases in ventricular function in heart failure. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2004; 287: H2612-H2618.
- O'Leary DS, Rossi NF, Churchill PC. Muscle metaboreflex control of vasopressin and renin release. *Am J Physiol.* 1993 May; 264(5 Pt 2):H1422-7.
- Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports.* 2015; 25 Suppl 3: 1-72.
- Petajan JH, White AT. Recommendations for physical activity in patients with multiple sclerosis. *Sports Med.* 1999; 27: 179-191.
- Pepin EB, Hicks RW, Spencer MK, Tran ZV, Jackson CG. Pressor response to isometric exercise in patients with multiple sclerosis. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28: 656–660.
- Perini R, Veicsteinas A. Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions, *Eur J Appl Physiol* 2003; 90: 317-325.
- Piepoli MF, Crisafulli A. Pathophysiology of human heart failure: importance of skeletal muscle myopathy and reflexes. *Exp Physiol* 2014; 99: 609-615.
- Piepoli MF, Dimopoulos K, Concu A, Crisafulli A. Cardiovascular and ventilatory control during exercise in chronic heart failure: role of muscle reflexes. *Int J Cardiol.* 2008 Oct 30;130(1):3-10.
- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227-31.
- Ponichtera-Mulcare JA. Exercise and multiple sclerosis. *Med Sci Sports Exerc.* 1993; 25: 451-65.
- Raimondi G, Iellamo F, Legramante JM, Massaro M, Cassarino S, Micozzi F, Peruzzi G. Spontaneous baroreflex control of heart rate during chronic tandropril therapy. *Cardiologia.* 1998

Apr; 43(4):395-401.

- Rampello A, Franceschini M, Piepoli M, Antenucci R, Lenti G, Olivieri D, Chetta A. Effect of aerobic training on walking capacity and maximal exercise tolerance in patients with multiple sclerosis: a randomized crossover controlled study. *Phys Ther* 2007; 87: 545-555.
- Roberto S, Marongiu E, Pinna M, Angius L, Olla S, Bassareo P, Tocco F, Concu A, Milia R, Crisafulli A. Altered hemodynamics during muscle metaboreflex in young, type 1 diabetes patients. *J Appl Physiol* 2012; 113: 1323-1331
- Strange S, Secher NH, Pawelczyk JA, Karpakka J, Christensen NJ, Mitchell JH, Saltin B. Neural control of cardiovascular responses and of ventilation during dynamic exercise in man. *J Physiol* 1993; 470: 693-704
- Tartaglia MC, Narayanan SJ, Santos AC, De Stefano N, Lapierre Y, Arnold D. The relationship between diffuse axonal damage and fatigue in MS. *Arch Neurol* 2005; 61: 176-177.
- Warburton DE, Taylor A, Bredin SS, Esch BT, Scott JM, Haykowsky MJ. Central haemodynamics and peripheral muscle function during exercise in patients with chronic heart failure. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007 Apr; 32(2):318-31.
- Zorzon M, Zivadinov R, Bosco A, Bragadin LM, Moretti R, Bonfigli L, Iona LG, Cazzato G. Sexual dysfunction in multiple sclerosis: a case control study. I. Frequency and comparison of groups. *Mult Scler* 1999; 70: 299-306.