

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

**EFEITO AGUDO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA
TRANSCUTÂNEA NO METABOREFLEXO MUSCULAR E
VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM INDIVÍDUOS
SAUDÁVEIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PAULO J. C. VIEIRA

PORTO ALEGRE

2010

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:

Cardiologia e Ciências Cardiovasculares

**Efeito Agudo da Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea no
Metaboreflexo Muscular e Variabilidade da Frequência Cardíaca
em Indivíduos Saudáveis**

Paulo J. C. Vieira

*Dissertação de mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Cardiovasculares, à
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências
Cardiovasculares.*

Orientador: Dr. Gaspar Chiappa

Co-orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro

Porto Alegre

2010

Dedico todo o esforço deste trabalho

A meus pais, Wilmar Carvalho Vieira (*in memoriam*) e Maria Beatriz Cardoso Vieira,
exemplos de dedicação, carinho e amor.

Por todos os momentos em que me acompanharam sempre me incentivando.

As minhas irmãs pelo apoio constante, carinho e atenção.

À minha esposa e melhor amiga, Fernanda e meu filho Davi.

Pelos momentos que vivemos durante esta trajetória.

Agradecimentos

A realização deste trabalho, e, mais do que isso, esta etapa da minha vida, não estaria sendo concluída, não fosse a importância das pessoas a quem aqui devo minha gratidão.

Agradeço ao meu orientador professor Gaspar Chiappa, pelo entusiasmo, trabalho e responsabilidade com que me conduziu nesta trajetória acadêmica. Além da amizade ímpar que se criou neste período, levo hoje um exemplo de excelência profissional a ser seguido e respeitado sempre.

Ao Professor Jorge Pinto Ribeiro, por me mostrar que é possível ser homem de ciência, e ser humano. Ter me recebido, acima de tudo, ter ouvido minhas idéias, sendo com certeza uma das grandes personalidades que proporcionou o início da minha formação acadêmica.

Ao Dr. Ricardo Stein, pelos ensinamentos, solidariedade e amizade que proporcionou que construíssemos um verdadeiro grupo de pesquisa.

Aos colegas do LaFiEx, especialmente a Angela Tavares e ao Daniel Umpierre, exemplos de colegas, que me incentivaram e ensinaram, contribuindo com minha formação profissional.

Ao Professor Gerson Cipriano, pelas discussões, auxílio material e intelectual. Ao Eng. Elton Ferlin, pela importante contribuição técnica e ensinamentos em engenharia biomédica.

À Profa. Nadine Clausell e ao Prof. Luís Eduardo Rohde, pela ética de ambos, e por nos possibilitarem trabalhar em parceria com o grupo de insuficiência cardíaca.

Às secretárias dos Métodos Não-Invasivos do HCPA, Cleusa e Sandra, pela paciência com os estudantes que intensamente circulam na Unidade. À Sirlei, secretária do Pós-Graduação em Cardiologia, pelo carinho, atenção e constante disposição em ajudar os alunos.

Agradeço com muito amor a minhas irmãs Ana Cristina e Alessandra, pelo carinho e atenção que sempre disponibilizaram.

Aos meus pais, em especial a memória de pai, pelo exemplo de honestidade, dedicação, empenho e humildade, eu gostaria de expressar minha eterna gratidão pelo seu amor. Aos momentos que não estávamos juntos, mas mesmo sem a presença de vocês, sempre serei agradecido pelo que sou e pelos ensinamentos, sempre amarei vocês.

Agradeço à minha esposa e amiga, Fernanda, pela paciência, dedicação, carinho e amor durante toda esta jornada, em especial pelo maior de todos os presentes em nossas vidas, nosso filho Davi, amo muito vocês.

À Deus pela oportunidade de nos deixar evoluir constantemente.

Muito obrigado.

*“O atrativo do conhecimento seria pequeno se, no caminho que a ele conduz,
não houvesse que vencer tanto pudor.”*

Friedrich Nietzsche

(1844 - 1900)

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
Capítulos I, II e III	8
Capítulo IV	9
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	10
Capítulo II.....	10
Capítulo IV	10
RESUMO	11
Capítulo I.....	13
Introdução	13
REFERÊNCIAS	15
Capítulo II.....	17
Revisão de Literatura	17
Controle neural do fluxo sanguíneo	17
Reflexo pressórico do exercício: mecano e metaboreceptores.....	20
Metaboreflexo: respostas à técnica de oclusão circulatória pós-exercício.....	22
Importância do metaboreflexo muscular.....	25
Metaboreflexo e variabilidade da frequência cardíaca.....	27
Estimulação elétrica nervosa transcutânea e neuromodulação	29
Estimulação elétrica nervosa transcutânea e neurotransmissores	30
Estimulação elétrica nervosa transcutânea e sistema nervoso simpático.....	32
Estimulação elétrica nervosa transcutânea: respostas sobre o fluxo sanguíneo.....	33
REFERÊNCIAS	37
Capítulo III	49
Objetivos.....	49
Capítulo IV	50
Artigo	50
ANEXOS	77
Formação Complementar Durante o Mestrado.....	77
Artigos publicados.....	77
Artigos submetidos.....	78
Artigos em preparo.....	78
Projetos de pesquisa em andamento.....	79

Publicações em anais de eventos.....	80
--------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

Capítulos I, II e III

ANSM	atividade nervosa simpática muscular
CVM	contração voluntária máxima
DAC	doença arterial coronariana
FC	frequência cardíaca
GABA	ácido gama-amino-butírico
OCPE	oclusão circulatória pós-exercício
PA	pressão arterial
PAM	pressão arterial média
RPE	reflexo pressórico do exercício
RVP	resistência vascular periférica
RVS	resistência vascular sistêmica
SCS	spinal cord stimulation
SDNN	desvio padrão de todos intervalos RR normais
SNA	sistema nervoso autônomo
SNC	sistema nervoso central
SNP	sistema nervoso parassimpático
SNS	sistema nervoso simpático
TENS	estimulação elétrica nervosa transcutânea
VFC	variabilidade da frequência cardíaca
VS	volume sistólico

Capítulo IV

ANS	autonomic nervous system
CBF	calf blood flow
CVR	calf vascular resistance
HR	heart rate
HRV	heart rate variability
HF	high frequency
LF	low frequency
MBP	mean blood pressure
MVC	maximal voluntary contraction
PECO+	postexercise with circulatory occlusion
PECO-	postexercise without circulatory occlusion
SNS	sympathetic nervous system
TENS	transcutaneous electrical nerve stimulation
$\dot{V}O_2$ peak	peak oxygen uptake

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Capítulo II

Fig. 1 Ilustração esquemática dos mecanismos de controle neural da circulação durante o exercício.....	19
--	----

Capítulo IV

Tab. 1 Subjects characteristics	73
Fig. 1 Mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), calf blood flow (CBF), and calf vascular resistance (CVR) in values absolutes during static handgrip exercise, postexercise circulatory occlusion (PECO+) or without occlusion (PECO-) periods.....	74
Fig. 2 Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance (CVR), obtained by the subtraction of the area under the curve in circulatory occlusion period (PECO+) from control period (PECO-) during TENS and Placebo situation.....	75
Tab. 2 Frequency-Domain Measures.....	76

RESUMO

Introdução: A estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) aumenta o fluxo sanguíneo regional quando aplicada em intensidade suficiente para causar contração na musculatura. Ainda não se sabe se o aumento no fluxo sanguíneo provocado pela TENS pode ser causado pela inibição da atividade simpática mediada pelo metaboreflexo muscular.

Objetivo: Verificar se ocorre atenuação do metaboreflexo muscular, e se esta deve-se em parte a inibição da atividade simpática.

Métodos: Onze sujeitos saudáveis sem doença prévia, idade (25 ± 1.3 anos), participaram deste ensaio clínico randomizado. Foram analisadas pressão arterial média, fluxo sanguíneo no membro inferior, resistência vascular periférica e variabilidade da frequência cardíaca em resposta ao exercício isométrico de handgrip a 30% da contração voluntária máxima, seguido imediatamente de período com e sem oclusão circulatória para isolar a atividade do metaboreflexo. O controle do metaboreflexo muscular a partir da resistência vascular periférica foi estimado subtraindo-se a área sob a curva entre os períodos com e sem oclusão circulatória.

Resultados: A frequência cardíaca foi semelhante durante o período de exercício realizado depois das intervenções TENS e placebo. Aumentos da pressão arterial no pico do exercício foram atenuados pelo uso da TENS ($p < 0,001$), e se mantiveram ao longo dos períodos com e sem oclusão circulatória pós-exercício. Em comparação com a intervenção placebo, a TENS promoveu aumento no fluxo sanguíneo do membro inferior em repouso durante o exercício e recuperação com e sem oclusão circulatória. Da mesma forma, a TENS induziu uma redução significativa na atividade do metaboreflexo muscular (TENS: 8 ± 5 vs. Placebo: 33 ± 9 unidades, $p < 0.05$) sendo esta associada com significativa redução no componente de baixa

freqüência da variabilidade da freqüência cardíaca durante OCPE + (TENS: 32 ± 4 vs. Placebo 70 ± 5 un, $p < 0.01$) e aumento do componente de alta freqüência (67 ± 4 vs. 30 ± 5 un, $p < 0.01$).

Conclusão: A intervenção com a TENS atenuou o metaboreflexo muscular esquelético em indivíduos saudáveis, sendo esta resposta acompanhada de uma modulação simpática.

Capítulo I

Introdução

De um modo em geral, o exercício isométrico de preensão manual provoca aumento nas respostas da pressão arterial e concomitantemente na frequência cardíaca [1, 2]. Além disso, a técnica de oclusão circulatória pós-exercício (OCPE) tem por finalidade represar a circulação de sangue no antebraço após exercício isométrico, mantendo a pressão arterial acima dos níveis de repouso [3, 4]. Isso sugere que o acúmulo de metabólitos nos músculos durante o exercício estimula aferências quimiossensíveis, principalmente as do grupo IV, mas também as fibras do grupo III, induzindo reflexamente a elevação da pressão arterial [5-7]. Esse reflexo é comumente chamado de metaboreflexo muscular esquelético, o qual assume um papel importante na regulação dos ajustes cardiovasculares durante o exercício.

Adicionalmente, a indução desse tipo de reflexo ocasiona importante ajuste através do sistema nervoso autônomo (SNA). Há evidências de que a indução do metaboreflexo está diretamente associada à maior descarga sobre o sistema nervoso simpático (SNS), com pouca influência sobre o sistema nervoso parassimpático (SNP) [8], e que o baroreflexo arterial atenua as respostas pressóricas induzidas pelo metaboreflexo muscular [9, 10]. Dessa forma, o aumento do tônus parassimpático cardíaco durante a OCPE pode refletir, em parte, sobre o baroreflexo arterial, o que aumenta a pressão arterial induzida pelo metaboreflexo, bem como uma perda repentina de comando central [8, 11, 12].

Portanto, cada vez mais tem se dado atenção a esses mecanismos, principalmente no que tange ao comportamento do metaboreflexo muscular e suas interações com sistema nervoso autônomo em indivíduos saudáveis. Diante disso, alternativas capazes de manipular essas respostas estão sendo discutidas. Recentemente, o uso da estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS) mostrou desencadear importante neuromodulação, afetando entre outras variáveis, velocidade de fluxo coronariano, fluxo periférico e local [13-16]. Diante disso, sugere-se que a neuromodulação obtida com corrente elétrica de baixa frequência, pode atenuar as interferências do metaboreflexo no controle do fluxo sanguíneo.

Nesta revisão, serão abordadas as respostas reflexas a partir da estimulação das fibras metabossensitivas musculares destacando-se os potenciais mecanismos de ação deste reflexo. Na segunda parte, revisaremos aspectos sobre a técnica de estimulação elétrica nervosa transcutânea e neuromodulação, suas aplicabilidades e interações com os mais diversos sistemas. Por fim, considerando a carência de informações sobre as respostas da estimulação elétrica nervosa transcutânea sobre o metaboreflexo muscular esquelético, conduzimos um estudo original que apresenta os efeitos de uma única aplicação desta intervenção sobre o fluxo sanguíneo, modulação autonômica e pressão arterial em indivíduos jovens saudáveis.

REFERÊNCIAS

1. Lind, A.R., et al., *The Circulatory Effects of Sustained Voluntary Muscle Contraction*. Clin Sci, 1964. **27**: 229-44.
2. Mitchell, J.H., Schmidt R.F., *Cardiovascular reflex control by afferent fibers from skeletal muscle receptors.*, in *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System: Peripheral Circulation and Organ Blood Flow.* , A.P. Soc., Editor. 1983, Bethesda, MD. p. 623-658.
3. Nishiyasu, T., et al., *Cardiovascular and humoral responses to sustained muscle metaboreflex activation in humans*. J Appl Physiol, 1998. **84**: 116-22.
4. Rusch, N.J., et al., *Different behavior of the resistance vessels of the human calf and forearm during contralateral isometric exercise, mental stress, and abnormal respiratory movements*. Circ Res, 1981. **48**: I118-30.
5. McCloskey, D.I. and J.H. Mitchell, *Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle*. J Physiol, 1972. **224**: 173-86.
6. Kaufman, M.P., et al., *Effects of static muscular contraction on impulse activity of groups III and IV afferents in cats*. J Appl Physiol, 1983. **55**: 105-12.
7. Coote, J.H., S.M. Hilton, and J.F. Perez-Gonzalez, *The reflex nature of the pressor response to muscular exercise*. J Physiol, 1971. **215**: 789-804.
8. O'Leary, D.S., *Autonomic mechanisms of muscle metaboreflex control of heart rate*. J Appl Physiol, 1993. **74**: 1748-54.
9. Kim, J.K., et al., *Attenuated arterial baroreflex buffering of muscle metaboreflex in heart failure*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **289**: H2416-23.

10. Kim, J.K., et al., *Arterial baroreflex alters strength and mechanisms of muscle metaboreflex during dynamic exercise*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005. **288**: H1374-80.
11. Iellamo, F., et al., *Muscle metaboreflex contribution to sinus node regulation during static exercise: insights from spectral analysis of heart rate variability*. *Circulation*, 1999. **100**: 27-32.
12. Nishiyasu, T., et al., *Enhancement of parasympathetic cardiac activity during activation of muscle metaboreflex in humans*. *J Appl Physiol*, 1994. **77**: 2778-83.
13. Chauhan, A., et al., *Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on coronary blood flow*. *Circulation*, 1994. **89**: 694-702.
14. de Vries, J., et al., *The effect of electrical neurostimulation on collateral perfusion during acute coronary occlusion*. *BMC Cardiovasc Disord*, 2007. **7**: 18.
15. Izumi, M., et al., *Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. **39**: 642-5.
16. Sandberg, M.L., M.K. Sandberg, and J. Dahl, *Blood flow changes in the trapezius muscle and overlying skin following transcutaneous electrical nerve stimulation*. *Phys Ther*, 2007. **87**: 1047-55.

Capítulo II

Revisão de Literatura

Controle neural do fluxo sanguíneo

As respostas cardiovasculares ao exercício resultam da interação entre mecanismos excitatórios e inibitórios que tem como via eferente as modificações no sistema nervoso autônomo, tanto no exercício estático quanto no exercício dinâmico. No início do exercício há um decréscimo progressivo da atividade parassimpática e concomitante aumento da atividade simpática, dependente da intensidade da realização e da massa muscular ativada durante o esforço [1]. Na condição de repouso já existe uma atividade constritora vascular mediada pelo SNS, sendo que o bloqueio desse sistema aumenta em média duas vezes o fluxo sanguíneo para a musculatura [2].

A ativação do SNS constitui um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento na pressão arterial (PA) e vasoconstrição em leitos vasculares inativos, sendo este mecanismo essencial para a redistribuição do débito cardíaco dos tecidos inativos para os músculos em atividade. [3, 4]. Embora a origem precisa do aumento da atividade do SNS não esteja firmemente estabelecida, três mecanismos principais têm sido propostos como desencadeadores desta ativação: comando central, baroreflexo arterial e reflexo pressórico do exercício [3, 4].

O *comando central* refere-se à ação direta do córtex motor ou do subtálamo sobre neurônios de regiões associadas ao controle cardiovascular e respiratório [5]. Sugere-se que

este mecanismo seja responsável pelas respostas cardiovasculares imediatas no início do exercício, como o aumento da frequência cardíaca (FC) mediado pela diminuição da atividade do SNP [6]. Além disso, experimentos mostram que o comando central é capaz de modificar a função baroreflexa durante o exercício [7] e pode aumentar a atividade simpática renal e cardíaca no início do exercício estático [8, 9].

O *baroreflexo arterial*, que tem como via aferente as fibras nervosas localizadas no seio carotídeo e arco aórtico, é responsável pelos ajustes na PA, por meio de modificações na FC, no volume sistólico (VS) e na resistência vascular periférica (RVP) [10]. Durante o exercício, várias evidências mostram que o baroreflexo é ajustado para uma pressão mais elevada, contribuindo diretamente para a ativação do SNS [10]. Outras evidências mostram ainda que essa modificação na função baroreflexa é mediada tanto pelo comando central quanto por informações oriundas dos músculos em atividade [11].

Por fim, o *reflexo pressórico do exercício* (RPE) refere-se às respostas reflexas da estimulação de fibras quimiossensíveis que são ativadas por mediadores químicos e mecanosensíveis, também chamadas de terminações nervosas livres e sensibilizadas por deformação mecânica no músculo esquelético [12]. Diante desse pressuposto, estudos sugerem que o RPE proveniente do músculo esquelético, contribui significativamente para a geração acentuada de respostas cardiovasculares[13-16]

A visão prevalente sustenta que estes três mecanismos interagem continuamente na regulação cardiovascular no exercício, embora a participação de cada um na determinação do aumento na resposta simpática ao exercício parece variar de acordo com o tipo,

intensidade e condição funcional tal como idade, presença de algumas doenças como a insuficiência cardíaca, diabetes e doença pulmonar obstrutiva crônica [17].

Portanto, sinais neurais oriundos do cérebro (comando central), das artérias aorta e carótida (baroreflexo arterial) e dos músculos esqueléticos em atividade (reflexo pressórico do exercício), interagem continuamente durante o exercício, modulando a atividade do sistema nervoso autônomo (SNA), sendo que estas modificações contribuem para os ajustes na frequência cardíaca (FC), volume sistólico (VS) e na resistência vascular sistêmica (RVS), mediando assim o controle da pressão arterial média (PAM) durante o exercício (Figura 1).

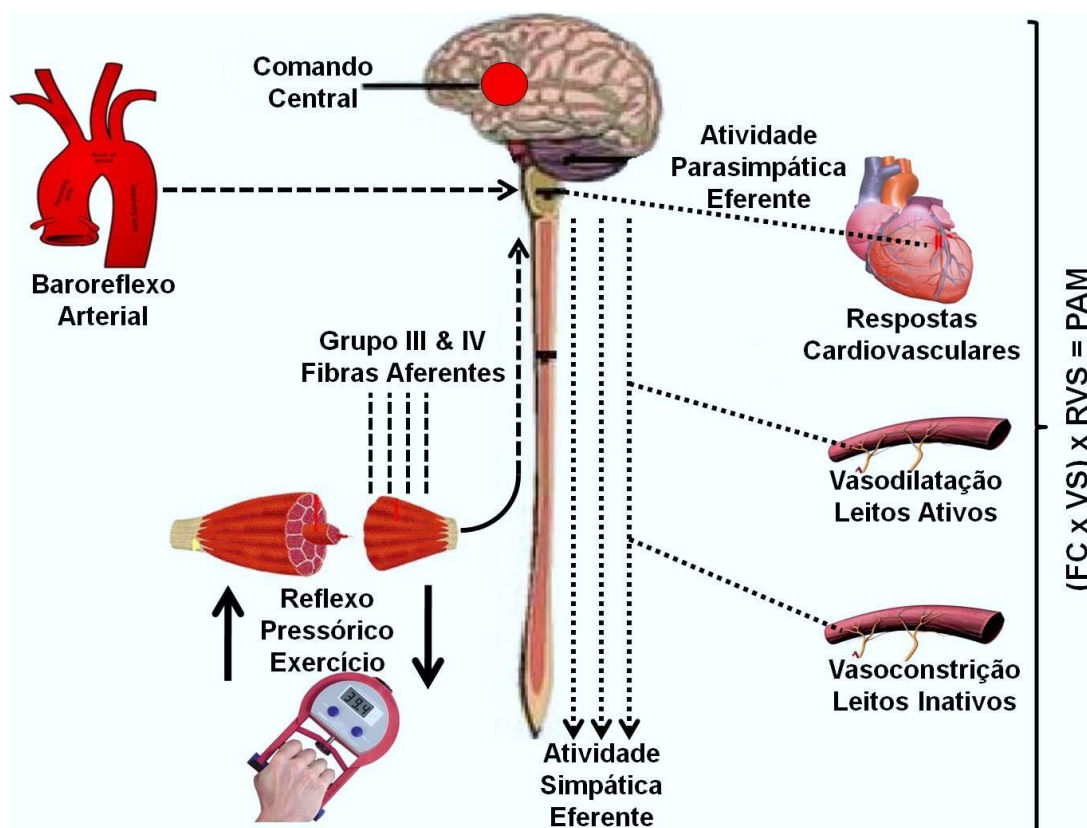


Fig. 1 Ilustração esquemática dos mecanismos de controle neural da circulação durante o exercício. Sinais neurais oriundos do cérebro (comando central), das artérias

aorta e carótidas (baroreflexo arterial) e dos músculos esqueléticos em atividade (reflexo pressórico do exercício), interagem continuamente durante o exercício, modulando a atividade do SNA. As modificações no SNA contribuem para os ajustes na FC, VS e na RVS, mediando assim o controle da PAM durante o exercício.

Reflexo pressórico do exercício: mecano e metaboreceptores

Os primeiro a demonstrar experimentalmente a existência de um reflexo cardiovascular originado nos músculos esqueléticos foram Alam & Smirk [18]. Os autores mostraram que a resposta pressórica ao exercício dinâmico era mantida pela isquemia circulatória pós-exercício nos membros ativos, e sugeriram que essa resposta originava-se no estímulo de fibras aferentes musculares por acúmulo de metabólitos nos músculos isquêmicos. A partir da década de 70, tornou-se possível o estudo mais aprofundado da origem e características dos reflexos oriundos dos músculos em atividade. Coote e cols. [19] utilizando gatos anestesiados forneceram uma das primeiras evidências consistentes da existência do RPE. Neste experimento, a contração estática do tríceps sural induzida por estimulação elétrica das raízes ventrais resultou no aumento da PA, FC e ventilação, respostas estas, que foram abolidas pela secção das raízes dorsais. Esses autores mostraram ainda que a magnitude da resposta pressórica induzida pela contração muscular estava linearmente relacionada com o pico de tensão gerada no músculo em contração e que a oclusão do suprimento arterial para o músculo em atividade desencadeava uma resposta pressórica bem maior que a resposta do membro com perfusão livre.

McCloskey e Mitchell [12] apresentaram evidências de que as respostas cardiovasculares e ventilatórias desencadeadas pela contração muscular eram causadas pela

estimulação de pequenas fibras nervosas de condução lenta. Posteriormente definiu-se que as fibras aferentes musculares são divididas em quatro grupos de acordo com a velocidade de condução. As fibras do tipo I e II são fibras mielinizadas para os fusos musculares e órgãos tendinosos de *Golgi*, enquanto as fibras do tipo III (pouco-mielinizadas) e fibras do tipo IV (não-mielinizadas) são constituídas por terminações nervosas livres localizadas no tecido muscular [20]. No estudo de McCloskey e Mitchell [12], também com gatos anestesiados, a aplicação de lidocaína na raiz dorsal da medula onde encontram-se os axônios aferentes interromperam os impulsos das fibras III e IV, mas deixou livre a condução pelas fibras I e II, bloqueando assim as respostas pressóricas e cronotrópicas reflexas a contração. Por outro lado, no mesmo estudo, a aplicação de corrente anódica também sobre a raiz dorsal medular, provocou interrupção da condução nas fibras I e II, mas não nas fibras III e IV, não interferindo nas respostas cardiovasculares induzidas pela contração.

Vários estudos caracterizaram as propriedades sensitivas das fibras tipo III e IV em resposta à contração muscular isométrica [21-23]. Estes estudos mostraram que a maioria das fibras do tipo III parecem ser mecanoreceptores, ou seja, terminações que respondem a deformação mecânica [21-23]. Já as fibras do tipo IV parecem comportar-se como quimiorreceptores, que respondem ao acúmulo de metabólitos gerados durante a contração muscular [22]. Portanto, estas fibras apresentam características distintas em relação às fibras do tipo III em resposta a contração eletricamente induzida, como: maior período de latência entre, o início da contração e início do estímulo das fibras, e um aumento na atividade em resposta a contração muscular isquêmica, produzida por oclusão pós-exercício. Além disso, a atividade elétrica destas fibras do tipo IV pode ser mantida durante

o período de isquemia circulatória pós-exercício, mostrando que essas fibras são capazes de sinalizar o desequilíbrio entre fluxo sanguíneo e o metabolismo muscular quando do encerramento da contração muscular [22, 23].

Diversos estudos mostram que, as fibras do tipo III e IV apresentam em verdade características polimodais e que o padrão de descarga das mesmas varia de acordo com o tipo de contração, intensidade e característica do ambiente químico muscular [24-26]. Portanto, a literatura tem relatado que o RPE é dividido em um componente metabólico, chamado de “metaboreflexo muscular”, mediado predominantemente por fibras do tipo IV, e em outro componente mecânico, chamado de “mecanoreflexo muscular”, que parece ser mediado por fibras do tipo III.

Metaboreflexo: respostas à técnica de oclusão circulatória pós-exercício

Desde os experimentos originais de Alam & Smirk [18], diversos estudos vêm empregando a técnica de isquemia ou também chamada de técnica de oclusão circulatória pós-exercício (OCPE) para estudar a presença do componente metabólico do RPE. Com esse tipo de técnica é possível estudar isoladamente a contribuição das fibras quimiosensíveis para as respostas cardiovasculares reflexas, na ausência de outras influências como o comando central ou mecanoreflexo muscular. A natureza reflexa da OCPE foi demonstrada em experimentos nos quais após a realização de anestesia epidural em humanos houve eliminação da resposta pressórica a este período de exercício isométrico seguido de oclusão circulatória [27].

Os estudos que utilizaram a técnica de OCPE evidenciam uma intensa resposta da atividade nervosa muscular simpática, avaliada através da técnica de microneurografia [28, 29]. Esta resposta de manutenção da atividade nervosa simpática muscular (ANSM) acima dos valores basais durante este período está associada a uma concomitante vasoconstrição nos membros inativos [30, 31]. Portanto, em decorrência de uma maior atividade simpática, alguns estudos sugerem que durante o período de oclusão, também pode haver aumento da contratilidade miocárdica e do volume sistólico [32, 33], achado não confirmado por outros autores [34].

Por outro lado, estudos têm demonstrado que a ativação do metaboreflexo muscular via fibras metabossensitivas também poder estar associada à liberação de substâncias como: ácido láctico, íons hidrogênio, bradicinina, potássio, ácido araquidônico, adenosina e prostaglandinas [20, 24, 35]. Ainda podemos destacar o papel da adenosina trifosfato (ATP) e os receptores purinérgicos como potenciais mediadores destas respostas [36, 37]. A partir desse contexto, diversas substâncias têm sido apontadas como moduladoras da atividade simpática no exercício. Embora os resultados não sejam ainda conclusivos, tem-se sugerido que substâncias advindas do próprio músculo ativo ou do endotélio vascular podem modular a ANSM [1].

Um número considerável de evidências tem mostrado que as alterações cardiovasculares reflexas induzidas pela estimulação do metaboreflexo muscular estão intrinsecamente ligadas com o desenvolvimento de acidose durante o exercício [31, 38, 39]. Estes estudos identificaram que o aumento da PA, bem como da atividade simpática e resistência vascular nos membros inativos estava inversamente relacionada com o pH

intracelular no músculo em contração e, principalmente durante a ativação seletiva do metaboreflexo muscular pela OCPE [31, 38, 39]. Estes achados são suportados ainda pelo fato de que a redução da acidose por meio da infusão de dicloroacetato, após exercício em indivíduos saudáveis, atenua as respostas desencadeadas pela ativação do metaboreflexo muscular [40].

A relação do desenvolvimento da acidose muscular as respostas reflexas e a ativação do metaboreflexo muscular, também foram analisadas em pacientes com deficiência na enzima miofosforilase conhecido como doença de McArdle. Pryor e cols. [41] demonstraram que esses pacientes apresentam diminuição na resposta de ativação simpática durante o exercício, fato que foi atribuído à deficiência na produção de ácido láctico. No entanto, esses achados não foram confirmados por outros autores, possivelmente pelo baixo número de pacientes e pela elevada variabilidade individual nas medidas da ANSM [42]. Em geral, existe consenso de que o estímulo das fibras quimiosensíveis é desencadeado por uma combinação de substâncias, entre elas o ácido láctico, sendo que a intensidade do estímulo varia com a intensidade do exercício realizado [24].

Portanto, durante o exercício existe uma interação entre os reflexos que são mediados através da liberação de substâncias que podem sensibilizar as fibras do tipo III e IV ao ponto de desencadear resposta na PAM, o que intensifica a resistência vascular periférica no membro não ativo, que é mantido durante todo o período em isquemia muscular. Este processo exacerba as respostas cardiovasculares associando-se inversamente as alterações no pH intracelular [38, 39], sendo então compatível com a idéia de que, a

acidose contribui para a gênese do metaboreflexo muscular e todas as repercussões que este reflexo gera a nível sistêmico.

Importância do metaboreflexo muscular

O metaboreflexo participa diretamente dos ajustes cardiovasculares ao exercício, sobretudo ao exercício dinâmico, sendo sempre foco de discussões em fisiologia do exercício [43]. As evidências mais consistentes quanto ao significado deste reflexo vêm de experimentos realizados em cães, por meio de uma preparação conhecida como modelo de “*Seattle*”. Em experimentos realizados por Rowell e cols. [4], um oclisor vascular foi colocado na aorta de cães, o que permite modificações na perfusão dos membros em exercício, simulando uma situação de ativação do metaboreflexo muscular. Os cães eram então submetidos ao exercício em esteira rolante, sendo que reduções do fluxo sanguíneo para as patas traseiras em exercício eram realizadas gradualmente e as respostas hemodinâmicas centrais e periféricas mensuradas [44-46].

Estes experimentos mostraram que reduções parciais no fluxo sanguíneo dos membros em exercício eram acompanhadas por um aumento pronunciado da resposta pressórica, dependente da velocidade e inclinação da esteira [45]. Além disso, essa resposta pressórica desencadeada pela isquemia muscular era capaz de restaurar aproximadamente 50% do fluxo sanguíneo para os membros isquêmicos [45]. Estudos posteriores do mesmo grupo mostraram que a resposta pressórica era desencadeada não apenas pela redução do fluxo para os membros, mas principalmente, pela redução no aporte de oxigênio, capaz de gerar o acúmulo de uma substância (possivelmente o ácido lático), que estimularia as fibras quimiosensíveis [46]. Neste e em outros experimentos, a resposta pressórica provocada pela

estimulação do metaboreflexo muscular foi capaz de restaurar não apenas o fluxo, mas também aumentar a concentração de hemoglobina e o conteúdo arterial de oxigênio, aumentando de forma geral o aporte de oxigênio para os músculos isquêmicos [44, 46].

Portanto, o significado funcional do metaboreflexo muscular é de que este mecanismo é ativado quando há um desequilíbrio entre o aporte de oxigênio e o metabolismo muscular. Essa ativação desencadeia uma resposta pressórica para restaurar a perfusão e o aporte de oxigênio para os músculos isquêmicos. Em intensidades moderadas, a resposta pressórica advinda da ativação deste reflexo é conseguida principalmente pelo aumento do débito cardíaco [45], enquanto que em intensidades mais elevadas, existe um aumento concomitante da resistência vascular periférica [47]. Segundo Rowell [4] este reflexo não está ativo tonicamente, sendo ativado somente a partir de um limiar de redução do fluxo sanguíneo e aporte de oxigênio para a musculatura, que ocorre em intensidades de moderada a elevadas.

Em seres humanos, não existem evidências até o momento em favor da capacidade do metaboreflexo muscular de restaurar a perfusão no músculo em exercício. Utilizando modelo análogo ao modelo de “*Seattle*”, Joyner e cols. [48] avaliaram as respostas hemodinâmicas ao exercício rítmico de preensão manual com aplicação de pressão positiva externa para reduzir a perfusão do membro em exercício. Apesar de tal modelo provocar aumento da resposta pressórica, não foi evidenciado aumento do fluxo sanguíneo para o músculo isquêmico. Este achado foi confirmado por outros autores [49]. Em ambos os estudos, os autores atribuíram estes resultados a uma possível vasoconstrição mediada por um aumento pronunciado na atividade simpática [48, 49]. No entanto, mais estudos são

necessários para investigar os mecanismos determinantes desta diferença nos resultados entre o modelo animal e o modelo em seres humanos.

Recentemente, estudos definiram como resposta primária para o metaboreflexo em indivíduos saudáveis a redistribuição o fluxo sanguíneo, seguindo uma especificidade regional na resposta eferente ao membro ativado, visando manter o equilíbrio entre condição vasoconstritora e débito cardíaco. Além disso, elucidada que o metaboreflexo tem dupla função, ele pode tanto elevar como diminuir o fluxo sanguíneo muscular em função das seguintes variáveis: (1) intensidade e modo de contração muscular; (2) membro em que o reflexo é evocado; (3) força do sinal definido pela massa muscular envolvida; (4) da medida de fluxo sanguíneo que é redistribuído de leitos vasculares inativos para aumentar o volume sanguíneo central e (5) da proporção em que o débito cardíaco pode ser aumentado [50, 51].

Portanto, é possível que intervenções ao inibirem ou atenuarem o metaboreflexo, contribuam diretamente para a melhora do desempenho físico e capacidade funcional.

Metaboreflexo e variabilidade da frequência cardíaca

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é cada vez mais utilizada para avaliar a presença de doenças, estratificação de risco, disfunção autonômica e resultados de intervenções [13, 52-55]. Um potencial de aplicação da análise da VFC é a avaliação da sensibilidade ao reflexo pressórico do exercício (RPE) [13, 52-55].

Este reflexo como já descrito anteriormente, elucidada a detecção de um acúmulo de metabólitos e desenvolvimento de tensão no músculo esquelético, com conseqüente

aumento na atividade do SNS [56, 57]. Embora o controle da função cardiovascular tenha sido largamente inferido no RPE a partir da pressão arterial e do fluxo sanguíneo, dados de Augustyniak e cols., sugerem que a medida da função cardíaca central fornece algumas vantagens sobre o valor obtido com as demais variáveis somente [47]. Esses autores descrevem que como no RPE ocorre um fluxo de sensibilização das vias aferentes e não uma pressão de sensibilização, os indicadores da função cardíaca central podem fornecer uma visão mais direta da resposta deste reflexo.

Nishiyasu e cols. [58] relataram um aumento no desvio padrão de todo os intervalos RR normais (SDNN) durante o exercício isométrico de *handgrip* a 50% da CVM. Este achado foi confirmado por Gonzalez-Camarena e cols. [59] e Iellamo e cols. [60] que encontraram maior aumento no componente de baixa frequência (indicativo da estimulação simpática e parassimpática), mas nenhuma mudança no componente de alta frequência (estimulação parassimpática) durante o exercício isométrico de perna a 30% da CVM. No estudo de Kluess & Wood [61] houve uma acentuada diminuição na SDNN, bem como nos componentes de baixa frequência e alta frequência durante o exercício dinâmico de *handgrip* a 60% CVM com oclusão venosa.

Interessantemente, os estudos de Gonzalez-Camarena e cols. [59] e Iellamo e cols. [60] deixam claro não haver declínio significativo no componente de alta frequência durante o exercício isométrico. Portanto, se o componente de alta frequência permanece elevado durante o exercício, não pode haver nenhum aumento adicional de potência sobre o componente de alta frequência durante a oclusão arterial pós-exercício [59, 62].

Estimulação elétrica nervosa transcutânea e neuromodulação

Existem vários estudos que demonstraram os possíveis mecanismos envolvidos na atenuação do metaboreflexo, gerando implicações clínicas diretas sobre as mais diversas patologias[63-67]. Nesse sentido, estudos com estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) foram realizados gerando benefícios agudos e crônicos em variáveis respiratórias [68, 69], bem como, no fluxo sanguíneo, pressão arterial e perfusão colateral[70-73].

A TENS é uma valiosa técnica clínica usada em fisioterapia para o tratamento sintomático da dor. Seu mecanismo de ação, no entanto, tem sido atribuído apenas a uma hiperestimulação sensorial sustentada pelo mecanismo de controle da comporta de dor [74]. A postulação dessa teoria inaugurou a criação das “unidades de TENS”, onde a estimulação elétrica parece ativar também outros mecanismos de inibição pré-sináptica por meio de um sistema descendente, o que envolve a participação de um sistema de opióides, no qual participam também algumas estruturas do SNC [74].

A partir desse contexto, Melzack & Wall (1965), definiram que a neuromodulação tem origem na teoria de comportas da dor, que prevê a partir da estimulação em vias aferentes, uma modulação na transmissão de impulsos através da medula em relação ao ponto estimulado [74]. Entre as formas de neuromodulação a TENS, já bem descrita na literatura com seu uso crônico [75, 76] e a técnica invasiva de estimulação da medula espinhal, conhecida como: *Spinal Cord Stimulation* (SCS). Essas técnicas são utilizadas especificamente para tratar uma variedade de condições de dor. Atualmente, têm-se investigado se a TENS pode modular a dor em várias situações distintas, tais como, em pacientes isquêmicos após cirurgias cardíacas e de revascularização do miocárdio [77].

Nesse sentido, o uso de TENS em pacientes isquêmicos com angina de formas diferenciadas tem sido eficaz, uma vez que esta intervenção pode aumentar a disponibilidade no aporte de oxigênio ao miocárdio ou uma redução na demanda de oxigênio, melhorando o nível de isquemia [78-80]. Especificamente, Mannheimer e cols., concluíram a partir de uma série de estudos com TENS aplicado na região ganglionar, que o efeito anti-isquêmico é mediado pela redução na demanda de oxigênio pelo miocárdio e por uma redução na pós-carga em decorrência da redução na pressão arterial sistólica [78]. Esse mecanismo tem sido hipoteticamente associado à redução da ativação do sistema nervoso simpático com base na observação de redução nos níveis de epinefrina e norepinefrina em resposta a estimulação elétrica de baixa frequência [78].

Estimulação elétrica nervosa transcutânea e neurotransmissores

Melzack & Wall [74] propuseram que a estimulação em fibras de grande diâmetro tipo A (proprioceptivas) leva a uma atenuação da transmissão, ativando pequenas fibras do tipo C não mielinizadas da periferia para os receptores da dor central, via inibitória interneuronal ao nível do corno dorsal da medula. Portanto, teoricamente, seja a estimulação de nervos periféricos com TENS ou estímulo ao nível do corno dorsal com neuroestimulação medular, ambos podem conduzir à atenuação nos sinais de entrada percorrendo vias eferentes simpáticas.

Jeong e cols. (1995) produziram um estudo para investigar os neurotransmissores participantes no mecanismo de estimulação nervosa periférica com parâmetros de alta frequência e alta intensidade [81]. Esse estudo utilizou gatos como modelos experimentais, e a aplicação por iontoforese de antagonistas de possíveis neurotransmissores relatados. Os

resultados mostraram que a atividade espontânea de neurônios do corno dorsal da medula espinhal aumentou na presença do glutamato e diminuíram com o GABA (ácido gama-amino-butírico), sugerindo uma participação do sistema GABA-érgico na ação analgésica da estimulação nervosa periférica com parâmetros de alta frequência e alta intensidade [81].

Por outro lado, Stiller e cols. analisaram os níveis de neurotransmissores no corno dorsal medular, demonstrando haver aumento no inibidor de GABA e redução do nível de aminoácidos excitatórios (aspartato e glutamato) após SCS em ratos [82]. Além disso, a administração intratraqueal de antagonistas do GABA e agonistas de adenosina foi utilizada para aumentar a eficácia da neuroestimulação, quando aplicada em ratos [83].

Com base nesses estudos, pode-se propor que parte do efeito de neuroestimulação é mediada através da intensificação da atividade da endorfina endógena tanto a nível cardíaco como medular. Nesse sentido, Eliasson e cols. investigaram o impacto da SCS sobre os níveis de β -endorfina cardíaca utilizando amostras do seio coronariano em pacientes submetidos à estimulação atrial direita. Eles estabeleceram que os resultados da neuroestimulação provocaram elevados níveis de β -endorfina cardíaca, que foram mantidos mesmo com a adição do antagonista de endorfina nalaxone, não diminuindo os efeitos da intervenção [84].

Em outro estudo, Crepon (1992) revelou importantes achados, em que as correntes de baixa frequência (4Hz), quando aplicadas por meio de grandes eletrodos lombares, com uma intensidade elevada a ponto de produzir uma fibrilação muscular ritmada, e uma sensação desagradável no limite da dor, durante 30 minutos, gera um aumento significativo de 22% da taxa de β -endorfina, em relação às taxas basais, sendo que esse

aumento se prolongou durante 30 minutos após o término da estimulação, mantendo-se sempre com uma taxa superior a 20% [85].

Portanto, parece que a neuromodulação estimulada através da TENS está associada com intensa liberação de endorfinas e isso parece estar diretamente ligada a teoria das comportas da dor.

Estimulação elétrica nervosa transcutânea e sistema nervoso simpático

O coração apresenta difundidas terminações nervosas simpáticas que se aglutinam para formar o plexo cardíaco simpático e os gânglios colaterais. Os nervos cardíacos partem para essas estruturas adjacentes concentrando-se na região cervical do gânglio da cadeia simpática paravertebral [86]. Essas estruturas são denominadas de “*estreladas*” e gânglios simpáticos cervicais. As vias simpáticas em contato com a porção cinzenta intermediolateral da medula espinhal torácica superior (T1-T4) com a porção branca e cinzenta dos ramos comunicantes, formam a via simpática que se estende acima do tronco cerebral posterior encerrando-se no hipotálamo [86].

Chandler e cols. (1998) mostraram que alterações no fluxo coronariano e na perfusão miocárdica onde o desfecho primário é a angina, atingem não somente o SNC através do hipotálamo, mas pela excitação do trato espinotalâmico torácico superior. Portanto essa retransmissão por meio da porção ventroposterolateral do tálamo, continua até os centros superiores do SNC [87]. A partir deste contexto, diversos estudos avaliaram as respostas das intervenções com técnica de neuroestimulação, sobre a modulação do SNA.

Hautvast e cols. investigaram o balanço simpato-vagal, através de alterações na VFC com aplicação de neuroestimulação do tipo SCS, não encontrando qualquer alteração sobre os componentes da mesma [88]. No entanto, Meglio e cols. [89] encontraram uma diminuição da frequência cardíaca em repouso e características sugestivas de uma simpatectomia funcional em 25 pacientes com neuroestimulação, e vários investigadores demonstraram uma pequena queda na pressão arterial sistólica durante a neuroestimulação com ambos TENS e SCS [90]. O estudo de Foreman e cols. (2000) esclareceu sobre o possível mecanismo pelo qual a neuroestimulação pode alterar a unidade simpática cardíaca. Eles observaram que a estimulação da medula espinhal em cães submetidos à ligadura da artéria coronária promoveu um efeito supressivo sobre a atividade simpática cardíaca intrínseca [91]. Além disso, eles também descobriram que esse efeito pode ser neutralizado pela interrupção em vias eferentes simpáticas no trato ganglionar aferente subclávico [91]. Isso fornece evidências de que a neuroestimulação pode agir através da influência em neurônios da medula espinhal, se comunicando com o sistema nervoso intrínseco cardíaco via intratorácica. Finalmente, alguns autores defendem que a administração da TENS ao nível do gânglio localizado na sétima vértebra cervical [92], teria efeitos positivos no que diz respeito à redução da atividade do SNS [93, 94].

Estimulação elétrica nervosa transcutânea: respostas sobre o fluxo sanguíneo

O primeiro estudo testando efeitos do TENS sobre fluxo sanguíneo, em membros comprometidos por doença vascular periférica demonstrou melhora no fluxo sanguíneo da microcirculação, bem como um efeito analgésico direto [95]. Estas propriedades anti-

isquêmicas provocaram interesse na possibilidade de tratamento da insuficiência coronária, o que levou Mannheimer e cols. [96] a produzir os primeiros relatos de sucesso na aplicação da TENS para angina crônica em 1982. Vários estudos randomizados e controlados [78, 97-99] seguiram esta publicação, demonstrando que a TENS realmente melhora o controle dos sintomas, reduzindo o uso de nitratos e ampliando a tolerância ao exercício em pacientes com angina crônica. No estudo de Borjesson e cols. (1999), foi mostrada a utilização da TENS para reduzir o número de episódios isquêmicos em pacientes com síndrome coronariana instável e angina [100]. Não houve estudos publicados para demonstrar os efeitos a longo prazo da TENS na melhora dos sintomas, e seu impacto na qualidade de vida e tratamento da angina crônica.

Chauhan e cols. [101] utilizando sistema de doppler intracoronário para analisar os efeitos da TENS aplicada na região precordial, sobre o fluxo sanguíneo coronariano em três grupos: (Grupo 1) pacientes com diagnóstico de angina mas sem diagnóstico de doença arterial coronariana (DAC), conhecida como síndrome “X”, (Grupo 2) pacientes com DAC e (Grupo 3) pacientes transplantados cardíacos, demonstraram um aumento na velocidade do fluxo sanguíneo coronariano em repouso, em todos os pacientes dos grupos 1 e 2 avaliados, afirmando haver um mecanismo mediado pelo SNS relacionado diretamente a intervenção. Colaborando com estes achados, Sanderson & Jessurun, verificaram estes mesmos resultados em estudos de seguimento com pacientes apresentando síndrome “X” e DAC, respectivamente [102, 103].

Igualmente, Norsell e cols. [104], utilizando o mesmo protocolo de Chauhan e cols. [101], não mostraram aumento na velocidade de fluxo coronário em pacientes submetidos à

estimulação elétrica invasiva na medula espinhal. No entanto, como descrito pelos próprios pesquisadores [104], acredita-se que a resistência coronária consiste em duas seções de resistência em série. A primeira seção de resposta adrenérgica, contraindo arteríolas e uma segunda composta por ativações menores, auto-regulado por fatores metabólicos locais. É possível, portanto, que embora a simpatectomia possa reduzir a resistência na primeira seção, pode ao mesmo tempo, reduzir a demanda de oxigênio ao miocárdio, aumentando a resistência por respostas metabólicas. Como consequência, pode não haver alteração global em tónus vasomotor, e portanto nenhum aumento no fluxo sanguíneo coronariano.

O efeito da neuromodulação sobre a perfusão miocárdica durante o exercício físico foi investigado usando tomografia de emissão de pósitrons, em pacientes com doença isquêmica do coração. Os pesquisadores descobriram que, embora a neuroestimulação não alterou o fluxo sanguíneo total, houve uma redistribuição prévia de sangue a área isquêmica, produzindo um padrão mais homogêneo de suporte sanguíneo [105].

Os possíveis mecanismos que se tem sugerido para o aumento de fluxo sanguíneo após tratamento com TENS [70] incluem inibição segmentar de vasoconstrição simpática como observado em pacientes com angina isquêmica [78, 79], liberação de peptídeos vasodilatadores a partir de neurônios sensoriais e a ação da bomba muscular dos músculos contraídos. Estudos relataram os benefícios da TENS em membros de pacientes com déficit de fluxo sanguíneo, além disso, propuseram um aumento intenso de fluxo regional [95, 106]. Entretanto, alguns estudos têm atribuído esse efeito a contração muscular no modo *burst*, onde ocorre uma liberação acentuada nos pulsos de corrente elétrica [107]. Porém no modo contínuo, onde a corrente elétrica é simétrica e com pulsos bifásicos, ocorre apenas

estimulação destinada a provocar fortes sensações de parestesia, sem dor ou qualquer nível de contração muscular [77]. No entanto, ainda não há dados sobre os efeitos agudos da TENS, aplicada em região ganglionar, sobre as respostas hemodinâmicas e cardíacas centrais a partir da indução do metaboreflexo muscular esquelético.

REFERÊNCIAS

1. Thomas, G.D. and S.S. Segal, *Neural control of muscle blood flow during exercise*. J Appl Physiol, 2004. **97**: 731-8.
2. Lash, J.M., *Regulation of skeletal muscle blood flow during contractions*. Proc Soc Exp Biol Med, 1996. **211**: 218-35.
3. Delp, M.D. and D.S. O'Leary, *Integrative control of the skeletal muscle microcirculation in the maintenance of arterial pressure during exercise*. J Appl Physiol, 2004. **97**: 1112-8.
4. Rowell, L.B. and D.S. O'Leary, *Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes*. J Appl Physiol, 1990. **69**: 407-18.
5. Goodwin, G.M., D.I. McCloskey, and J.H. Mitchell, *Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension*. J Physiol, 1972. **226**: 173-90.
6. Mitchell, J.H., et al., *Autonomic blockade and cardiovascular responses to static exercise in partially curarized man*. J Physiol, 1989. **413**: 433-45.
7. Ogoh, S., et al., *Role of central command in carotid baroreflex resetting in humans during static exercise*. J Physiol, 2002. **543**: 349-64.
8. Matsukawa, K., T. Nakamoto, and A. Inomoto, *Gadolinium does not blunt the cardiovascular responses at the onset of voluntary static exercise in cats: a predominant role of central command*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **292**: H121-9.

9. Matsukawa, K., J. Murata, and T. Wada, *Augmented renal sympathetic nerve activity by central command during overground locomotion in decerebrate cats.* Am J Physiol, 1998. **275**: H1115-21.
10. Raven, P.B., P.J. Fadel, and S. Ogoh, *Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective.* Exp Physiol, 2006. **91**: 37-49.
11. McIlveen, S.A., S.G. Hayes, and M.P. Kaufman, *Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**: H1454-63.
12. McCloskey, D.I. and J.H. Mitchell, *Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle.* J Physiol, 1972. **224**: 173-86.
13. Piepoli, M., et al., *A neural link to explain the "muscle hypothesis" of exercise intolerance in chronic heart failure.* Am Heart J, 1999. **137**: 1050-6.
14. Middlekauff, H.R., et al., *Exaggerated renal vasoconstriction during exercise in heart failure patients.* Circulation, 2000. **101**: 784-9.
15. Smith, S.A., et al., *The capsaicin-sensitive afferent neuron in skeletal muscle is abnormal in heart failure.* Circulation, 2005. **111**: 2056-65.
16. Piepoli, M., et al., *Contribution of muscle afferents to the hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in patients with chronic heart failure: effects of physical training.* Circulation, 1996. **93**: 940-52.
17. Poole, D.C. and L.F. Ferreira, *Oxygen exchange in muscle of young and old rats: muscle-vascular-pulmonary coupling.* Exp Physiol, 2007. **92**: 341-6.
18. Alam, M. and F.H. Smirk, *Observations in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles.* J Physiol, 1937. **89**: 372-83.

19. Coote, J.H., S.M. Hilton, and J.F. Perez-Gonzalez, *The reflex nature of the pressor response to muscular exercise*. J Physiol, 1971. **215**: 789-804.
20. Kaufman M, F.H., *Reflexes controlling circulatory, ventilatory and airway response to exercise*, in *Handbook of Physiology*, R.L.S. JT, Editor. 1996, Oxford University Press New York. p.381-447.
21. Kaufman, M.P., et al., *Effects of static muscular contraction on impulse activity of groups III and IV afferents in cats*. J Appl Physiol, 1983. **55**: 105-12.
22. Kaufman, M.P. and K.J. Rybicki, *Discharge properties of group III and IV muscle afferents: their responses to mechanical and metabolic stimuli*. Circ Res, 1987. **61**: 160-5.
23. Kaufman, M.P., et al., *Effect of ischemia on responses of group III and IV afferents to contraction*. J Appl Physiol, 1984. **57**: 644-50.
24. Kaufman, M.P. and S.G. Hayes, *The exercise pressor reflex*. Clin Auton Res, 2002. **12**: 429-39.
25. Adreani, C.M., J.M. Hill, and M.P. Kaufman, *Responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise*. J Appl Physiol, 1997. **82**: 1811-7.
26. Adreani, C.M. and M.P. Kaufman, *Effect of arterial occlusion on responses of group III and IV afferents to dynamic exercise*. J Appl Physiol, 1998. **84**: 1827-33.
27. Freund, P.R., et al., *Blockade of the pressor response to muscle ischemia by sensory nerve block in man*. Am J Physiol, 1979. **237**: H433-9.
28. Hansen, J., et al., *Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle*. Am J Physiol, 1994. **266**: H2508-14.

29. Wallin, B.G., R.G. Victor, and A.L. Mark, *Sympathetic outflow to resting muscles during static handgrip and postcontraction muscle ischemia*. Am J Physiol, 1989. **256**: H105-10.
30. Seals, D.R., *Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in humans*. J Appl Physiol, 1989. **66**: 2472-8.
31. Sinoway, L., et al., *Muscle acidosis during static exercise is associated with calf vasoconstriction*. J Appl Physiol, 1989. **66**: 429-36.
32. Crisafulli, A., et al., *Modulation of cardiac contractility by muscle metaboreflex following efforts of different intensities in humans*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**: H3035-42.
33. Crisafulli, A., et al., *Muscle metaboreflex-induced increases in stroke volume*. Med Sci Sports Exerc, 2003. **35**: 221-9.
34. Bastos, B.G., et al., *Left ventricular volumes and hemodynamic responses to postexercise ischemia in healthy humans*. Med Sci Sports Exerc, 2000. **32**: 1114-8.
35. Rodman, J.R., et al., *Cardiovascular effects of the respiratory muscle metaboreflexes in dogs: rest and exercise*. J Appl Physiol, 2003. **95**: 1159-69.
36. Smith, S.A., J.H. Mitchell, and M.G. Garry, *The mammalian exercise pressor reflex in health and disease*. Exp Physiol, 2006. **91**: 89-102.
37. Sinoway, L.I. and J. Li, *A perspective on the muscle reflex: implications for congestive heart failure*. J Appl Physiol, 2005. **99**: 5-22.
38. Nishiyasu, T., et al., *Relationship between mean arterial pressure and muscle cell pH during forearm ischaemia after sustained handgrip*. Acta Physiol Scand, 1994. **151**: 143-8.

39. Victor, R.G., et al., *Sympathetic nerve discharge is coupled to muscle cell pH during exercise in humans*. J Clin Invest, 1988. **82**: 1301-5.
40. Ettinger, S., et al., *Dichloroacetate reduces sympathetic nerve responses to static exercise*. Am J Physiol, 1991. **261**: H1653-8.
41. Pryor, S.L., et al., *Impairment of sympathetic activation during static exercise in patients with muscle phosphorylase deficiency (McArdle's disease)*. J Clin Invest, 1990. **85**: 1444-9.
42. Vissing, J., et al., *The exercise metaboreflex is maintained in the absence of muscle acidosis: insights from muscle microdialysis in humans with McArdle's disease*. J Physiol, 2001. **537**: 641-9.
43. O'Leary, D.S., *Point: the muscle metaboreflex does restore blood flow to contracting muscles*. J Appl Physiol, 2006. **100**: 357-8; discussion 360-1.
44. O'Leary, D.S., et al., *Muscle metaboreflex improves O₂ delivery to ischemic active skeletal muscle*. Am J Physiol, 1999. **276**: H1399-403.
45. O'Leary, D.S. and D.D. Sheriff, *Is the muscle metaboreflex important in control of blood flow to ischemic active skeletal muscle in dogs?* Am J Physiol, 1995. **268**: H980-6.
46. Sheriff, D.D., et al., *Does inadequate oxygen delivery trigger pressor response to muscle hypoperfusion during exercise?* Am J Physiol, 1987. **253**: H1199-207.
47. Augustyniak, R.A., et al., *Severe exercise alters the strength and mechanisms of the muscle metaboreflex*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**: H1645-52.
48. Joyner, M.J., *Does the pressor response to ischemic exercise improve blood flow to contracting muscles in humans?* J Appl Physiol, 1991. **71**: 1496-501.

49. Daley, J.C., 3rd, et al., *Autonomic and vascular responses to reduced limb perfusion*. J Appl Physiol, 2003. **95**: 1493-8.
50. Boushel, R., *Muscle metaboreflex control of the circulation during exercise*. Acta Physiol (Oxf). **199**: 367-83.
51. Kaufman, M.P., *Metaboreflex control of the heart*. J Physiol. **588**: 1037-8.
52. Francis, D.P., et al., *Physiological basis of fractal complexity properties of heart rate variability in man*. J Physiol, 2002. **542**: 619-29.
53. Ponikowski, P., et al., *Peripheral chemoreceptor hypersensitivity: an ominous sign in patients with chronic heart failure*. Circulation, 2001. **104**: 544-9.
54. Ponikowski, P.P., et al., *Muscle ergoreceptor overactivity reflects deterioration in clinical status and cardiorespiratory reflex control in chronic heart failure*. Circulation, 2001. **104**: 2324-30.
55. Scott, A.C., et al., *Contribution of skeletal muscle 'ergoreceptors' in the human leg to respiratory control in chronic heart failure*. J Physiol, 2000. **529**: 863-70.
56. Mitchell, J.H., M.P. Kaufman, and G.A. Iwamoto, *The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways*. Annu Rev Physiol, 1983. **45**: 229-42.
57. Thomas, G.D., et al., *Invited editorial on "Effect of arterial occlusion on responses of group III and IV afferents to dynamic exercise"*. J Appl Physiol, 1998. **84**:1825-6.
58. Nishiyasu, T., et al., *Enhancement of parasympathetic cardiac activity during activation of muscle metaboreflex in humans*. J Appl Physiol, 1994. **77**: 2778-83.
59. Gonzalez-Camarena, R., et al., *Effect of static and dynamic exercise on heart rate and blood pressure variabilities*. Med Sci Sports Exerc, 2000. **32**: 1719-28.

60. Iellamo, F., et al., *Muscle metaboreflex contribution to sinus node regulation during static exercise: insights from spectral analysis of heart rate variability*. *Circulation*, 1999. **100**: 27-32.
61. Kluess, H.A. and R.H. Wood, *Heart rate variability and the exercise pressor reflex during dynamic handgrip exercise and postexercise arterial occlusion*. *Am J Med Sci*, 2005. **329**: 117-23.
62. Arai, Y., et al., *Modulation of cardiac autonomic activity during and immediately after exercise*. *Am J Physiol*, 1989. **256**: H132-41.
63. Wang, H.J., et al., *Exercise training prevents the exaggerated exercise pressor reflex in rats with chronic heart failure*. *J Appl Physiol*. **108**: 1365-75.
64. Chiappa, G.R., et al., *Inspiratory muscle training improves blood flow to resting and exercising limbs in patients with chronic heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**: 1663-71.
65. Roseguini, B.T., et al., *Attenuation of muscle metaboreflex in chronic obstructive pulmonary disease*. *Med Sci Sports Exerc*, 2008. **40**: 9-14.
66. Roseguini, B.T., et al., *Muscle metaboreflex contribution to resting limb haemodynamic control is preserved in older subjects*. *Clin Physiol Funct Imaging*, 2007. **27**: 335-9.
67. Ribeiro, J.P., et al., *Respiratory muscle function and exercise intolerance in heart failure*. *Curr Heart Fail Rep*, 2009. **6**: 95-101.
68. Ngai, S.P., et al., *Effect of 4 weeks of Acu-TENS on functional capacity and beta-endorphin level in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: A randomized controlled trial*. *Respir Physiol Neurobiol*.

69. Ngai, S.P., et al., *Effect of Acu-TENS on post-exercise expiratory lung volume in subjects with asthma-A randomized controlled trial*. *Respir Physiol Neurobiol*, 2009. **167**: 348-53.
70. Sandberg, M.L., M.K. Sandberg, and J. Dahl, *Blood flow changes in the trapezius muscle and overlying skin following transcutaneous electrical nerve stimulation*. *Phys Ther*, 2007. **87**: 1047-55.
71. Hallen, K., et al., *Transcutaneous electrical nerve stimulation induces vasodilation in healthy controls but not in refractory angina patients*. *J Pain Symptom Manage*. **40**: 95-101.
72. Izumi, M., et al., *Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. **39**: 642-5.
73. de Vries, J., et al., *The effect of electrical neurostimulation on collateral perfusion during acute coronary occlusion*. *BMC Cardiovasc Disord*, 2007. **7**: 18.
74. Melzack, R. and P.D. Wall, *Pain mechanisms: a new theory*. *Science*, 1965. **150**: 971-9.
75. Navani, A., et al., *Treatment of tremors in complex regional pain syndrome*. *J Pain Symptom Manage*, 2003. **25**: 386-90.
76. Singh, R.B., et al., *Brain-heart connection and the risk of heart attack*. *Biomed Pharmacother*, 2002. **56 Suppl 2**: 257s-265s.
77. Cipriano, G., Jr., et al., *Short-term transcutaneous electrical nerve stimulation after cardiac surgery: effect on pain, pulmonary function and electrical muscle activity*. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2008. **7**: 539-43.

78. Mannheimer, C., H. Emanuelsson, and F. Waagstein, *The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on catecholamine metabolism during pacing-induced angina pectoris and the influence of naloxone*. Pain, 1990. **41**: 27-34.
79. Sanderson, J.E., et al., *The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on autonomic cardiovascular reflexes*. Clin Auton Res, 1995. **5**: 81-4.
80. Hammond C, M.S., Leach A, Chester R., *Transcutaneous electrical nerve stimulation for the treatment of patients with chronic refractory angina*. Br J Cardiol, 2000. **7**: 293-5.
81. Jeong, Y., et al., *Effects of iontophoretically applied naloxone, picrotoxin and strychnine on dorsal horn neuron activities treated with high frequency conditioning stimulation in cats*. Yonsei Med J, 1995. **36**: 336-47.
82. Stiller, C.O., et al., *Release of gamma-aminobutyric acid in the dorsal horn and suppression of tactile allodynia by spinal cord stimulation in mononeuropathic rats*. Neurosurgery, 1996. **39**: 367-75.
83. Meyerson, B.A. and B. Linderöth, *Mechanisms of spinal cord stimulation in neuropathic pain*. Neurol Res, 2000. **22**: 285-92.
84. Eliasson, T., et al., *Myocardial turnover of endogenous opioids and calcitonin-gene-related peptide in the human heart and the effects of spinal cord stimulation on pacing-induced angina pectoris*. Cardiology, 1998. **89**: 170-7.
85. Crepon, F., *[Electrostimulation in the rehabilitative treatment of urinary incontinence]*. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult, 1992. **3**: 50-3.
86. Janes, R.D., et al., *Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia*. Am J Cardiol, 1986. **57**: 299-309.

87. Chandler, M.J., J. Zhang, and R.D. Foreman, *Cardiopulmonary sympathetic input excites primate cuneothalamic neurons: comparison with spinothalamic tract neurons*. J Neurophysiol, 1998. **80**: 628-37.
88. Hauvast R, B.J., Dejonste M *et al.*, *Effects of spinal cord stimulation on heart rate variability and myocardial ischaemia in patients with chronic intractable angina pectoris – a prospective ambulatory electrocardiographic study*. Clin Cardiol, 1998. **21**: 33-8.
89. Meglio, M., et al., *Spinal cord stimulation affects the central mechanisms of regulation of heart rate*. Appl Neurophysiol, 1986. **49**: 139-46.
90. Emanuelsson, H., et al., *Catecholamine metabolism during pacing-induced angina pectoris and the effect of transcutaneous electrical nerve stimulation*. Am Heart J, 1987. **114**: 1360-6.
91. Foreman B, L.B., Ardell J *et al.*, *Modulation of intrinsic cardiac neurons by spinal cord stimulation: implications for its therapeutic use in angina pectoris*. Cardiovasc Res, 2000. **47**: 367-75.
92. Day, M., *Sympathetic blocks: the evidence*. Pain Pract, 2008. **8**: 98-109.
93. Larsen, B., et al., *[Stellate ganglion block with transcutaneous electric nerve stimulation (TENS): a double-blind study with healthy probands]*. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 1995. **30**: 155-62.
94. Jenkner, F.L., *[Electric blockade of sympathetic and somatic nerves through the skin (author's transl)]*. Wien Klin Wochenschr, 1980. **92**: 233-40.

95. Kaada, B., *Vasodilation induced by transcutaneous nerve stimulation in peripheral ischemia (Raynaud's phenomenon and diabetic polyneuropathy)*. Eur Heart J, 1982. **3**: 303-14.
96. Mannheimer, C., et al., *Transcutaneous electrical nerve stimulation in severe angina pectoris*. Eur Heart J, 1982. **3**: 297-302.
97. Mannheimer, C., et al., *The effects of transcutaneous electrical nerve stimulation in patients with severe angina pectoris*. Circulation, 1985. **71**: 308-16.
98. Mannheimer, C., et al., *Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in angina pectoris*. Pain, 1986. **26**: 291-300.
99. Kaada, B., et al., *Transcutaneous nerve stimulation in patients with coronary arterial disease: haemodynamic and biochemical effects*. Eur Heart J, 1990. **11**: 447-53.
100. Borjesson, M., et al., *Transcutaneous electrical nerve stimulation in unstable angina pectoris*. Coron Artery Dis, 1997. **8**: 543-50.
101. Chauhan, A., et al., *Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on coronary blood flow*. Circulation, 1994. **89**: 694-702.
102. Jessurun, G.A., et al., *Coronary blood flow dynamics during transcutaneous electrical nerve stimulation for stable angina pectoris associated with severe narrowing of one major coronary artery*. Am J Cardiol, 1998. **82**: 921-6.
103. Sanderson J, W.K., Chung H et al., *The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on coronary and systemic haemodynamics in syndrome X*. Coron Artery Dis, 1996. **7**: 547-52.

104. Norsell H, E.T., Albertsson P *et al.*, *Effects of spinal cord stimulation on coronary blood flow velocity. Coron Artery Dis*, 1998. **9**: 273-8.
105. Hauvast R, B.P., Dejonste M *et al.*, *Effects of spinal cord stimulation on regional myocardial blood flow assessed by positron emission tomography. Am J Cardiol*, 1996. **77**: 462-7.
106. Twist, D.J., *Acrocyanosis in a spinal cord injured patient--effects of computer-controlled neuromuscular electrical stimulation: a case report. Phys Ther*, 1990. **70**: 45-9.
107. Sherry, J.E., *et al.*, *Effect of burst-mode transcutaneous electrical nerve stimulation on peripheral vascular resistance. Phys Ther*, 2001. **81**: 1183-91.

Capítulo III

Objetivos

Baseado nas informações revisadas anteriormente, os efeitos da neuromodulação apresentam importância clínica e fisiológica. No entanto, no metaboreflejo muscular esquelético, as manifestações agudas da aplicação ganglionar da TENS ainda não foram exploradas. Neste contexto, conduzimos um estudo sobre a indução do metaboreflejo muscular esquelético e suas repercussões nas respostas hemodinâmicas após uma única aplicação de TENS na região ganglionar em indivíduos saudáveis, e nossos objetivos foram:

1. Testar a hipótese de que uma única intervenção com TENS ganglionar pode produzir atenuação no metaboreflejo muscular esquelético, reduzindo a redistribuição do fluxo sanguíneo, com redução na resistência vascular no membro não-exercitado, de indivíduos saudáveis;
2. Analisar o efeito da TENS sobre o comportamento do metaboreflejo muscular esquelético em indivíduos saudáveis;
3. Analisar o comportamento da variabilidade da frequência cardíaca a indução do metaboreflejo muscular esquelético após aplicação da TENS ganglionar, hipotetizando modulação do SNA em indivíduos saudáveis;

Capítulo IV

Artigo

ORIGINAL ARTICLE

Acute Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Muscle Metaboreflex and Heart Rate Variability in Healthy Subjects

Paulo J. C. Vieira, PT, Jorge P. Ribeiro, MD, ScD, Gerson Cipriano Jr, PT, ScD, Daniel Umpierre, MSc, Lawrence P. Cahalin, PT, PhD, Gaspar R. Chiappa, PT, ScD.

From the Exercise Pathophysiology Research Laboratory and Cardiology Division, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil (Vieira, Ribeiro, Umpierre, Chiappa); Physical Therapy Division, University of Brasilia, Brazil (Cipriano); Bouve College of Health Science and Department of Physical Therapy, Northeastern University, Boston, Massachusetts, (Cahalin); and the Exercise Biochemistry and Physiology Laboratory, Postgraduate Program in Health Sciences, Health Sciences Unit and Physical Therapy Division, University of Southern Santa Catarina, Criciúma, SC, Brazil (Chiappa). This work was supported by grants from FAPESC, CAPES, CNPq, and FIPE-HCPA.

Conflict of interest statement: none of the authors have any potential conflict of interest related to the contents of this paper.

Running title: Electrical stimulation and Metaboreflex

Abstract word count: 273 words – (words with key words)

Word counts for the main text (from opening paragraph through conclusions): 2.394 words

Correspondence to:

Gaspar R. Chiappa, PT, ScD
Associate Professor, Exercise Biochemistry and Physiology Laboratory,
University of Southern Santa Catarina, Criciúma,
Av Universitária, 1105, Criciúma, SC – Brazil – 88806-000
Phone: + 55 48 3431 2773 Fax: + 55 48 3431 2773
E-mail: gaspar@unesc.net

ABSTRACT

Objective: To determine the effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on muscle metaboreflex and autonomic modulation.

Design: Acute intervention study with randomized design.

Setting: Cardiovascular research laboratory.

Participants: Eleven healthy subjects (5 women, 6 men; 25 ± 1.3 years).

Intervention: Ganglionar-TENS or Placebo.

Main Outcome Measures: Mean blood pressure (MBP), calf blood flow (CBF), calf vascular resistance (CVR) and heart rate variability (HRV) were measured throughout exercise protocols (submaximal static handgrip exercise), and recovery periods with or without postexercise circulatory occlusion (PECO+ and PECO-, respectively). Muscle metaboreflex control of calf vascular resistance was estimated by subtracting the area under the curve with circulatory occlusion from the area under the curve without circulatory occlusion.

Results: Heart rate was similar during exercise performed after TENS and placebo interventions. Increase in MBP at peak exercise was attenuated by the use of TENS prior to exercise ($p < 0.001$), which was sustained throughout recovery periods (PECO+ and PECO-). Compared with placebo intervention, TENS promoted higher CBF and lower CVR during exercise and recovery (PECO+ and PECO-). Likewise, TENS induced a significant reduction in muscle metaboreflex control of CVR (TENS: 8 ± 5 vs. Placebo: 33 ± 9 units, $p < 0.05$), which was associated with significant reduction in low-frequency component of HRV during PECO+ (TENS: 32 ± 4 vs. Placebo 70 ± 5

nu, $p < 0.01$) and with increase in high-frequency component of HRV (67 ± 4 vs. 30 ± 5 nu, $p < 0.01$).

Conclusions: Transcutaneous electrical nerve stimulation attenuates metaboreflex in healthy subjects, which is accompanied by reduced sympathetic modulation.

Key Words: neuro-stimulation ; blood flow; exercise; metaboreceptors.

Regulation of the autonomic nervous system (ANS) has been a therapeutic goal in the treatment of many diseases, such as chronic heart failure and coronary artery disease.^{1, 2} One non-pharmacological intervention that has potential to improve ANS in such diseases is transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS).^{3, 4} TENS has traditionally been used for pain management, but recent studies have found significant improvements in oxygen supply to the myocardium and reduction of oxygen demand in patients with angina.^{5, 6} Since electrical nerve stimulation at low frequencies elicits decreased levels of epinephrine and norepinephrine,^{5, 7} it has been suggested that TENS could have a favorable impact on the sympathetic nervous system (SNS) such as, mitigating the effects on the pressor reflex to static exercise.⁸ Previous studies have also found acute and chronic effects of TENS on respiratory variables,^{9, 10} as well as blood flow, blood pressure, and collateral perfusion of the coronary arteries.¹¹⁻¹⁶ Several possible mechanisms may explain these effects, including release of vasodilator peptides from sensory neurons,¹⁷ muscle pump activation,¹⁵ and segmental inhibition of sympathetic vasoconstriction as observed in patients with angina.^{5, 6}

It is well known that stimulation of metabosensitive nerve endings by chemical products of muscle contraction is associated with reflex increases in blood pressure and sympathetic-mediated vasoconstriction in non-active limbs.¹⁸⁻²¹ Recently, it has been shown that TENS improves limb blood flow in patients with circulatory deficits.^{22, 23} In addition, local TENS application seems to acutely increase regional blood flow.^{24, 25} However, this may reflect a direct effect of the burst-mode inducing muscle contraction,²⁶ and it is unclear whether continuous-mode TENS without production of muscle contraction has the potential to increase peripheral blood flow. Since there is limited information on the effects of ganglionar-TENS during exercise, we aimed to test the effect of a single TENS application prior to exercise on heart rate

variability and the activation of the metaboreflex. We hypothesized that TENS would improve peripheral muscle blood flow and it would be associated with the attenuation of muscle metaboreflex.

METHODS

Subjects

The study sample consisted of 11 healthy individuals (5 women and 6 men). All subjects were non-smokers, non-obese and free of any signs or symptoms of disease revealed by medical history, physical examination and electrocardiogram at rest and during exercise. Exclusion criteria were pregnancy, breast-feeding, alcohol or drug use, and any medication with potential effects on cardiovascular variables. Subjects were asked not to drink caffeine-containing drinks or exercise for at least 12 and 48 hours, respectively, before the experimental protocols. All procedures were approved by the Committee by Ethics in Research at the University of Southern Santa Catarina. Subjects were informed about the study protocol and gave an informed written consent before their participation.

Design and Procedures

The study was a randomized crossover investigation that involved 3 visits to the laboratory. On day 1, subjects completed a health questionnaire and performed a maximal cardiopulmonary exercise test to determine peak oxygen uptake ($\dot{V}O_2$ peak). On the second and third visits, at least 72 h after the previous one, subjects performed the protocol for the evaluation of muscle metaboreflex activity using TENS or Placebo. The order of these later sessions was randomly assigned.

Transcutaneous Electrical Stimulation

Individuals were acutely treated with conventional TENS^d or Placebo. TENS intervention consisted of continuous flow, symmetrical, and rectangular TENS biphasic pulses for thirty minutes. The TENS unit was calibrated at 4 Hz frequency and 200 μ s pulse duration before the experiment using a digital recording oscilloscope.^e The frequency of stimulation was 80 Hz and the pulse duration was 150 μ s, with the intensity in milliamperes (mA) adjusted to the point of muscle contraction, defined as the sensitivity threshold.²⁷ The stimulation level of 80 Hz was intended to elicit strong sensations of paresthesia, without pain or contractions of any muscles.^{28,}
²⁹ Intensity was then increased from zero until the perceived sensation, set at the maximal level at which subjects did not report of pain and no voluntary contraction was observed. Adhesive electrodes^f were placed on each side of the vertebral process at C7 (Channel 1) and T4 (Channel 2). The same procedures were used for the placebo TENS protocol, although the equipment did not provide any stimulation current.³⁰

Measurements

Cardiopulmonary Exercise Test

A symptom-limited incremental exercise test was performed on an electrically braked cycle ergometer^a with 20 Watts increments each minute. Subjects were instructed to maintain a pedaling frequency of 1 Hz. During the test, gas exchange variables were measured breath-by-breath by a previously validated system.^b Heart rate (HR) was monitored by a 12 lead electrocardiogram.^c

Muscle Metaboreflex Study

Muscle metaboreflex was evaluated as described elsewhere.³¹ Briefly, maximal voluntary contraction (MVC) of the dominant arm was initially determined with a handgrip dynamometer.^g

Static handgrip exercise was performed at 30% of MVC for 3 min, immediately followed by postexercise circulatory occlusion (PECO+) or without circulatory occlusion (PECO-) of the exercising arm to promote selective induction of metaboreflex. The HR was measured by a heart rate monitor^h and blood pressures, as well as mean blood pressure (MBP) were measured in the non-dominant arm using a calibrated oscillometric automatic device.ⁱ Calf blood flow (CBF) was measured by venous occlusion plethysmography.^j All flow recordings were manually traced by an operator who was blinded to the intervention and time. Reproducibility of CBF measurements in our laboratory presents coefficients of variation of 5.7% and 5.9% for intra and inter-day measurements, respectively.^{31,32}

Heart Rate Variability

Recordings obtained from the heart rate monitor^h were analyzed using intervals during the 9 minutes of heart rate variability (HRV) data acquisition period. HRV in the frequency domain was calculated according to the Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.³³ Power spectral components were reported using Fast Fourier Transform at low frequency (LF) and high frequency (HF), expressed in normalized units. Briefly, LF component partially reflects sympathetic modulation, although it is also influenced by parasympathetic components,^{33, 34} while HF component is representative of the parasympathetic modulation,^{33, 34} and the LF/HF ratio indicates sympatho/vagal balance. Analysis was performed with a personal computer using a customized software^{1, 35, 36}. Artifacts were reviewed by visual inspection on the computer display. Only segments with >95% pure sinus beats were included in the final analysis.

Statistical Analysis

Values are shown as mean \pm SE. Hemodynamic responses to exercise and to PECO+/PECO- were compared by two-way ANOVA for repeated measures and Tukey–Kramer’s for post hoc comparisons. Statistical significance was accepted when $P < 0.05$. Pearson correlation coefficient was used to evaluate associations between changes in variables. Data were analyzed using SigmaPlot[®] version 11.^m

RESULTS

Table 1 shows characteristics of subjects. No adverse events occurred throughout the protocols. Figure 1 shows responses of HR, MBP, CBF, and calf vascular resistance (CVR) at baseline, during handgrip exercise, and during recovery with PECO+ or PECO-, with and without TENS. HR response to exercise and during recovery was not affected by TENS or by the occlusion protocol. MBP was reduced at peak exercise and during early recovery in the TENS group compared to placebo. CBF was increased and CVR was reduced with TENS throughout the entire protocol. PECO+ resulted in higher MBP and CVR, with reduced CBF during both TENS and Placebo conditions. As shown in Figure 2, the difference in areas under the curves of CVR during the occlusion protocol (PECO+/PECO-), which estimates the metaboreflex activity, was reduced when TENS was used (TENS: 8 ± 5 units vs. Placebo: 33 ± 9 units; $p < 0.005$).

Table 2 presents the analytical results for frequency-domain HRV. When comparing the PECO+ condition between TENS versus Placebo, the LF and HF increased after TENS application, suggesting reduction sympathetic modulation expressed by LF/HF ratio respectively (2.9 ± 1.4 vs. 4.1 ± 1.3 ; $p < 0.05$). In addition, when analyzed HRV in normalized units, LF decreased and HF increased significantly with TENS compared to Placebo condition.

DISCUSSION

The main findings of this study are that acute application of TENS, at the ganglionic region, leads to lower levels blood pressure response to handgrip exercise and reduction in muscle metaboreflex activity, which was accompanied by HRV changes, suggesting that TENS favorably influences the sympathetic nervous system. Therefore, these results support our hypotheses that acute TENS improves peripheral muscle blood flow and attenuates the muscle metaboreflex, an effect which is associated with reduction in sympathetic modulation of HRV.

Effects of Isometric Exercise on Muscle Metaboreflex Activity without the Application of TENS

Several studies have examined the mechanisms of cardiovascular adjustment to exercise followed by static maintenance of skeletal muscle metaboreflex, called post-exercise circulatory occlusion. Post-exercise circulatory occlusion traps metabolites in exercising muscle and elicits afferent feedback pathways which increase sympathetic nervous system activity via the ANS.³⁷ In addition, fluctuations in sympathetic and vagal activity that modulate the ANS have been commonly evaluated using HRV.³⁸

Previous research has examined the effects of exercise on the muscle metaboreflex and has found significantly greater SNS activity. For example, Bastos et al³⁹ demonstrated a significant increase in MBP, HR and CVR when performing isometric exercise at 30% of MVC for 3 minutes. However, the MBP and CVR remained significantly higher when PECO+ was induced, but the HR was reduced during the same period. The authors suggested that the influence of limited muscle metaboreflex activity using handgrip exercise may produce less of an effect on the regulation of HR which would explain the reduction in HR. We observed in our study a

metaboreflex response similar to that reported by Bastos et al. Furthermore, Davies et al³⁷ obtained similar results using 40% of handgrip MVC in a group of healthy young subjects and attributed the rise in MBP and CVR to a reduction in the distensibility of peripheral arterial tree due to increased sympathetic tone. Similarly, we observed a significant increase in sympathetic-vagal balance when metaboreflex was induced by postexercise occlusion, which indirectly reflects an increase in sympathetic activation and may explain the elevation of these variables in the aforementioned studies.

Although TENS is most commonly used to decrease pain via inhibition of large caliber nerve fibers in the dorsal horn of the spinal cord, preventing the propagation of impulses from smaller diameter nerve fibers, TENS has also shown to reduce angina pectoris.^{5, 40, 41} The reduction in angina has been hypothesized to be due to a reduction in sympathetic activity that could modify central and peripheral flow.^{6, 7, 42, 43, 45, 46} The results of our study suggest that such an effect on the sympathetic nervous system is likely.

Effects of TENS on Hemodynamic Responses

This study evaluated the impact of a short and acute intervention of TENS on hemodynamic response to handgrip exercise and vascular occlusion. The results from our study show that TENS reduced MBP at the peak of handgrip exercise, which was sustained throughout the PECO+ condition when subjects received TENS. Several studies have reported on the favorable effects of TENS on hemodynamic variables. Collins & DiCarlo² found that TENS attenuated the autonomic activity responsible for MBP in an animal model. Mannheimer et al^{5, 41} found that TENS reduced oxygen demand, afterload, and systolic blood pressure in patients with angina pectoris. The authors hypothesized that these findings could be due to release of vasoactive substances and/or attenuation of neural vasoconstrictor activity. In addition, it is possible that

blocking the afferent autonomic pathways with the use of TENS in the ganglion region could reduce the heightened positive feedback from over-stimulation of the sympathetic nervous system.⁴⁷ The above results and possible mechanisms of action support the potential for TENS to favorably affect neurohumoral activity as shown in our experiments as well as those by others.^{7, 48}

Our study demonstrated that the use of TENS reduced the muscle metaboreflex and favorably affected CBF and the CVR throughout the protocols. Previous reports have shown similar effects from other clinical interventions. Houssie're et al,⁴⁸ demonstrated the effect of hyperoxia on metaboreflex sensitivity of healthy young subjects leads to an increase in muscle sympathetic nerve activity and elevated blood pressure levels compared with the normoxic conditions. In a group of chronic heart failure patients with inspiratory muscle weakness, Chiappa et al,⁴⁹ showed that inspiratory muscle training was able to significantly improve CBF and the CVR by increasing the strength and endurance of the diaphragm, with subsequent attenuation of the inspiratory muscle metaboreflex. The results of this study with the use of TENS in the ganglionic region have identified another potential method to mitigate the effects of muscle metaboreflex activity on the hemodynamic performance of the peripheral microvasculature. Further research is needed to better understand the specific mechanisms of action by which TENS attenuates the metaboreflex. Further research should also examine the effects of chronic TENS application in healthy persons and persons with heightened ANS activity such as patients with chronic heart failure.

Study Limitations

The present study has several limitations that should be addressed. First, our Placebo intervention consisted of the application of TENS electrodes at the same dorsal region as that

used during TENS in the experimental group, but the TENS unit was powered off. Thus, no stimulation was provided and we are unaware of any device that could provide a real minor placebo stimulus, without promoting some level of neuromodulation.³⁰ Second, this is a study with a small sample size including only healthy young individuals and testing an acute intervention of TENS. Therefore, our results cannot be directly generalized for other populations (e.g., older subjects, heart patients), although the ganglionic TENS effect during acute exercise has not been demonstrated.

CONCLUSIONS

Acute application of TENS at the ganglion region attenuates mean blood pressure and vasoconstrictor responses during exercise and metaboreflex activation in a sample of healthy young subjects. These findings suggest that electrical stimulation can influence the autonomic activity, which warrants future investigation of both acute and chronic application of TENS in patient populations with heightened neurohumoral activity.

List of Abbreviations

ANS	autonomic nervous system
CBF	calf blood flow
CVR	calf vascular resistance
HR	heart rate
HRV	heart rate variability
HF	high frequency
LF	low frequency
MBP	mean blood pressure
MVC	maximal voluntary contraction
PECO+	postexercise with circulatory occlusion
PECO-	postexercise without circulatory occlusion
SNS	sympathetic nervous system
TENS	transcutaneous electrical nerve stimulation
$\dot{V}O_{2peak}$	peak oxygen uptake

Grants

This study was supported by grants from the following Brazilian agencies: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Santa Catarina, CAPES, CNPq, and FIPE-HCPA.

References

1. Garg RK, Sorrentino MJ. Beta blockers for CHF. Adrenergic blockade dramatically reduces morbidity and mortality. *Postgrad Med.* 2001;109:49-56.
2. Collins HL, DiCarlo SE. TENS attenuates response to colon distension in paraplegic and quadriplegic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283:H1734-1739.
3. Williams JA, Imamura M, Fregni F. Updates on the use of non-invasive brain stimulation in physical and rehabilitation medicine. *J Rehabil Med.* 2009;41:305-311.
4. Walsh DM, Howe TE, Johnson MI, Sluka KA. Transcutaneous electrical nerve stimulation for acute pain. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009:CD006142.
5. Mannheimer C, Emanuelsson H, Waagstein F. The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on catecholamine metabolism during pacing-induced angina pectoris and the influence of naloxone. *Pain.* 1990;41:27-34.
6. Sanderson JE, Tomlinson B, Lau MS, et al. The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on autonomic cardiovascular reflexes. *Clin Auton Res.* 1995;5:81-84.
7. Emanuelsson H, Mannheimer C, Waagstein F, Wilhelmsson C. Catecholamine metabolism during pacing-induced angina pectoris and the effect of transcutaneous electrical nerve stimulation. *Am Heart J.* 1987;114:1360-1366.
8. Hollman JE, Morgan BJ. Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on the pressor response to static handgrip exercise. *Phys Ther.* 1997;77:28-36.
9. Ngai SP, Jones AY, Hui-Chan CW, Ko FW, Hui DS. Effect of Acu-TENS on post-exercise expiratory lung volume in subjects with asthma-A randomized controlled trial. *Respir Physiol Neurobiol.* 2009;167:348-353.

10. Ngai SP, Jones AY, Hui-Chan CW, Ko FW, Hui DS. Effect of 4 weeks of Acu-TENS on functional capacity and beta-endorphin level in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: A randomized controlled trial. *Respir Physiol Neurobiol*. Jun 16.
11. Indergand HJ, Morgan BJ. Effects of high-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation on limb blood flow in healthy humans. *Phys Ther*. 1994;74:361-367.
12. Jacobsson F, Himmelmann A, Bergbrant A, Svensson A, Mannheimer C. The effect of transcutaneous electric nerve stimulation in patients with therapy-resistant hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000;14:795-798.
13. Sandberg ML, Sandberg MK, Dahl J. Blood flow changes in the trapezius muscle and overlying skin following transcutaneous electrical nerve stimulation. *Phys Ther*. 2007;87:1047-1055.
14. Hallen K, Hrafnkelsdottir T, Jern S, Biber B, Mannheimer C, DuttaRoy S. Transcutaneous electrical nerve stimulation induces vasodilation in healthy controls but not in refractory angina patients. *J Pain Symptom Manage*. 40:95-101.
15. Izumi M, Ikeuchi M, Mitani T, Taniguchi S, Tani T. Prevention of venous stasis in the lower limb by transcutaneous electrical nerve stimulation. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 39:642-645.
16. de Vries J, Anthonio RL, Dejongste MJ, et al. The effect of electrical neurostimulation on collateral perfusion during acute coronary occlusion. *BMC Cardiovasc Disord*. 2007;7:18.
17. Guyton AC. Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. *Science*. 1991;252:1813-1816.
18. Victor RG, Bertocci LA, Pryor SL, Nunnally RL. Sympathetic nerve discharge is coupled to muscle cell pH during exercise in humans. *J Clin Invest*. 1988;82:1301-1305.

19. Seals DR. Sympathetic neural discharge and vascular resistance during exercise in humans. *J Appl Physiol.* 1989;66:2472-2478.
20. Sinoway L, Prophet S, Gorman I, et al. Muscle acidosis during static exercise is associated with calf vasoconstriction. *J Appl Physiol.* 1989;66:429-436.
21. Hansen J, Thomas GD, Jacobsen TN, Victor RG. Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1994;266:H2508-2514.
22. Twist DJ. Acrocyanosis in a spinal cord injured patient--effects of computer-controlled neuromuscular electrical stimulation: a case report. *Phys Ther.* 1990;70:45-49.
23. Kaada B. Vasodilation induced by transcutaneous nerve stimulation in peripheral ischemia (Raynaud's phenomenon and diabetic polyneuropathy). *Eur Heart J.* 1982;3:303-314.
24. Currier DP, Petrilli CR, Threlkeld AJ. Effect of graded electrical stimulation on blood flow to healthy muscle. *Phys Ther.* 1986;66:937-943.
25. Tracy JE, Currier DP, Threlkeld AJ. Comparison of selected pulse frequencies from two different electrical stimulators on blood flow in healthy subjects. *Phys Ther.* 1988;68:1526-1532.
26. Sherry JE, Oehrlein KM, Hegge KS, Morgan BJ. Effect of burst-mode transcutaneous electrical nerve stimulation on peripheral vascular resistance. *Phys Ther.* 2001;81:1183-1191.
27. Cipriano G, Jr., de Camargo Carvalho AC, Bernardelli GF, Tayar Peres PA. Short-term transcutaneous electrical nerve stimulation after cardiac surgery: effect on pain,

- pulmonary function and electrical muscle activity. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2008;7:539-543.
28. Low J RA. In: Heinemann B-, ed. *Electrotherapy explained: principles and practice.* 3rd ed. Philadelphia, USA: An imprint of Elsevier Limited; 2000:431.
 29. Mannheimer JS LG. In: Company D, ed. *Clinical transcutaneous electrical nerve stimulation* Philadelphia, USA 1984:636.
 30. DeSantana JM, Walsh DM, Vance C, Rakel BA, Sluka KA. Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain. *Curr Rheumatol Rep.* 2008;10:492-499.
 31. Roseguini BT, Alves CN, Chiappa GR, Stein R, Knorst MM, Ribeiro JP. Attenuation of muscle metaboreflex in chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:9-14.
 32. Roseguini BT, Alves CN, Chiappa GR, Stein R, Ribeiro JP. Muscle metaboreflex contribution to resting limb haemodynamic control is preserved in older subjects. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2007;27:335-339.
 33. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation.* 1996;93:1043-1065.
 34. Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation.* 1991;84:482-492.
 35. Tarvainen MP, Ranta-Aho PO, Karjalainen PA. An advanced detrending method with application to HRV analysis. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2002;49:172-175.

36. Tarvainen MP NJ. Kubios HRV version 2.0 User's Guide. In: Kuopio Uo, ed Finland: Department of Physics University of Kuopio; 2008.
37. Davies TS, Frenneaux MP, Campbell RI, White MJ. Human arterial responses to isometric exercise: the role of the muscle metaboreflex. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112:441-447.
38. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur Heart J*. 1996;17:354-381.
39. Bastos BG, Williamson JW, Harrelson T, Nobrega AC. Left ventricular volumes and hemodynamic responses to postexercise ischemia in healthy humans. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32:1114-1118.
40. Sadowsky CL. Electrical stimulation in spinal cord injury. *Neuro Rehabilitation*. 2001;16:165-169.
41. Mannheimer C, Carlsson CA, Emanuelsson H, Vedin A, Waagstein F, Wilhelmsson C. The effects of transcutaneous electrical nerve stimulation in patients with severe angina pectoris. *Circulation*. 1985;71:308-316.
42. Chauhan A, Mullins PA, Thuraisingham SI, Taylor G, Petch MC, Schofield PM. Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on coronary blood flow. *Circulation*. 1994;89:694-702.
43. de Jongste MJ, Hautvast RW, Hillege HL, Lie KI. Efficacy of spinal cord stimulation as adjuvant therapy for intractable angina pectoris: a prospective, randomized clinical study. Working Group on Neurocardiology. *J Am Coll Cardiol*. 1994;23:1592-1597.
44. Day M. Sympathetic blocks: the evidence. *Pain Pract*. 2008;8:98-109.

45. Larsen B, Macher F, Bolte M, Larsen R. [Stellate ganglion block with transcutaneous electric nerve stimulation (TENS): a double-blind study with healthy probands]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.*1995;30:155-162.
46. Jenkner FL. [Electric blockade of sympathetic and somatic nerves through the skin (author's transl)]. *Wien Klin Wochenschr.*1980;92:233-240.
47. Guyton A HJ. The autonomic nervous system and the adrenal medulla. In: Guyton A HJ, ed. *Textbook of medical physiology.* Philadelphia: Elsevier Saunders Inc; 2006.
48. Houssiere A, Najem B, Cuyllits N, Cuypers S, Naeije R, van de Borne P. Hyperoxia enhances metaboreflex sensitivity during static exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*2006;291:H210-215.
49. Chiappa GR, Roseguini BT, Vieira PJ, et al. Inspiratory muscle training improves blood flow to resting and exercising limbs in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.*2008;51:1663-1671.

Suppliers

- ^a. ER 900 Ergoline, VIASYS GmbH – Erich Jaeger, Hoechber, Germany, D 97204.
- ^b. Oxycon Delta, CPX System, VIASYS GmbH – Erich Jaeger, Hoechber, Germany, D 97204.
- ^c. Cardiofax V ECG-1500 series, Nihon Kohden Corporation, Nishiochiai, Shinjuku-ku, Tokyo, 161-8560, Japan.
- ^d. TensMed 911 Device, Enraf-Nonius B.V., Rotterdam, Netherlands, GB 3004.
- ^e. 1602 Gould Electronics Ltd, Instrument Systems, Roebuck Rd, Hainault, Ilford, Essex, IG63UE, UK.
- ^f. CF5050 with MultiStick® Gel size 2” x 2” (5x5cm), Axelgaard Manufacturing CO. Ltd, Fallbrook, CA 92028, USA.
- ^g. Jamar® Hydraulic Hand Dynamometer Dual-Scale (0-200lbs), Sammons Preston CO., Bolingbrook, IL 60440-5117, USA.
- ^h. POLAR model RS800, Kempele, FI 90440.
- ⁱ. Dinamap model 1846SX/P blood pressure monitor, Critikon, PO Box 31800, Tampa, FL 33631.
- ^j. TL-400 Hokanson, Bellevue, USA, WA 98005.
- ^l. KUBIOS, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Department of Physics, University of Kuopio, Kuopio, Finland FIN 70211.

^m. SigmaPlot[®] 11, Exact Graphs and Data Analysis, Systat Software, Inc. 1735 Technology Drive, Suite 430, CA 95110 USA.

Figure Legends

Fig. 1 Mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), calf blood flow (CBF), and calf vascular resistance (CVR) in values absolutes during static handgrip exercise, postexercise circulatory occlusion (PECO+) or without occlusion (PECO-) periods. *ANOVA two-way for repeated measures ($P < 0.05$): TENS vs. Placebo: PECO+ (TENS) vs. PECO+ (Placebo); † ANOVA two-way for repeated measures ($P < 0.05$): TENS vs. Placebo: PECO- (TENS) vs. PECO- (Placebo).

Fig. 2 Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance (CVR), obtained by the subtraction of the area under the curve in circulatory occlusion period (PECO+) from control period (PECO-) during TENS and Placebo situation. * $P < 0.05$.

Tab. 1 Subjects characteristics

	Individuals (n = 11/ 5 women and 6 men)
Age, yr	25 ± 1.3
Height, cm	169 ± 2
Weight, kg	65 ± 3
BMI, kg/m ²	23 ± 1
CPET	
$\dot{V}O_2$ peak, l/min	3.2 ± 0.3
RER	1.1 ± 0.02
Hemodynamics	
SBP, mmHg	126 ± 13
DBP, mmHg	81 ± 7
MBP, mmHg	96 ± 8
CBF, ml.min ⁻¹ .100g ⁻¹	2.8 ± 0.9
CVR, units	38 ± 13.7
Handgrip Force, N	48 ± 4

Data expressed in mean ± SE. BMI = body mass index; CPET = Cardiopulmonary Exercise Test; $\dot{V}O_2$ = Oxygen Uptake; RER = Respiratory Exchange Ratio; SBP = Systolic Blood Pressure; DBP = Diastolic Blood Pressure; MBP = Mean Blood Pressure; CBF = Calf Blood Flow; CVR = Calf Vascular Resistance.

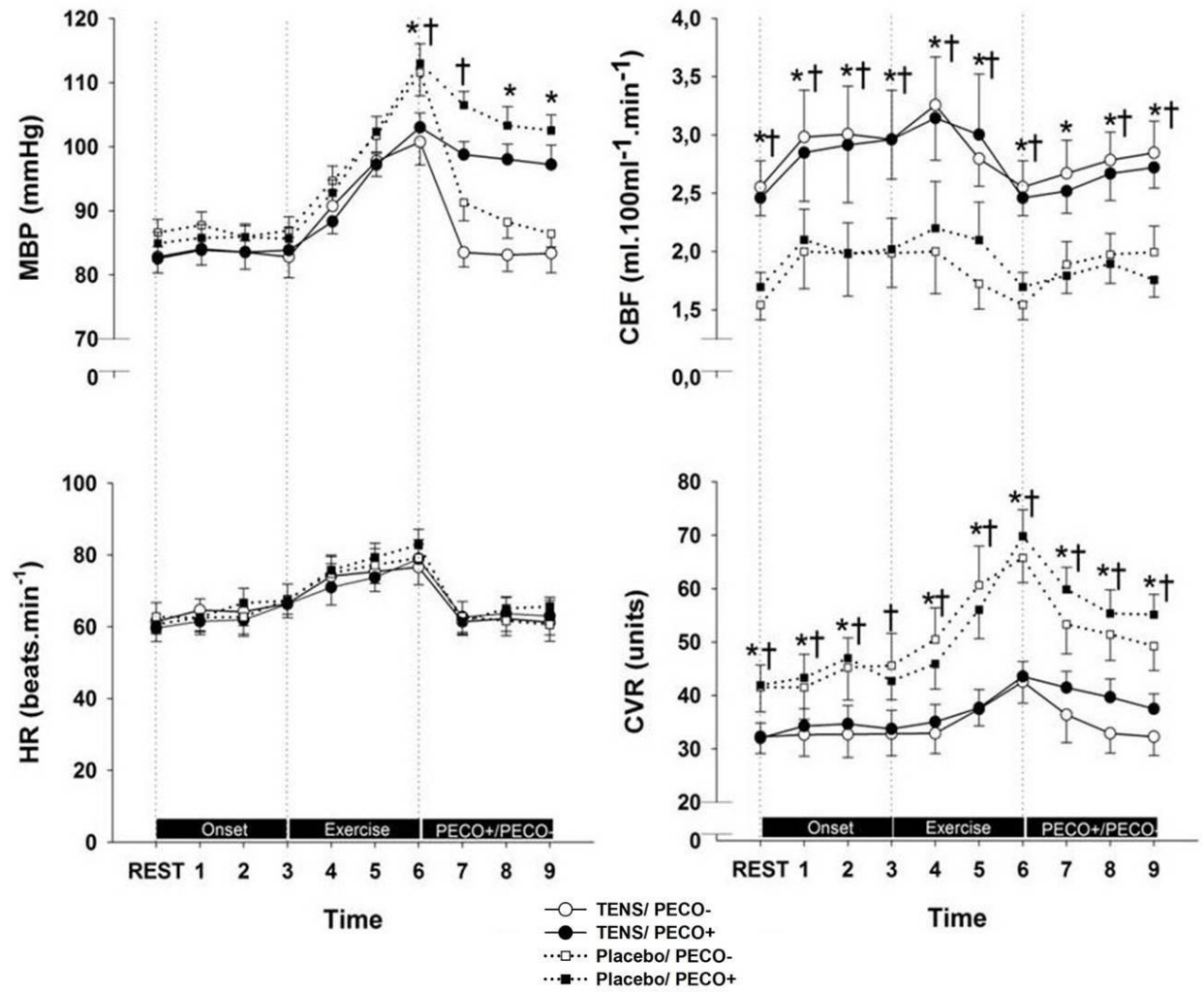


Fig. 1 Mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), calf blood flow (CBF), and calf vascular resistance (CVR) in values absolutes during static handgrip exercise, postexercise circulatory occlusion (PECO+) or without occlusion (PECO-) periods.

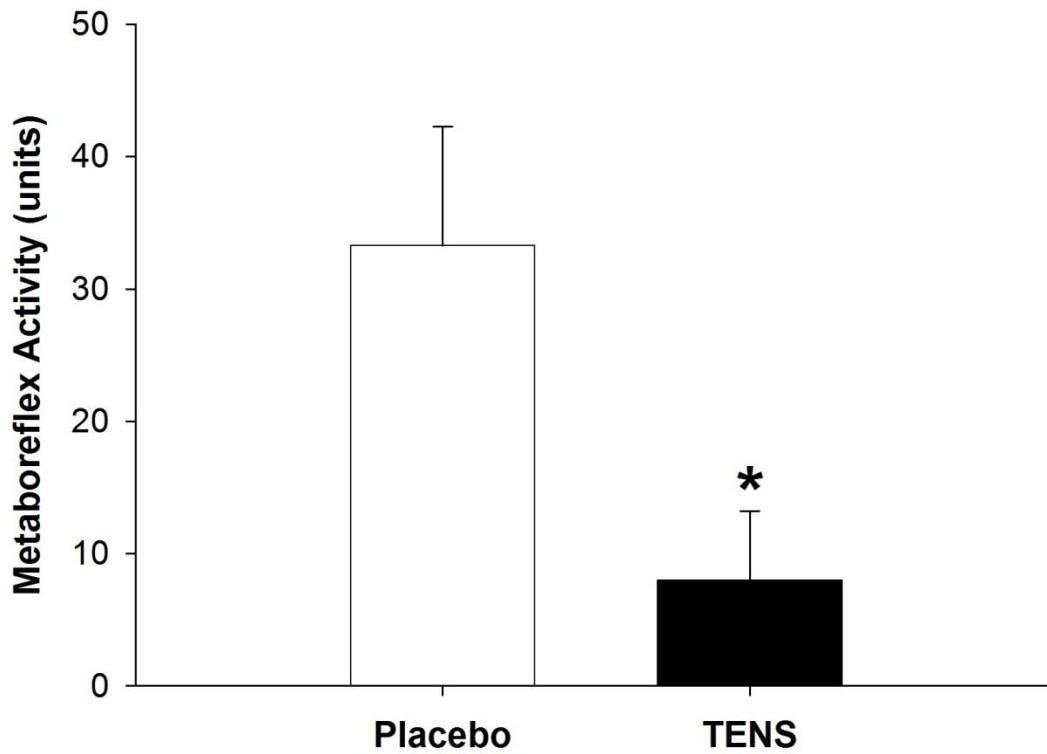


Fig. 2 Estimated muscle metaboreflex control of calf vascular resistance (CVR), obtained by the subtraction of the area under the curve in circulatory occlusion period (PECO+) from control period (PECO-) during TENS and Placebo situation.

Tab. 2 Frequency-Domain Measures

Variables	Placebo						TENS					
	Rest	Exer	PECO+	Rest	Exer	PECO-	Rest	Exer	PECO+	Rest	Exer	PECO-
LF, ms ²	1160±297	801±307*	1886±593*§	788±166	631±186	668±94	1630±617	770±266*	2856±777*†§	1280±280‡	681±204*	919 ±173*‡
HF, ms ²	413±173	377±226	1212±588*§	634±252	672±356	696±212	1316±591†	416±201*	2294±561*†‡§	1263±415‡	745±386*	1230±344‡
LF/HF	3.5±0.6	3.1±0.45	4.1±1.3*§	2.4±0.6	3.3±0.75*	1.6±0.3*	2.1±0.4†	2.9±0.5*	2.9±1.4*†§	2.3±0.7	2.6±0.5†‡	1.4±0.4*
LF nu, ms ²	73±3.5	73±3	70±5§	63±5	67±6	57±5	48±6†	35±4†	32±4*†§	56±6	61±6	49±5‡
HF nu, ms ²	27±3.5	27±3	30±5§	37±5	32±6	43±5	52±6†	66±4*†	67±4*†‡§	44±6	39±6	51±5*‡
RR, ms	865±63	722±43	921±56	917±63	758±41	944±61	860±56	719±40	882±54	898±72	741±46	919±67

Frequency-domain measures by FFT. Data expressed in mean ± SE. LF, low frequency; HF, high frequency; LF/HF ratio, low to high frequency; nu, normality units; *Significantly different from baseline ($P < 0.05$). †Significantly different from TENS with PECO+ vs. Placebo ($P < 0.05$). ‡ Significantly different from TENS with PECO- vs. Placebo ($P < 0.05$). § Significantly different from PECO+ vs. PECO- ($P < 0.05$).

ANEXOS

Formação Complementar Durante o Mestrado

Artigos publicados

1. Chiappa GR, Ribeiro JP, Vieira PJC, Alves CN, Dubas J, Queiroga FJr, Batista LD, Silva AC, Neder JA. **Inspiratory resistive loading after all-out exercise improves subsequent performance.** *Eur J Appl Physiol (2009) 106:297-303*. Fator de Impacto: 1,931
2. Umpierre D, Stein R, Vieira PJC, Ribeiro JP. **Blunted vascular responses but preserved endothelial vasodilation after submaximal exercise in chronic heart failure.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil (2009) 16:53-59*. Fator de Impacto: 2,361
3. Chiappa GR, Roseguini BT, Vieira PJC, Alves CN, Tavares AMV, Winkelmann E, Ferlin EL, Stein R, Ribeiro JP. **Inspiratory muscle training improves blood flow to resting and exercising limbs in patients with chronic heart failure.** *J Am Coll Cardiol (2008) 51:1663-1671*. Fator de Impacto: 11,438

Artigos submetidos

1. Vieira PJC, Ribeiro JP, Cipriano GJr, Umpierre D, Leal T, Cahalin LP, Chiappa GR. **Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on muscle metaboreflex and heart rate variability in healthy subjects.** *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation (2010)*. Fator de Impacto: 2,169
2. Vieira PJC, Umpierre D, Chiappa GR, Stein R, Ribeiro JP. **Resistance exercise with restricted blood flow in young and older men.** *Journal of Aging and Physical Activity (2010)*. Fator de Impacto: 1,660

Artigos em preparo

1. Santos FV, Cipriano GJr, Chiappa GR, Vieira PJC, Branco JN. **Effects of mid-frequency ganglion transcutaneous electrical stimulation on peripheral blood flow in healthy individuals.**
2. Vieira PJC, Ribeiro JP, Berton DC, Graciano T, Souza FJF, Chiappa GR. **Augmented inspiratory muscle metaboreflex in chronic obstructive pulmonary disease.**

Projetos de pesquisa em andamento

Nº	Título	Situação	Participação
1. 08035	<i>Efeitos da suplementação de ácido fólico e do exercício sobre a função endotelial de indivíduos infectados pelo HIV em terapia antiretroviral</i>	Andamento	Colaborador
2. 08050	<i>Efeitos do treinamento aeróbico de intensidade alta e moderada na função endotelial sistêmica de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva</i>	Andamento	Colaborador
3. 09238	<i>Efeito da N-acetilcisteína na redistribuição do fluxo sanguíneo e estresse oxidativo em pacientes com insuficiência cardíaca e fraqueza muscular inspiratória</i>	Aprovado	Autor
4. 09309	<i>Efeito do treinamento muscular inspiratório na redistribuição do fluxo sanguíneo no pós-operatório de revascularização do miocárdio</i>	Andamento	Colaborador
5. 09626	<i>Avaliação da capacidade funcional e dos fatores limitantes ao exercício máximo em pacientes com bronquiolite obliterante pós-infecciosa</i>	Andamento	Colaborador
6. 09520	<i>Composição corporal em pacientes hospitalizados por insuficiência cardíaca descompensada e sua relação com parâmetros clínicos, funcionais e readmissão hospitalar</i>	Andamento	Colaborador
7.	<i>Efeito da estimulação elétrica nervosa transcutânea ganglionar sobre a dinâmica do consumo de oxigênio em pacientes com insuficiência cardíaca</i>	Submetido	Autor

Publicações em anais de eventos

1. Viera PJC, Ribeiro JP, Cipriano GJr, Chiappa GR. **Efeito da estimulação elétrica nervosa transcutânea no metaboreflexo muscular e variabilidade da frequência cardíaca em sujeitos saudáveis.** In: 65º Congresso Brasileiro de Cardiologia, Belo Horizonte. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia-suplemento, 2010. vol.95 p.142*
2. Cipriano GJr, Vieira PJC, Leal TD, Brito LM, Ribeiro JP, Chiappa GR. **Efeito da estimulação elétrica transcutânea ganglionar sobre a resposta pressórica ao exercício de prensão palmar.** In: 65º Congresso Brasileiro de Cardiologia, Belo Horizonte. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia-suplemento, 2010. vol.95 p.133*
3. Vieira PJC, Chiappa GR, Umpierre D, Stein R, Ribeiro JP. **Respostas hemodinâmicas ao exercício resistido com restrição do fluxo sanguíneo em indivíduos jovens e idosos.** In: 65º Congresso Brasileiro de Cardiologia, Belo Horizonte. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia-suplemento, 2010. vol.95 p.139*
4. Alves CN, Chiappa GR, Vieira PJC, Umpierre D, Ribeiro JP. **Efeito do treinamento muscular inspiratório na redistribuição do fluxo sanguíneo no pós-operatório de cirurgia de revascularização do miocárdio.** In: 65º Congresso Brasileiro de Cardiologia, Belo Horizonte. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia-suplemento, 2010. vol.95 p.135*
5. Vieira PJC, Umpierre D, Chiappa GR, Stein R, Ribeiro JP. **Resistance exercise with restricted blood flow in young and older men.** In: 2008 World Congress of Cardiology, Buenos Aires. *Circulation, 2008. vol.118 p.e475*

6. Umpierre D, Ribeiro JP, Vieira PJC, Moraes RS, Ferlin EL, Stein R. **A Single submaximal exercise session enhances systemic endothelial function independently of changes in blood flow in patients with chronic heart failure.** In: 2008 World Congress of Cardiology, Buenos Aires. *Circulation, 2008. vol.118 p.e476*