

La activación precoz del reflejo simpático cardiovascular es independiente del tiempo de oclusión durante la hiperemia reactiva

Dr. Erislandis López-Galán¹, Dr. Adán Andreu-Heredia¹, Dr. Ramón Carrazana-Escalona¹, Dra. Odalis Querts Méndez¹, Dr. Juan C. García Naranjo², Dr. Luis A. Lazo-Herrera³, Dr. Gustavo A. Muñoz-Bustos⁴, Dr. Felipe A. Albarrán-Torres⁵ y Dr. Miguel E. Sánchez-Hechavarría^{6,7}

¹ Facultad de Medicina, Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba.

² Centro de Biofísica Médica, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba

³ Facultad de Ciencias Médicas Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna, Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Pinar del Río, Cuba.

⁴ Universidad de Las Américas, Sede Concepción, Facultad de Ciencias de la Salud, Chile.

⁵ Universidad Católica de la Santísima Concepción, Departamento de Ciencias Básicas y Morfológicas, Facultad de Medicina. Concepción, Chile

⁶ Universidad Católica de la Santísima Concepción. Programa de Promoción de la Salud y Prevención de la Enfermedad (PROSALUD) del Núcleo Científico Tecnológico para el Desarrollo Costero Sustentable. Departamento de Ciencias Clínicas y Preclínicas. Facultad de Medicina. Concepción, Chile.

⁷ Universidad Adventista de Chile. Núcleo Científico de Ciencias de la Salud. Facultad de Ciencias de la Salud. Chillán, Chile.

Full English text of this article is also available

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 26 de febrero de 2021

Aceptado: 26 de abril de 2021

Online: 14 de enero de 2022

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Abreviaturas

ECG: electrocardiograma

HR: hiperemia reactiva

ON: óxido nítrico

PTT: tiempo de tránsito del pulso (siglas en inglés)

SNS: sistema nervioso simpático

✉ ME Sánchez-Hechavarría
Alonso de Ribera 2850. CP 4090541.
Concepción, Chile.

Correos electrónicos:
misanchez@ucsc.cl y
miguel Sanchez@unach.cl

RESUMEN

Introducción: La hiperemia reactiva es una técnica donde se aplica una reperfusión rápida y exagerada a un órgano o tejido cuando se restablece la circulación tras un período de oclusión arterial total.

Objetivo: Analizar el papel del tiempo de oclusión en los cambios dinámicos de la activación autonómica durante la hiperemia reactiva.

Método: Participaron en este estudio sujetos sanos (n=30) con edades entre 18 y 25 años. La reactividad vascular se evaluó midiendo los cambios dinámicos en la amplitud del volumen del pulso de los dedos y el tiempo de tránsito del pulso relativo a los intervalos RR en el brazo de prueba (brazo ocluido) y en el brazo control (brazo contralateral no ocluido) durante 1, 3 y 5 minutos de oclusión, con el uso de dos sensores independientes de fotopletimografía. La variabilidad de la frecuencia cardíaca se calculó a partir de la señal de electrocardiograma adquirida simultáneamente para monitorear los cambios dinámicos en la actividad del sistema nervioso autónomo cardíaco. El análisis variable en el tiempo de todas las señales se mostró cada 1 segundo en los gráficos de respuesta promedio.

Resultados: El análisis variable en el tiempo de la respuesta vascular y autonómica durante la hiperemia reactiva demostró la presencia de un patrón de respuesta característico con un aumento en el índice simpático y una disminución del índice parasimpático entre los 8 y 10 segundos, un aumento en la frecuencia cardíaca a los 20 segundos y un aumento progresivo de la amplitud del volumen del pulso durante los primeros 60 segundos, después de la oclusión, independientemente del tiempo de esta. Además, se produjo una disminución en el tiempo de tránsito del pulso relativo a los intervalos RR, seguido de un aumento, independientemente del tiempo de oclusión.

Conclusiones: La activación simpática cardiovascular temprana durante la hiperemia reactiva es independiente del tiempo de oclusión, lo que sugiere que se trata

Contribución de los autores

1. Conceptualización: MESH, ELG, OQM and JCGN
2. Procesamiento de datos: RCE, AAH, MESH
3. Análisis formal: RCE, GABM
4. Adquisición de fondos: ELG, JCGN, OQM
5. Investigación: ELG, AAH
6. Metodología: RCE, GABM, FAAT
7. Administración del proyecto: ELG, JCGN, OQM
8. Recursos: JCGN, ELG, OQM
9. Software: RCE, GABM, FAAT
10. Supervisión: MESH, JCGN, OQM
11. Visualización: ELG, FAAT, LALH
12. Redacción: LALH, ELG, JCGN
13. Revisión y edición: MESH, RCE, ELG, FAAT, GABM, OQM, LALH, AAH

Todos los autores revisaron críticamente el manuscrito y aprobaron el informe final.

de una respuesta autonómica cardiovascular refleja involucrada en la generación del fenómeno fisiológico de hiperemia reactiva.

Palabras clave: Hiperemia reactiva, Sistema nervioso autónomo, Fotoplethysmografía, Variabilidad de la frecuencia cardíaca

Early activation of the cardiovascular sympathetic reflex is independent of the occlusion time during reactive hyperemia

ABSTRACT

Introduction: Reactive hyperemia is a technique where rapid and exaggerated reperfusion is applied to an organ or tissue when circulation is restored after a period of total arterial occlusion.

Objective: To analyze the role of occlusion time on dynamic changes in autonomic activation during reactive hyperemia.

Method: Healthy individuals (n=30) aged 18 to 25 years old participated in this study. Vascular reactivity was assessed by measuring the dynamic changes in finger pulse volume amplitude and pulse transit time relative to the RR intervals in the test (occluded arm) and control arm (contralateral non-occluded arm) during one, three and five minutes of occlusion using two separate photoplethysmographic sensors. Heart rate variability was calculated from the simultaneously acquired electrocardiogram signal to monitor the dynamic changes in cardiac autonomic nervous system activity. The variables analysis of all signals was displayed every one second in the average response graphics.

Results: Time-varying analysis of the vascular and autonomic response during reactive hyperemia demonstrated the presence of a characteristic response pattern with an increase in the sympathetic index and a decrease in the parasympathetic index between the eight and ten seconds, an increase in heart rate at 20 seconds and a progressive increase in pulse volume amplitude during the first 60 seconds after occlusion; regardless of the time of occlusion. In addition, there was a decrease in pulse transit time relative to RR intervals, followed by an increase; regardless of occlusion time.

Conclusions: Early cardiovascular sympathetic activation during reactive hyperemia is independent from occlusion time, suggesting a reflex cardiovascular autonomic response involved in the generation of the physiological phenomenon of reactive hyperemia.

Keywords: Reactive hyperemia, Autonomic nervous system, Photoplethysmography, Heart rate variability

INTRODUCCIÓN

La hiperemia reactiva (HR) es una técnica bien establecida caracterizada por una reperfusión rápida y exagerada a un órgano o tejido cuando la circulación se restablece después de un período de oclusión total. Trabajos anteriores han encontrado una relación directa entre el tiempo de oclusión y la magnitud de la respuesta hiperémica¹⁻³. La regulación vascular periférica en la HR está mediada, en parte, por el endotelio vascular⁴. La disfunción endotelial puede predecir eventos cardiovasculares y se considera una alteración clave en el desarrollo de la aterogénesis y en la fisiopatología de la aterosclerosis coronaria. Una de sus consecuencias funciona-

les es el deterioro en la liberación del factor relajante derivado del endotelio, el óxido nítrico (ON), que tiene importantes propiedades antiaterogénicas^{5,6}.

Para evaluar la función endotelial se ha utilizado la angiografía; pero su carácter invasivo y la necesidad de operadores expertos⁷, constituyen sus principales dificultades. Entre las pruebas no invasivas empleadas, la más extendida es la dilatación mediada por el flujo de las arterias del brazo. Esta técnica mide la capacidad de las arterias para responder a la liberación de ON durante la prueba de HR, pero es difícil de usar, pues necesita un operador experto y no permite detectar cambios a nivel de la microvasculatura^{3,8,9}. Por tal motivo, la medición de la función endotelial con tonometría arterial periférica ha ga-

nado mayor atención, luego del desarrollo de la fotopleletismografía, un dispositivo apropiado para medir los cambios volumétricos arteriales pulsátiles, independiente del observador, a través de la amplitud del volumen del pulso del dedo^{3,8,10}.

El ON, derivado del endotelio vascular, es uno de los principales factores que contribuyen a la vasodilatación causada por la HR, y varios estudios han demostrado asociación entre la actividad del sistema nervioso autónomo y la HR¹¹⁻¹⁴. El procedimiento de oclusión del antebrazo para inducir HR, posiblemente, afecta la actividad de este sistema. El déficit circulatorio durante la fase de oclusión puede, por sí mismo, conducir a un aumento de la actividad simpática, que participa en la regulación del tono vascular^{11,15}. Además, esta activación simpática posiblemente juegue un papel importante en la mediación de la variabilidad de las respuestas vasculares entre personas¹⁵ y en los cambios en la fuerza de cizallamiento que ejerce la sangre sobre los vasos sanguíneos durante la HR¹⁶.

Estudios previos han demostrado que el ejercicio dinámico produce un reflejo muscular —conocido como *metaboreflex* en su idioma original—, desencadenado por las terminaciones nerviosas aferentes de los tipos III y IV, que son sensibles a la acumulación de productos finales del metabolismo muscular (ácido láctico, adenosina, potasio, fosfatos, hidrogeniones y productos del ácido araquidónico), y aumentan la actividad simpática de la vasculatura sistémica. En el músculo esquelético activo hipoperfundido, este reflejo metabólico muscular aumenta la actividad simpática y constituye un potente elevador de la presión arterial; y, durante el ejercicio dinámico submáximo, aumenta notablemente la frecuencia cardíaca¹⁷.

Bade *et al.*¹⁵ han demostrado que una respuesta similar, a través de fibras nerviosas quimiosensibles activadas por metabolitos liberados por el tejido isquémico, puede estar asociado con la HR y producir activación simpática. Además, se ha indicado que las influencias opuestas de la vasodilatación dependiente del endotelio y la vasoconstricción mediada por el simpático, posiblemente determinen la respuesta de la amplitud del volumen del pulso resultante en el brazo de prueba durante la HR¹⁵. Sin embargo, la activación simpática durante la HR no está completamente entendida.

En el presente estudio se investigó el papel del tiempo de oclusión en los cambios dinámicos de la activación autonómica durante la HR, con la hipótesis de que la naturaleza refleja de la activación sim-

pática durante esta prueba y su secuencia temporal, se pueden evidenciar al aplicar métodos de tiempo-frecuencia.

MÉTODO

Selección de sujetos

Treinta voluntarios sanos en el rango de edad de 18 a 25 años (media de 20,3±1,7) participaron en el presente estudio. Ninguno de los sujetos tenía antecedentes de enfermedades cardiovasculares, respiratorias, endocrinas o neurales, y eran normotensos (presión arterial en reposo 101±11,2/63,6±8,5 mmHg₃), no obesos (índice de masa corporal 21,9±2,6 kg/m²), no fumadores y libres de consumo de medicamentos. Se pidió a los sujetos que evitaran ingerir alimentos durante 2 horas y abstenerse de la ingestión de té, café, alcohol o la realización de actividad física extenuante durante 24 horas antes de las pruebas.

Registros fisiológicos

Todos los registros se realizaron a temperatura ambiente (24-27 °C) y luminancia controlada (luz tenue). La presión arterial basal se midió después de 15 min de reposo en decúbito supino. El manguito del esfigmomanómetro se mantuvo abrochado al brazo para facilitar la oclusión arterial en el momento necesario. La señal del electrocardiograma (ECG) se registró en la derivación bipolar D_{II} mediante el uso de electrodos desechables (Ag-AgCl). La onda de pulso se registró con un emisor infrarrojo (LED, 850 nm) y un fotosensor (fotodiodo), colocado en el dedo medio de ambos miembros superiores. Las señales del ECG y la fotopleletismografía del equipo AngioECG¹⁸, con un selector de frecuencia (filtro pasabanda de 0,5-30 Hz), se digitalizaron a una frecuencia de muestreo de 1 kHz.

Estado de reposo: Al inicio de la sesión, los pacientes descansaron en una cama bajo las condiciones ambientales antes mencionadas hasta que se logró una mejor adaptación al escenario de la prueba, luego se midió la presión arterial y se realizó un ECG de control para detectar cualquier alteración del ritmo cardíaco; y, posteriormente, se registraron simultáneamente —durante 5 minutos— el ECG y la fotopleletismografía.

Prueba de HR: Se infló el esfigmomanómetro colocado en el brazo derecho 50 mmHg por encima de la presión arterial sistólica basal, durante 1, 3 y 5 minutos de oclusión, con registro de ECG y fotopleletis-

mografía.

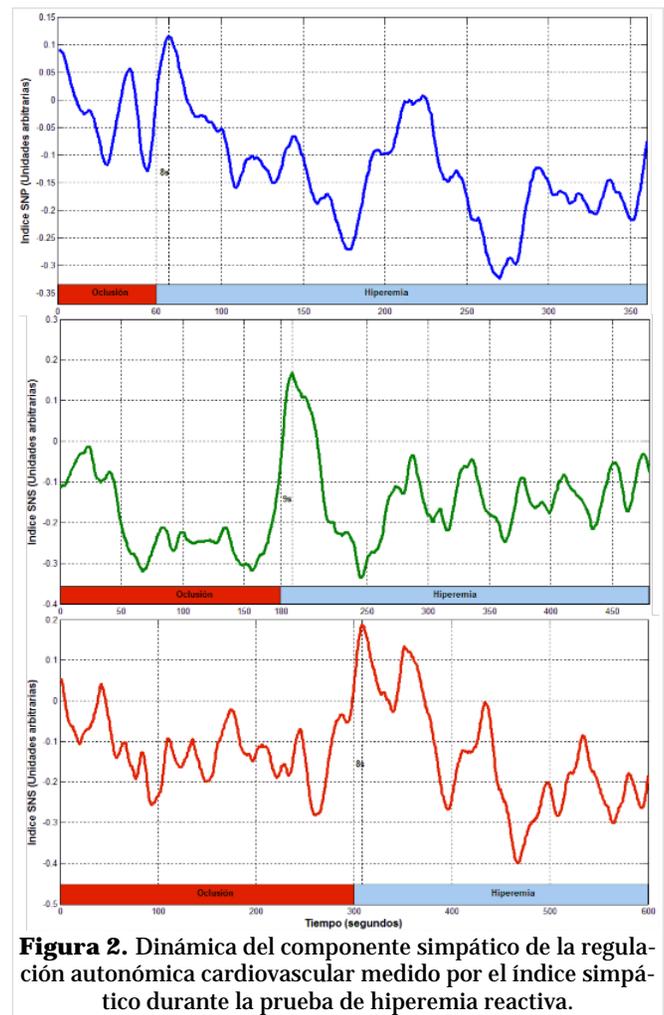
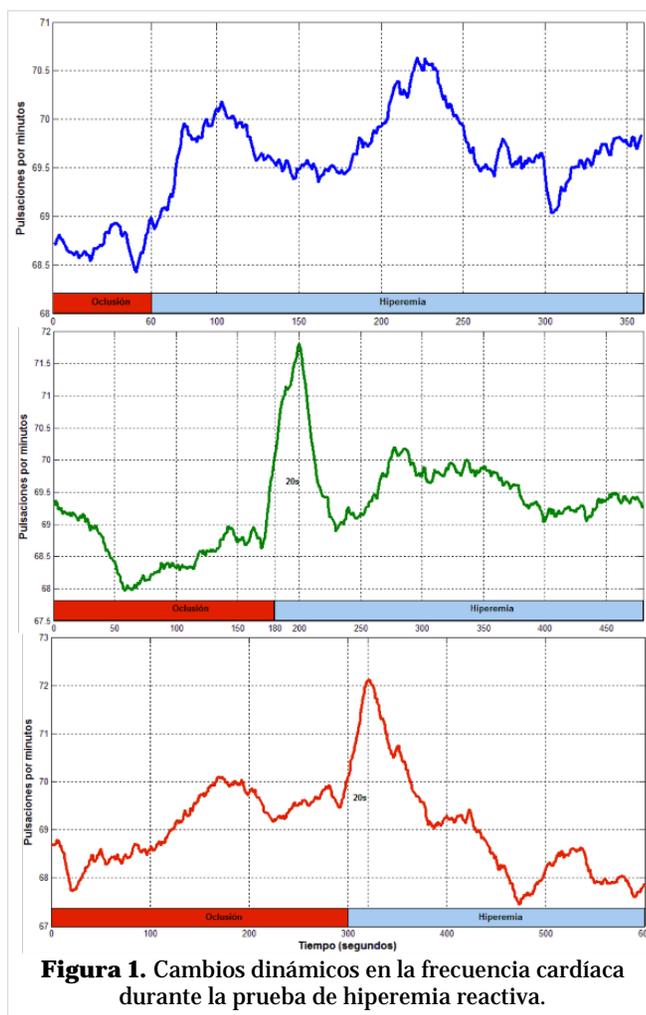
Análisis variable en el tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardíaca

El análisis variable en el tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo y durante la prueba de HR (1, 3 y 5 minutos de oclusión) se realizó con el programa Kubios HRV Premium Professional (Kubios Ltd, Finlandia), que permitió el preprocesamiento de la serie de intervalos RR y el cálculo de indicadores de tiempo-frecuencia. En el preprocesamiento de la serie de intervalos RR se utilizó un filtro de corrección automática para detectar latidos ectópicos. La discriminación de los picos R de la señal del ECG y el cálculo de los intervalos RR se realizaron utilizando un potente método de detección, según las recomendaciones de Manikandan y Soman¹⁹. La sustitución de los intervalos ectópicos se realizó mediante la interpolación cúbica polinómica, una vez eliminadas las fluctuaciones de baja

frecuencia de la línea de base. Los valores de tiempo-frecuencia de la variabilidad de la frecuencia cardíaca y los índices simpático y parasimpático, interpolados a 1 Hz, se exportaron a archivos compatibles (*.mat) para su procesamiento con el software Octave.

Análisis variable en el tiempo de la amplitud del volumen del pulso

Para la construcción de la curva de hiperemia variable en el tiempo, se empleó el procedimiento recomendado por los expertos²⁰: en la extremidad evaluada (superior derecha) se obtuvo la amplitud media del volumen del pulso, primero de un registro en reposo, y luego de un registro posoclusivo; de tal manera que la curva hiperémica se obtuvo de la proporción posoclusión/reposo. La amplitud del volumen del pulso para la construcción de la curva de respuesta hiperémica se midió desde su base hasta la inflexión máxima. Para determinar los pun-



tos de interés clínico de la onda del pulso fue empleado el procedimiento recomendado por Carrazana *et al.*²¹. El análisis variable en el tiempo de la secuencia temporal de amplitudes del volumen del pulso, interpolado a 1 Hz, se exportó a archivos *.mat para una mejor gestión estadística en el software Octave.

Análisis variable en el tiempo del tiempo de tránsito relativo del pulso

El tiempo de tránsito del pulso (PTT) se define como el transcurrido entre el pico de la onda R del ECG y cualquier punto crítico de la onda de pulso en la señal de fotopletografía. En este estudio los picos sistólicos fueron elegidos como puntos críticos. El PTT relativo se define como la relación entre el PTT y el intervalo RR correspondiente, al asumir que el PTT está dentro de este intervalo RR. El análisis variable en el tiempo de la secuencia temporal del tiempo de tránsito relativo del pulso, interpolado a 1 Hz, se exportó a archivos *.mat para una mejor gestión estadística en el software Octave.

Análisis estadístico

Se utilizó el software Octave 2019 versión 5.1.0 (<https://www.gnu.org/software/octave/download.html>). Los gráficos de valores medios en tiempo-frecuencia se construyeron a partir de las matrices (*.mat) de los valores obtenidos del análisis variable en el tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardíaca y la amplitud del volumen del pulso, interpolado a 1 Hz.

Ética

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, para la realización de investigaciones en seres humanos. Se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los sujetos antes de su inscripción en el estudio.

Todos los procedimientos realizados a los participantes se hicieron de acuerdo con los estándares éticos del comité institucional de investigación y la Declaración de Helsinki de 1964 con sus enmiendas posteriores o normas éticas.

RESULTADOS

De acuerdo con los cambios dinámicos en el tiempo durante la HR (**Figura 1**), se observó un aumento en la frecuencia cardíaca, con un máximo a los 20

segundos después la reperfusión (desoclusión arterial). La respuesta fue más evidente después de tres y cinco minutos de oclusión. E

La **figura 2** muestra la evolución temporal del componente simpático del sistema nervioso autónomo cardíaco durante la prueba de HR a diferentes tiempos de oclusión. Esta maniobra produce un aumento de la actividad del sistema nervioso simpático, que alcanza su pico máximo alrededor de ocho segundos después de que el manguito se haya desinflado, independientemente del tiempo de oclusión.

La evolución temporal del componente parasimpático de la regulación cardíaca durante la prueba de HR en diferentes momentos de oclusión (**Figura 3**), evidencia cómo hay una disminución en la actividad del sistema nervioso parasimpático, segundos después de que el manguito se haya desinflado, independientemente del tiempo de oclusión utilizado.

La **figura 4** muestra la evolución temporal del

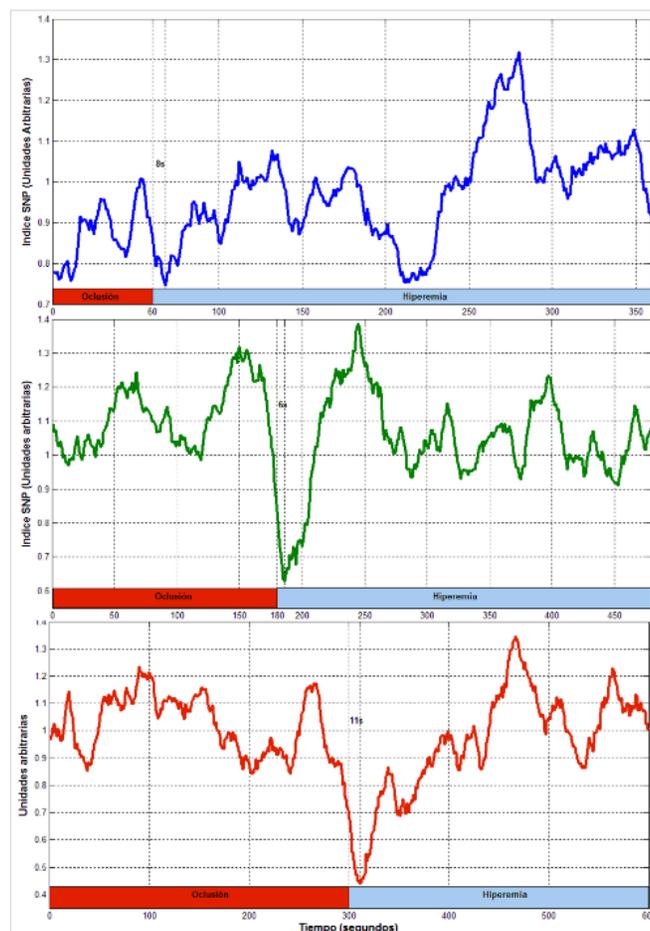


Figura 3. Dinámica del componente parasimpático de la regulación autonómica cardiovascular medido por el índice parasimpático durante la prueba de hiperemia reactiva.

tiempo de tránsito del pulso en relación con los intervalos RR (PTT/RR) del ECG, en el brazo contralateral, durante la prueba de HR en diferentes momentos de oclusión, donde se evidencia una disminución y luego un aumento del PTT/RR, independientemente del tiempo de oclusión empleado.

Se encontró una relación directa entre el tiempo de oclusión y la magnitud de la respuesta hiperémica (**Figura 5**); Pues, a mayor tiempo de oclusión, mayor fue la magnitud y el tiempo de la respuesta vascular, medidos con la amplitud del volumen del pulso después de desinflar el manguito.

DISCUSIÓN

El predominio de la actividad parasimpática en reposo, garantiza que la frecuencia cardíaca sea la mínima posible para satisfacer las demandas metabólicas del organismo. Por tanto, en los primeros momentos de la oclusión hay un predominio de la actividad parasimpática, que comienza a disminuir al mismo tiempo que ocurre un incremento del tono simpático, probablemente debido a la respuesta al reflejo metabólico muscular (*metaboreflex*). Esta respuesta es más evidente inmediatamente después de los tres y cinco minutos de oclusión, que sugiere que un minuto de oclusión no es suficiente para producir una activación específica y rápida del SNS. Probablemente, en este período de tiempo la concentración de los diferentes metabolitos no es suficiente para desencadenar una respuesta sostenida¹¹.

En la presente investigación, se ha observado un marcado aumento en la actividad del SNS inmedia-

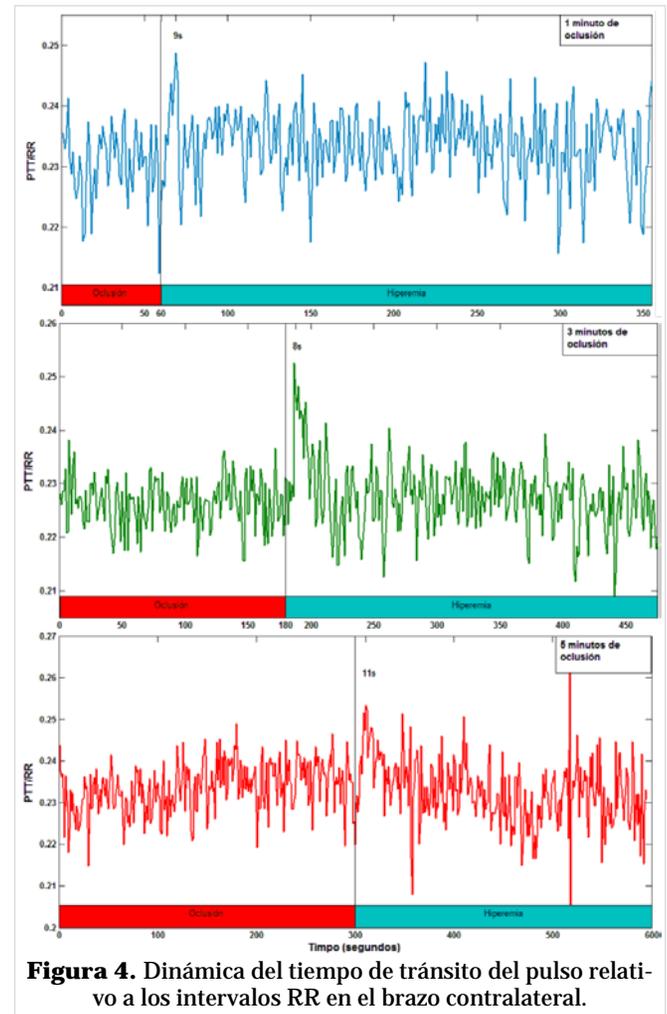


Figura 4. Dinámica del tiempo de tránsito del pulso relativo a los intervalos RR en el brazo contralateral.

tamente después de la desoculación, que alcanza su expresión máxima alrededor de los 8 segundos des-

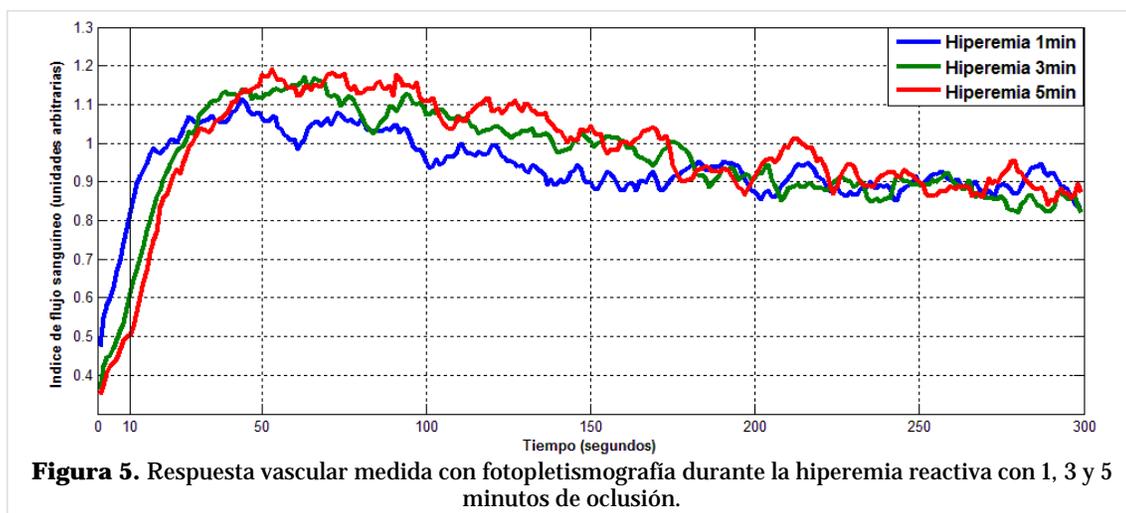


Figura 5. Respuesta vascular medida con fotoplethysmografía durante la hiperemia reactiva con 1, 3 y 5 minutos de oclusión.

pués de que se suelta el brazalete. Estos hallazgos son consistentes con los resultados de Bade *et al.* (2019)¹⁵, quienes encontraron un aumento en la potencia total y de las bajas frecuencias de la variabilidad de la frecuencia cardíaca durante la HR, en comparación con la situación basal. Además, con cinco minutos de oclusión, la respuesta simpática fue mayor, probablemente por la mayor concentración de metabolitos, como la adenosina, liberados por los tejidos isquémicos. Boushel (2010)²², concluyó que la adenosina no activa el *metaboreflex* muscular, pero aumenta la actividad de los nervios simpáticos por la activación de quimiorreceptores centrales, con una latencia correspondiente al tiempo de tránsito de la circulación.

Al analizar la evolución del componente parasimpático se observó una disminución de su actividad después de desinflar el manguito. Este efecto se corresponde con un incremento de la actividad del SNS, lo que concuerda con el fenómeno de inhibición recíproca que se establece entre ambos sistemas²³. A continuación se incrementó la actividad del sistema nervioso parasimpático, que compensa el mecanismo central y elimina el efecto vasoconstrictor del componente simpático de la regulación autonómica cardiovascular. Esto reduce la influencia negativa del SNS sobre las células endoteliales, las que aumentan su producción y liberación de ON. Hijmering *et al.* (2002)¹², encontraron que la estimulación simpática podría perjudicar la dilatación dependiente del endotelio mediada por el flujo, a través de un mecanismo donde participan receptores α adrenérgicos, y concluyó que los transmisores liberados por las terminaciones nerviosas son importantes moduladores de la función endotelial y la respuesta miogénica. Además, existió una relación directa entre el tiempo de oclusión y la magnitud de la respuesta hiperémica. Sin embargo, durante un tiempo de oclusión más prolongado, la latencia de elevación del flujo sanguíneo es mayor. Esto se debe al mayor período de vasoconstricción generado por la actividad del SNS, que ralentiza el incremento del flujo sanguíneo.

En tal sentido, se ha observado una reducción significativa en la amplitud del volumen del pulso en el brazo de control durante la HR, que es sugestivo de vasoconstricción mediada por el SNS. Sin embargo, la aparición de vasoconstricción en el brazo control, tan pronto como en el primer minuto de oclusión, contradice la hipótesis basada en el *metaboreflex* muscular y deja la pregunta sobre la causa exacta y el origen de la vasoconstricción mediada por el

simpático¹⁵. En el presente estudio, los efectos de la activación del sistema nervioso autónomo se evidencian en el brazo contralateral durante la prueba de HR en diferentes tiempos de oclusión. Se genera una vasoconstricción inicial —evidenciada por una disminución del PTT/RR— seguida de vasodilatación con aumento del PTT/RR, independientemente del tiempo de oclusión utilizado. En otro estudio²⁴, la respuesta del tiempo de tránsito del pulso refleja el componente miogénico en la primera parte de la HR. Todos estos cambios se producen como actividad refleja a la oclusión durante la prueba de HR, lo que refuerza la hipótesis del reflejo metabólico muscular.

El análisis de la dinámica del sistema nervioso autónomo, medida con los métodos tiempo-frecuencia de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, permite determinar la asociación temporal de los diferentes eventos fisiológicos implicados durante la HR. Lo cual puede sugerir que la actividad del SNS participa en el período de contracción miogénica que precede a la fase de vasodilatación de la HR. Además, este está en estrecha relación con la fuerza de cizallamiento de la sangre sobre el endotelio, que provoca la liberación de ON, justo después de que termine la oclusión con el manguito. El ON, junto con otros metabolitos vasodilatadores liberados por los tejidos isquémicos, es responsable del incremento del flujo sanguíneo que caracteriza a la HR.

CONCLUSIONES

La activación simpática temprana es independiente del tiempo de oclusión durante la hiperemia reactiva, lo que sugiere que se trata de una respuesta refleja autonómica vascular que interviene en la generación de este fenómeno fisiológico.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de todos los que participaron en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Leeson P, Thorne S, Donald A, Mullen M, Clarkson P, Deanfield J. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and in-

- dependent stimuli. *Heart*. 1997;78(1):22-7. [DOI]
2. Jasperse JL, Shoemaker JK, Gray EJ, Clifford PS. Positional differences in reactive hyperemia provide insight into initial phase of exercise hyperemia. *J Appl Physiol* (1985). 2015;119(5):569-75. [DOI]
 3. Rosenberry R, Nelson MD. Reactive hyperemia: a review of methods, mechanisms, and considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2020;318(3):605-18. [DOI]
 4. Mohiaddin RH, Gatehouse eD, Moon JC, Youssuffidin M, Yang GZ, Firmin DN, *et al.* Assessment of reactive hyperaemia using real time zonal echoplanar flow imaging. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2002;4(2):283-7. [DOI]
 5. Sidhu JS, Newey VR, Nassiri DK, Kaski JC. A rapid and reproducible on line automated technique to determine endothelial function. *Heart*. 2002;88(3):289-92. [DOI]
 6. Reriani M, Sara JD, Flammer AJ, Gulati R, Li J, Rihal C, *et al.* Coronary endothelial function testing provides superior discrimination compared with standard clinical risk scoring in prediction of cardiovascular events. *Coron Artery Dis*. 2016;27(3):213-20. [DOI]
 7. Lenkey Z, Illyés M, Böcskei R, Husznai R, Sárszegi Z, Meiszterics Z, *et al.* Comparison of arterial stiffness parameters in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus using Arteriograph. *Physiol Res*. 2014;63(4):429-37. [DOI]
 8. Zahedi E, Jaafar R, Ali MA, Mohamed AL, Maskon O. Finger photoplethysmogram pulse amplitude changes induced by flow-mediated dilation. *Physiol Meas*. 2008;29(5):625-37. [DOI]
 9. Onkelinx S, Cornelissen V, Goetschalckx K, Thomaes T, Verhamme P, Vanhees L. Reproducibility of different methods to measure the endothelial function. *Vasc Med*. 2012;17(2):79-84. [DOI]
 10. Kandhai-Ragunath JJ, Jørstad HT, de Man FH, Peters RJ, von Birgelen C. Approaches for non-invasive assessment of endothelial function: focus on peripheral arterial tonometry. *Neth Heart J*. 2013;21(5):214-8. [DOI]
 11. Tomiyama H, Yoshida M, Higashi Y, Takase B, Furumoto T, Kario K, *et al.* Autonomic nervous activation triggered during induction of reactive hyperemia exerts a greater influence on the measured reactive hyperemia index by peripheral arterial tonometry than on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery in patients with hypertension. *Hypertens Res*. 2014;37(10):914-8. [DOI]
 12. Hijmering ML, Stroes ES, Olijhoek J, Hutten BA, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(4):683-8. [DOI]
 13. Padilla J, Young CN, Simmons GH, Deo SH, Newcomer SC, Sullivan JP, *et al.* Increased muscle sympathetic nerve activity acutely alters conduit artery shear rate patterns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;298(4):H1128-35. [DOI]
 14. Yoshida M, Tomiyama H, Shiina K, Odaira M, Yamashina A. The difference of the influence of autonomic nervous activation caused by reactive hyperemia on two different endothelial function tests. *Europ Heart J*. 2013;34(Suppl 1):1436. [DOI]
 15. Bade G, Chandran DS, Kumar Jaryal A, Talwar A, Deepak KK. Contribution of systemic vascular reactivity to variability in pulse volume amplitude response during reactive hyperemia. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119(3):753-60. [DOI]
 16. Thijssen DH, Atkinson CL, Ono K, Sprung VS, Spence AL, Pugh CJ, *et al.* Sympathetic nervous system activation, arterial shear rate, and flow-mediated dilation. *J Appl Physiol* (1985). 2014;116(10):1300-7. [DOI]
 17. Spranger MD, Kaur J, Sala-Mercado JA, Machado TM, Krishnan AC, Alvarez A, *et al.* Attenuated muscle metaboreflex-induced pressor response during postexercise muscle ischemia in renovascular hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015;308(7):R650-8. [DOI]
 18. Cuadra Sanz M, Rossi E, Delisle Rodríguez D, Mántaras MC, Perrone MS, Fainstein D, *et al.* Sistema para el registro simultáneo de la onda de pulso y el electrocardiograma orientado al estudio de la regulación autonómica. En: 4th Int In Conf FIE'08 [Internet]; 2008 [citado 21 Feb 2021]. Disponible en: <https://bit.ly/3UcGlwt>
 19. Manikandan MS, Soman KP. A novel method for detecting R-peaks in electrocardiogram (ECG) signal. *Biomed Signal Process Control*. 2012;7(2):118-28. [DOI]
 20. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, *et al.* Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(1):2-12. [DOI]
 21. Carrazana-Escalona R, Ricardo-Ferro BT, Fernández-de la Vara Prieto R, Sánchez-Hechavarría ME. Algoritmo para la detección de puntos clínicos de interés de la onda de pulso arterial. *Rev Cuba Inform Méd* [Internet]. 2018 [citado 23 Feb 2021];

- 10(1):40-8. Disponible en:
http://revinformatica.sld.cu/index.php/rcim/articloe/view/259/pdf_72
22. Boushel R. Muscle metaboreflex control of the circulation during exercise. *Acta Physiol (Oxf)*. 2010;199(4):367-83. [DOI]
23. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol [Internet]*. 2014 [citado 23 feb 2021];5:1040. Disponible en:
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01040>
24. Selvaraj N, Jaryal AK, Santhosh J, Anand S, Deepak KK. Monitoring of reactive hyperemia using photoplethysmographic pulse amplitude and transit time. *J Clin Monit Comput*. 2009;23(5):315-22. [DOI]