



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO CTC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

Daiana Petry Rufato

Metodologia para a detecção de neuropatia autonômica subclínica em indivíduos com diabetes mellitus baseada na variabilidade de sinais fisiológicos

Florianópolis

2020

Daiana Petry Rufato

Metodologia para a detecção de neuropatia autonômica subclínica em indivíduos com diabetes mellitus baseada na variabilidade de sinais fisiológicos

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de doutor em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Jefferson Luiz Brum Marques, PhD.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Petry, Daiana

Metodologia para a detecção de neuropatia autonômica subclínica em indivíduos com diabetes mellitus baseada na variabilidade de sinais fisiológicos / Daiana Petry ; orientador, Jefferson Luiz Brum Marques, 2020.
139 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Engenharia Elétrica. 2. Neuropatia Autonômica Subclínica. 3. Variabilidade de Sinais Fisiológicos. 4. Machine Learning. 5. Sensibilidade Barorreflexa. I. Marques, Jefferson Luiz Brum. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. Título.

Daiana Petry Rufato

Metodologia para a detecção de neuropatia autonômica subclínica em indivíduos com diabetes mellitus baseada na variabilidade de sinais fisiológicos

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Julio Cesar Nievola, Dr.

Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

Prof. Euler de Vilhena Garcia, Dr.

Universidade de Brasília - UNB

Prof. Marco Aurélio Benedetti Rodrigues, Dr.

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Engenharia Elétrica.

Prof. Telles Brunelli Lazzarin, Dr.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Jefferson Luiz Brum Marques, PhD.

Orientador

Florianópolis, 2020.

RESUMO

A neuropatia autonômica cardiovascular (CAN) está entre as complicações crônicas mais comuns do diabetes mellitus, pois envolve todo o sistema nervoso autônomo e é um dos fatores determinantes da perda da qualidade de vida e morbimortalidade dos pacientes. A detecção precoce da CAN, enquanto assintomática (subclínica), pode permitir a realização de tratamento e acompanhamento apropriados e, conseqüentemente, a prevenção das sérias complicações associadas. Atualmente, não existe um teste simples que permita o *screening* de pacientes diabéticos em ambiente clínico. A análise da variabilidade de sinais fisiológicos *e.g.*, frequência cardíaca (VFC), intervalo QT (função ventricular), pressão sanguínea (VPS), respiração (Resp) e sensibilidade barorreflexa (BRS) são técnicas de rápida execução e fácil utilização, de baixo custo e que podem constituir uma metodologia de ampla utilização para o diagnóstico e acompanhamento da CAN no próprio consultório médico. Com o objetivo de desenvolver uma metodologia capaz de detectar a neuropatia autonômica subclínica (SCAN) em indivíduos com diabetes, foi desenvolvido um estudo constituído de quatro fases: Fase 1) Implementação de um programa de computador para obtenção das séries geradas a partir dos sinais de ECG e PPG, bem como extração de índices das referidas séries; Fase 2) Análise exploratória dos índices tradicionais implementados para a diferenciação dos pacientes em relação ao estágio da CAN; Fase 3) Análise exploratória de índices gerados a partir da análise de BRS considerando diferentes *lags* (atrasos) na resposta da frequência cardíaca a mudanças na pressão sanguínea; e Fase 4) Implementação de um classificador computacional que diferencie os pacientes diabéticos nas classes: Sem CAN, com CAN subclínica e com CAN estabelecida. A análise de todos os índices implementados na Fase 1 não evidenciou índices que sozinhos pudessem classificar os pacientes de acordo com seu estágio da CAN. No entanto, a análise de BRS considerando diferentes *lags* proporcionou a geração de novos índices que foram suficientes para a obtenção de um classificador baseado em *random forest* capaz de diferenciar os pacientes de acordo com seu estágio de CAN. O classificador desenvolvido obteve 96% de sensibilidade para detecção da SCAN, além de um índice Kappa de 0,98, sendo, portanto, validado quanto a exatidão e reprodutibilidade dos resultados. A ferramenta computacional já oferece condições de ser usada em ambiente ambulatorial, possibilitando, de forma não invasiva e sem depender da contribuição ativa do paciente, a detecção precoce da CAN e um prognóstico para a evolução desta complicação crônica do diabetes mellitus.

Palavras-chave: Neuropatia Autonômica Cardiovascular Subclínica. Machine learning. Sensibilidade Barorreflexa. Classificador. Triagem.

ABSTRACT

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) is among the most common chronic complications of diabetes mellitus, as it involves the entire autonomic nervous system and is one of the determining factors in the loss of quality of life and morbidity and mortality of patients. The early detection of CAN, while asymptomatic (subclinical), can allow for appropriate treatment and follow-up and, consequently, the prevention of serious associated complications. Currently, there is no simple test that allows the screening of diabetic patients in a clinical setting. The analysis of the variability of physiological signals e.g., heart rate (HRV), QT interval (ventricular function), blood pressure (VPS), breathing (Resp) and baroreflex sensitivity (BRS) are techniques of quick execution and easy use, of low cost and that can be a widely used methodology for the diagnosis and monitoring of CAN in the doctor's office. In order to develop a methodology capable of detecting subclinical autonomic neuropathy (SCAN) in individuals with diabetes, a study consisting of four stages was developed: Stage 1) Implementation of a computer program to obtain the series generated from the signals of ECG and PPG, as well as extraction of indexes from the referred series; Stage 2) Exploratory analysis of the traditional indexes implemented to differentiate patients from the CAN stage; Stage 3) Exploratory analysis of indexes generated from the BRS analysis considering different lags (delays) in the heart rate response to changes in blood pressure; and Stage 4) Implementation of a computational classifier that differentiates diabetic patients in the classes: Without CAN, with subclinical CAN and with established CAN. The analysis of all the indices implemented in Stage 1 did not show any indices that alone could classify patients according to their stage of CAN. However, the BRS analysis considering different lags provided the generation of new indices that were sufficient to obtain a classifier based on random forest capable of differentiating patients according to their CAN stage. The developed classifier obtained 96% sensitivity for the detection of SCAN, in addition to a Kappa index of 0.98, being therefore validated as to the accuracy and reproducibility of the results. The computational tool already offers conditions to be used in an outpatient setting, allowing, in a non-invasive way and without depending on the patient's active contribution, the early detection of CAN and a prognosis for the evolution of this chronic complication of diabetes mellitus.

Keywords: Subclinical Cardiovascular Autonomic Neuropathy. Machine Learning. Baroreflex Sensitivity. Classification. Screening.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sinais de ECG (a), Pressão Sanguínea (b) e Respiração (c).	23
Figura 2: Espectro de Potência do Sinal de Intervalos RR.....	24
Figura 3: Sinal de ECG (a), Respiração (b) com correspondente PSD (c), Intervalos RR (d) com correspondente PSD (e) e PA (f) com correspondente PSD (g).....	24
Figura 4: Representação esquemática mostrando as vias simpática (em vermelho) e parassimpática (em azul) do Sistema Nervoso Autônomo. As vias pré-ganglionares são mostradas em tonalidade mais escura e as pós-ganglionares em tonalidade mais clara.	30
Figura 5: Estrutura do sistema de condução do coração.	31
Figura 6: O ECG. Suas principais ondas e a cronologia dos potenciais de ação nas principais estruturas condutoras do coração.....	33
Figura 7: Efeitos de quatro doses iguais de atropina e de propranolol sobre a FC de dez homens jovens saudáveis. Em metade do experimento a atropina foi administrada primeiro (curva de cima) e na outra metade o propranolol foi administrado primeiro (curva de baixo).	34
Figura 8: Alterações da FC provocadas pela estimulação do vago (A) e nervos simpáticos (B).	35
Figura 9: Alterações da FC quando os nervos vagos e simpáticos cardíacos são estimulados simultaneamente.	36
Figura 10: Frequência cardíaca como função da pressão arterial média.	38
Figura 11: Efeitos das variações da pressão em seios carotídeos isolados sobre a atividade neural das fibras nervosas eferentes.	38
Figura 12: Funcionamento do barorreflexo ilustrando a correção da pressão arterial durante elevação ou queda transitórias, causadas pela administração endovenosa de fenilefrina (FE) ou nitroprussiato de sódio (NPS).	41
Figura 13: Representação esquemática das respostas neurais e hormonais desencadeadas pela estimulação dos mecanorreceptores arteriais.	42
Figura 14: Comparação entre pessoas sem diabetes e com diabetes tipo 1, tipo 2 e gestacional.	44
Figura 15: Comparação entre a decomposição dos alimentos numa pessoa com e sem diabetes tipo 2.	44
Figura 16: Estágios da Neuropatia Autonômica Cardiovascular – CAN.	51

Figura 17: Gráfico de RR (VFC) de (a) um paciente normal (sem diabetes) e (b) um paciente diabético. Sendo, neste exemplo, RR(n) medido em segundos.....	58
Figura 18: Procedimento geral utilizado pelo método de FFT (<i>Fast Fourier Transform</i>) para a decomposição do sinal RR em suas faixas de frequência e consequente geração do gráfico de espectro de potência do mesmo.	60
Figura 19: Gráfico de espectro de potência (análise espectral) de a) um paciente normal (sem diabetes) e b) um paciente diabético.....	60
Figura 20: Mapa de retorno de (a) um paciente sem diabetes e (b) de uma paciente diabético. Para o paciente sem diabetes obteve-se um valor de SD1 = 26,2 ms e de SD2 = 58,6 ms. Para o paciente diabético os valores foram SD1 = 11,6 ms e SD2 = 35,9.....	63
Figura 21: Arquitetura geral da metodologia utilizada para predição da CAN. VPA = Variabilidade da Pressão Arterial, VFC = Variabilidade da Frequência Cardíaca, VQT = Variabilidade do Intervalo QT, Resp = Frequência Respiratória.....	73
Figura 22: Exemplo de aquisição dos sinais de ECG e PPG pelo equipamento AFT.....	74
Figura 23: Fase de Pré-Processamento dos Sinais de ECG e PPG.....	75
Figura 24: Sinal de ECG e PPG filtrados no sistema desenvolvido.....	76
Figura 25: Função Correspondente à Derivada de Primeira Ordem de uma Função Gaussiana.	76
Figura 26: Trecho de sinal de ECG com detecção de ondas realizadas através de transformada <i>Wavelet</i>	77
Figura 27: Trecho de sinal de ECG com detecção de ondas realizadas através de transformada <i>Wavelet</i>	78
Figura 28: Trecho dos sinais de ECG e PPG sobrepostos e com as marcações de pressão sistólica (vermelho) e diastólica (rosa).	78
Figura 29: Séries geradas: RR, QT e respiração.....	80
Figura 30: Séries geradas: Amplitude da onda T, Tpe, QTp, TQ e QRS.....	80
Figura 31: Cenários utilizados nas análises do Estudo de Caso 1.	86
Figura 32: Fluxo metodológico da análise de BRS considerando <i>lags</i> diferentes.	88
Figura 33: Representação do agrupamento dos sujeitos, de acordo com as três classes estabelecidas, sendo a classe 1 = Sem CAN, classe 2 = CAN Subclínica e classe 3 = CAN Estabelecida.....	97
Figura 34: Representação da análise de cluster dos sujeitos da classe CAN Subclínica.	99
Figura 35: Representação dos escores da análise de componentes principais dos sujeitos da classe SCAN.	100

Figura 36: Representação dos fatores da análise de componentes principais dos sujeitos da classe SCAN.....	100
Figura 37: Análise Espectral do Paciente A.	101
Figura 38: Análise Espectral do Paciente B.	102
Figura 39: Análise Espectral do Paciente C.	102
Figura 40: Análise Espectral do Paciente D.	103
Figura 41: Boxplot dos valores de intervalos RR para os diferentes grupos de pacientes.	105
Figura 42: Boxplot dos índices “maior valor BRS (1),” “maior quantidade de sequências (2),” “quantidade de sequências do mais alto BRS (3),” e “BRS da maior quantidade de sequências (4)” para os diferentes grupos de pacientes.....	105
Figura 43: Boxplot dos índices “lag do mais alto BRS (5)” e “lag da maior quantidade de sequências (6)” para os diferentes grupos de pacientes.....	106
Figura 44: Dispersão bidimensional dos pacientes e vetores dos pesos das variáveis de acordo com as duas primeiras componentes principais, explicando aproximadamente 70% da variação dos dados.....	107
Figura 45: Dispersão tridimensional dos pacientes de acordo com as três primeiras componentes principais, explicando aproximadamente 80% da variação dos dados.....	108
Figura 46: Dispersão bidimensional dos pacientes de acordo com as duas primeiras componentes principais, evidenciando a classificação dos pacientes em seus estágios da CAN.	112
Figura 47: Erros de classificação calculados para diferentes quantidades de árvores (1 a 150) na floresta de decisão.	115

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Mecanismos que contribuem para a manutenção da constância da PA.	41
Quadro 2: Dados da 9ª Edição do Atlas do Diabetes sobre a situação mundial em relação à doença.	46
Quadro 3: Dados da 9ª Edição do Atlas do Diabetes sobre a situação do diabetes no Brasil. .	47
Quadro 4: Distribuição de pessoas com diabetes mellitus de acordo com o tempo da doença, usando insulina e o início de complicações.	50
Quadro 5: Faixas de anormalidade para índices de Variabilidade da Frequência Cardíaca nos domínios do tempo e da frequência, para a detecção de CAN Estabelecida em Diabéticos.	61
Quadro 6: Frequência central da banda de cada escala calculada para a 1ª derivada de uma Gaussiana, para frequência de amostragem de 1kHz	77
Quadro 7: Caracterização dos sinais utilizados, quanto ao sexo, idade, duração do diabetes, pressão sistólica (PAS) e índice de massa corporal (BMI).	84
Quadro 8: Classificação considerada “ <i>Golden standard</i> ” dos pacientes envolvidos no estudo.	85
Quadro 9: Classificação dos pacientes envolvidos no estudo, quanto ao status da CAN, sendo classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “SCAN” e classe 3 = “ECAN”. Foram divididos de acordo com o sexo e a idade.	86
Quadro 10: Características dos pacientes envolvidos no treinamento e teste do modelo classificador.	90
Quadro 11: Matriz de Confusão para cálculo do índice Kappa.	91
Quadro 12: Escala de interpretação para o índice Kappa.	92
Quadro 13: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentaram alguma diferença significativa, considerando 3 classes de pacientes (classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “SCAN” e classe 3 = “ECAN”).	94
Quadro 14: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentou diferença significativa, considerando 2 classes de pacientes (classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “Com CAN”).	95
Quadro 15: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentou diferença significativa, considerando 2 classes de pacientes (classe 1 = “Sem CAN estabelecida”, classe 2 = “ECAN”).	96

Quadro 16: Resultado da Classificação, por análise discriminante, dos sujeitos, conforme classificação padrão ouro considerada. Sendo Classe 1 = NCAN, Classe 2 = SCAN e Classe 3 = ECAN. Neste cenário 90 % dos casos foram classificados corretamente.	97
Quadro 17: Resultado da Classificação dos sujeitos, por análise discriminante, conforme classificação padrão ouro considerada, unindo as classes NCAN e SCAN no mesmo grupo, contra a classe ECAN. Sendo Classe 1 = NCAN e SCAN e Classe 2 = ECAN. Esse cenário apresentou 96 % dos casos classificados corretamente.....	98
Quadro 18: Resultado da Classificação dos sujeitos, por análise discriminante, conforme classificação padrão ouro considerada, unindo as classes ECAN e SCAN no mesmo grupo, contra a classe NCAN. Sendo Classe 1 = NCAN e Classe 2 = ECAN e SCAN. Neste cenário 86 % dos casos foram classificados corretamente.....	99
Quadro 19: Resultados da ANOVA one-way de três níveis (NCAN, SCAN e ECAN) para cada índice calculado.	104
Quadro 20: Classificação do método de análise discriminante sem e com cross-validação. .	111
Quadro 21: Resultado da classificação da base de dados de validação usando o modelo de análise discriminante.	113
Quadro 22: Resultado da classificação da base de dados de validação usando a rede de aprendizagem Floresta de Decisão, treinada com o algoritmo Bag.	114
Quadro 23: Pacientes que apresentaram probabilidade menor que 90% de pertencerem a um único estágio da CAN.....	116
Quadro 24: Idade e tempo de diabetes dos 72 pacientes analisados.	117
Quadro 25: Resultado da classificação da base de dados total (72 pacientes) com cross-validação realizada com a rede de aprendizagem Floresta de Decisão, treinada com o algoritmo Bag com 67 árvores.....	118
Quadro 26: Matriz de confusão do classificador desenvolvido com a técnica de Random Forest.	119

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ach	Acetilcolina
AEP	Análise Espectral
ANSM	Atividade Nervosa Simpática Muscular
ApEn	Entropia Aproximada
AV	Atrioventricular
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BRS	Sensibilidade do Reflexo Barorreceptor
BVLc	Bulbo Ventrolateral caudal
BVLr	Bulbo Ventrolateral rostral
CAN	Neuropatia Autonômica Cardiovascular
CARTs	Testes de Reflexo Autonômico Cardiovascular
CSM	Mapeamento Simpático Cardíaco
CV	Capacitância Venosa
DBP	Pressão Arterial Diastólica
DC	Débito Cardíaco
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMV	Dorsal Motor do Vago
ECAN	Neuropatia Autonômica Cardiovascular Estabelecida
ECG	Eletrocardiograma
EDR	Respiração Derivada do ECG
FC	Frequência Cardíaca
FFT	Fast Fourier Transform
HF	Alta Frequência
HO	Hipotensão Ortostática
LF	Baixa Frequência
LVET	Tempo de Ejeção Ventricular Esquerda
MSC	Morte Súbita Cardíaca
NA	Núcleo Ambíguo

NAD	Neuropatia Autonômica Diabética
NCAN	Sem Neuropatia Autonômica Cardiovascular
NDA	Nervo Depressor Aórtico
NS	Nervo Sinusal
NTS	Núcleo do Trato Solitário
PA	Pressão Arterial
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PLC	Níveis Plasmáticos de Catecolaminas
PPG	Fotopletismografia
PTT	Tempo de Transição do Pulso
RPT	Resistência Periférica Total
RSA	Arritmia Sinusal Respiratória
RV	Retorno Venoso
SA	Sinoatrial
SampEn	Entropia Amostral
SBP	Pressão Arterial Sistólica
SCAN	Neuropatia Autonômica Cardiovascular Subclínica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
TP	Potência Total
VE	Ventrículo Esquerdo
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF	Muito Baixa Frequência
VPA	Variabilidade da Pressão Arterial
VQT	Variabilidade do Intervalo QT
VRD	Duração da Repolarização Ventricular
VS	Volume Sistólico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	JUSTIFICATIVAS	22
1.2	OBJETIVOS	26
1.2.1	Objetivo Geral.....	26
1.2.2	Objetivos Específicos	26
1.3	ESTRUTURA DO TRABALHO	27
2	ASPECTOS FISIOLÓGICOS.....	29
2.1	O SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO	29
2.2	O SISTEMA CARDIOVASCULAR	30
2.2.1	Atividade Elétrica do Coração	31
2.2.2	Visão Geral do Eletrocardiograma	32
2.2.3	Controle Neural da Frequência Cardíaca	34
2.2.3.1	<i>Fibras Parassimpáticas Cardíacas</i>	35
2.2.3.2	<i>Fibras Simpáticas Cardíacas</i>	36
2.2.3.3	<i>Reflexo Barorreceptor</i>	37
2.2.3.4	<i>Arritmia Sinusal Respiratória.....</i>	38
2.2.4	Regulação do Sistema Cardiovascular.....	39
2.3	O DIABETES MELLITUS	43
2.3.1	A Neuropatia Autonômica Cardiovascular (CAN)	48
3	ALGUNS MÉTODOS DE ANÁLISE DO SISTEMA CARDIOVASCULAR PARA DIAGNÓSTICO DA CAN.....	53
3.1	TESTES DE EWING	54
3.2	VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	57
3.2.1.1	<i>Mapa de Retorno</i>	62
3.2.1.2	<i>Entropia</i>	63
3.2.1.3	<i>CZF (Conte-Zbilut-Federici)</i>	64

3.3	VARIABILIDADE DO INTERVALO QT.....	65
3.4	VARIABILIDADE DA PRESSÃO SANGUÍNEA.....	67
3.5	ANÁLISE DA SENSIBILIDADE BARORREFLEXA.....	68
3.6	INFLUÊNCIA DA RESPIRAÇÃO NO CONTROLE CARDIOVASCULAR....	69
4	MATERIAL E MÉTODOS	72
4.1	DETALHAMENTO DA METODOLOGIA DESENVOLVIDA.....	72
4.2	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS ÍNDICES TRADICIONAIS	84
4.3	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE BRS COM DIFERENTES <i>LAGS</i>	87
4.4	IMPLEMENTAÇÃO DE UM CLASSIFICADOR COMPUTACIONAL.....	89
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
5.1	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS ÍNDICES TRADICIONAIS	93
5.2	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE BRS COM DIFERENTES <i>LAGS</i>	103
5.3	IMPLEMENTAÇÃO DE UM CLASSIFICADOR COMPUTACIONAL.....	110
6	CONCLUSÃO.....	121
	REFERÊNCIAS.....	124
	APÊNDICE A – Índices implementados	135
	ANEXO A – Paper publicado.....	139

1 INTRODUÇÃO

A Neuropatia Autonômica Diabética (NAD) constitui uma séria complicação decorrente do Diabetes Mellitus (DM) e está associada a uma taxa de mortalidade, em cinco anos, entre 16-50%, acometendo pacientes tanto em estágios clínicos como subclínicos da doença (KUEHL e STEVENS, 2012; HATTORI, HATTORI e SUZUKI, 2015). Esta alta taxa de mortalidade está, provavelmente, relacionada à isquemia silenciosa do miocárdio, arritmias ventriculares, e instabilidade cardiovascular e/ou cardiorrespiratória.

Apesar de sua significativa relação com um aumento do risco de mortalidade cardiovascular e a sua associação com múltiplos sintomas e incapacidades localizadas, seu início é gradual e mecanismos compensatórios podem adiar suas manifestações clínicas por muitos anos. Dessa forma, a NAD não é completamente investigada e, frequentemente, não é diagnosticada, pois a maioria dos pacientes tem NAD subclínica, assintomática, enquanto que a NAD severa e sintomática não é relativamente comum (KUEHL e STEVENS, 2012). Diferentemente de outras complicações microvasculares decorrentes do DM, tais como retinopatia e nefropatia, os procedimentos clínicos convencionais não consideram o *screening* para detectar a presença de NAD.

A prevalência da NAD varia, dependendo da amostra estudada e da metodologia empregada para análise. Por exemplo, a neuropatia autonômica cardiovascular (CAN), o tipo de NAD mais estudado e de maior importância clínica; pode ser encontrado, de um modo geral, em aproximadamente 25% dos pacientes com DM do Tipo 1 (DM1) e em 34% daqueles com DM do Tipo 2 (DM2) (VINIK *and* ZIEGLER, 2007). No entanto, a CAN pode estar presente em até 90% daqueles pacientes potenciais para receber um transplante de pâncreas (ZIEGLER, GRIES, *et al.*, 1992). A prevalência de CAN pode aumentar progressivamente em proporção direta com a idade, a duração do DM e o mau controle glicêmico (PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014).

Atualmente, existe extensiva evidência que a NAD é associada com uma variedade de efeitos adversos, principalmente cardiovasculares (KUEHL e STEVENS, 2012). Toyry *et al.* (1996) mostraram num pequeno grupo de pacientes acompanhados durante 10 anos, que a presença de NAD diagnosticada no início foi associada com um aumento da incidência de mortalidade cardiovascular, quando comparada com aqueles sem NAD (13% versus 3%, respectivamente); e foi independente de fatores convencionais de risco cardiovascular. Geralmente, a NAD é diagnosticada por sintomas ou disfunções de órgãos acometidos. Em

virtude do risco de morte e da existência de testes diretos para avaliar a neuropatia autonômica cardiovascular, a CAN recebe maior foco no diagnóstico.

Estudos têm recomendado que o *screening* para CAN deve ser instituído no momento do diagnóstico do DM Tipo 2 e cinco anos após o diagnóstico de DM Tipo 1 e, numa base anual a partir disto (BOULTON, VINIK, *et al.*, 2005; TESFAYE, 2010; SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011). O *screening* deve compreender a história e exame clínico na busca de sintomas ou sinais de disfunção autonômica. Em caso positivo, testes diagnósticos e tratamentos específicos devem ser instituídos. Entretanto, como sintomas e sinais clínicos ocorrem apenas em pacientes em estágios mais avançadas da CAN, um grande número de pacientes com CAN subclínica não será diagnosticado. A identificação precoce destes indivíduos em alto risco é, principalmente, importante, uma vez que permitiria a atuação imediata e, conseqüentemente, reduziria ou retardaria o aparecimento de complicações decorrentes da CAN; melhorando os resultados em longo prazo. Existem evidências de que uma intervenção antecipada, com o estabelecimento de um controle rígido da glicemia, o uso precoce de agentes farmacológicos e modificações do estilo de vida, pode trazer bons resultados em longo prazo e, pelo menos, retardar o progresso da doença (KUEHL e STEVENS, 2012). Se o diagnóstico não é feito até o aparecimento de sintomatologia clínica, as perspectivas não são boas, com uma taxa de sobrevivência de apenas 50% (EWING, CAMPBELL e CLARKE, 1980; PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014).

Como já mencionado, os procedimentos clínicos convencionais não contemplam o *screening* para detectar a CAN, mesmo acreditando-se que é mais importante realizar o diagnóstico precoce da CAN, uma vez que está associada com muito mais alta taxa de morbidade e mortalidade prematura do que de muitas outras complicações para as quais o *screening* é consistentemente realizado.

Foram estabelecidas quatro razões pelas quais a avaliação precoce (*screening*) da CAN é clinicamente relevante: (i) para o diagnóstico de formas clínicas da CAN; (ii) para a detecção e tratamento adequados das correlações clínicas da CAN (*e.g.*, taquicardia, hipotensão ortostática e prolongamento do intervalo QT); (iii) para a estratificação de risco para complicações do diabetes e de morbidade e mortalidade cardiovascular; e, (iv) para a adequação de terapias para o diabetes (SPALLONE *et al.*, 2011).

As recomendações atuais para o diagnóstico da CAN são baseadas em uma declaração do consenso de *San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy in 1988*, referendadas no 8º Simpósio Internacional de Neuropatia Diabética em 2010 e que permanecem as mesmas hoje. Foram recomendados três testes do controle da frequência cardíaca, os quais avaliam a resposta da frequência cardíaca nas seguintes condições: (1) respiração controlada e profunda, (2)

mudança de decúbito (deitado/em pé), (3) manobra de Valsalva. Dois testes do controle da pressão sanguínea: resposta da pressão sanguínea a (1) mudança de decúbito (deitado/em pé), (2) *handgrip* sustentado (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY, 1988; KUEHL e STEVENS, 2012). O *Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy* recomenda que, para o diagnóstico de CAN, em seus estágios, seja seguida a seguinte relação: presença de um teste com resultado anormal indica uma condição de CAN possível ou inicial, a ser confirmada ao longo do tempo; presença de dois ou mais testes com resultado anormal são necessários para confirmar a condição da CAN; e o adicional de hipotensão ortostática indica uma CAN em estágio avançado (SPALLONE *et al.*, 2011). A maioria destes testes são não-invasivos e seguros, no entanto, requerem equipamentos específicos e treinamento especializado, além de tomarem muito tempo para serem adequadamente realizados na rotina clínica. Outro fator complicador é que exigem participação e cooperação ativa do paciente, fazendo com que estes testes acabem ficando restritos a uma minoria dos pacientes, principalmente àqueles com CAN estabelecida, os quais já desenvolveram sintomas.

Neste contexto, testes cardiovasculares padrão, que estimulam os reflexos, são ferramentas que apresentam vários problemas para serem usadas em grandes estudos ou num programa para *screening* de pacientes com diabetes para a detecção da CAN. Assim, configura-se a necessidade de se desenvolver novos indicadores que (i) sejam fáceis de utilizar com mínimo treinamento especializado; (ii) não exijam equipamentos complexos e caros; (iii) não tomem muito tempo para realizar os testes; e (iv) não exijam a participação e/ou colaboração ativa dos pacientes.

A análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido amplamente utilizada como uma técnica não-invasiva para a avaliação da atividade do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o coração e o equilíbrio entre os sistemas simpático e parassimpático. Este equilíbrio pode ser alterado sob certas condições patológicas, tais como a CAN. A interpretação fisiológica da análise espectral da VFC, em condições de repouso, foi estabelecida, envolvendo três componentes espectrais diferentes: uma componente de frequência muito baixa (VLF) no intervalo entre 0 e 0,04 Hz, uma componente de baixa frequência (LF) entre 0,04 e 0,15 Hz, e uma componente de alta frequência (HF) entre 0,15 e 0,4 Hz. A energia na componente de HF é considerada uma medida da atividade parassimpática, relacionada principalmente à arritmia sinusal respiratória (RSA). A energia da componente de LF, associada ao reflexo barorreceptor, é considerada uma medida das atividades simpática e parassimpática (controle simpático com modulação vagal), sendo a sua interpretação

controversa quando, por exemplo, a frequência respiratória aparece na banda LF (BAILÓN, MAINARDI, *et al.*, 2010).

Durante a condição de repouso controlado, a respiração regular produz um componente espectral bem definido em torno da frequência respiratória. No entanto, em condições reais, a respiração pode ser extremamente variável e irregular, afetando o espectro da VFC em uma ampla gama de frequência. A essa variação natural na frequência cardíaca durante um ciclo respiratório dá-se o nome de Arritmia Sinusal Respiratória (RSA). A RSA aumenta a frequência cardíaca durante a inspiração e diminui durante a expiração, podendo ser visualizada como mudanças sutis no intervalo RR sincronizados com a respiração. Às vezes, o pico respiratório também pode sobrepor ao componente LF. Nestes casos, a separação entre a variabilidade RR independentes e dependentes da respiração pode ser crucial para evitar uma avaliação errônea do sinal da VFC (YASUMA e HAYANO, 2004; GROSSMAN e TAYLOR, 2007; BEN-TAL, SHAMAILOV e PATON, 2014).

A VFC origina-se principalmente a partir da oscilação do tráfego nervoso parassimpático, podendo, dessa forma, fornecer informações principalmente sobre o componente vagal do sistema nervoso autônomo. Por outro lado, os músculos lisos dos vasos sanguíneos estão sob controle simpático dominante (PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014). Portanto, a análise da variabilidade da pressão arterial pode ser mais útil para a detecção de disfunção simpática. Vários autores observaram disfunção do controle simpático dos vasos sanguíneos em pacientes com diabetes, manifestada com uma redução da potência espectral na faixa de baixa frequência da pressão arterial sistólica (MÉSANGEAU, LAUDE e ELGHOZI, 2000).

Existe um interesse crescente na quantificação de mudanças, batimento a batimento, da duração da repolarização ventricular (VRD), ou seja, a variabilidade da VRD (PORTA, TOBALDINI, *et al.*, 2010). Este interesse é baseado na sugestão que a variabilidade da VRD fornece uma medida indireta da regulação autonômica direcionada para os ventrículos (BERGER, KASPER, *et al.*, 1997), ou ainda como uma medida indireta do intervalo sistólico do ciclo cardíaco (IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2015).

A variabilidade da VRD é normalmente calculada a partir do ECG de superfície, como sendo a variabilidade do intervalo de tempo entre o início da onda Q e o final da onda T do ECG (intervalo QT), sob a hipótese de que a variabilidade do período de despolarização ventricular é negligenciável em relação à da VRD (Duração da Repolarização Ventricular). Uma vez que a variabilidade do período cardíaco, calculado como a diferença temporal entre dois picos consecutivos da onda R do ECG (RR), fornece índices de controle autonômico

dirigida para o nodo sinoatrial, o uso combinado de medidas da variabilidade de QT e RR permitiria a avaliação da regulação autonômica nos níveis de nodo sinoatrial. Embora a variabilidade do QT dependa de regulação autonômica independentemente do período cardíaco, sua quantificação global não pode ser considerada um índice indireto confiável de regulação autonômica direcionada para os ventrículos. Na verdade, variabilidade de QT (VQT) depende de mudanças RR e da influência síncrona da respiração, capaz de modificar diretamente o intervalo QT (*e.g.*, artefatos relacionados à respiração capazes de alterar a onda T, tais como movimentos do eixo cardíaco) (PORTA, TOBALDINI, *et al.*, 2010). A VQT pode ser considerada uma medida indireta do controle simpático ventricular, se aumentar progressivamente como uma função do impulso simpático e se este aumento for acompanhado do aumento da VQT não relacionado com alterações de RR e flutuações relacionados à respiração (BERGER, KASPER, *et al.*, 1997).

Considerando que o intervalo QT seja um indicador do intervalo sistólico do ciclo cardíaco, infere-se que o intervalo TQ seja um indicador, portanto, do intervalo diastólico. Relacionar estes dois indicadores ainda com o intervalo RR pode ser de grande utilidade na quantificação da interação entre esses processos, apontando para deficiências, principalmente no intervalo diastólico, o qual comumente acomete pacientes com CAN (POP BUSUI, 2013; IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2015).

A disfunção autonômica é comum em pacientes com diabetes Tipo 1, os quais normalmente não apresentam manifestações clínicas evidenciadas apenas por uma sensibilidade barorreceptora reduzida (WESTON, PANERAI, *et al.*, 1996).

Atualmente é aceito que a análise conjunta da pressão arterial sistólica (PAS) e séries de intervalo RR permite a avaliação da sensibilidade do reflexo barorreceptor cardíaco-arterial (BRS), quer utilizando métodos no domínio do tempo ou frequência (GOUVEIA, ROCHA, *et al.*, 2009). A técnica de sequências (*sequence method*) é um método frequentemente utilizado no domínio do tempo para a estimativa do BRS, graças à sua facilidade de execução. Este método baseia-se na identificação de sequências barorreflexas e de regressão linear sobre os valores da PAS e RR correspondentes. Uma estimativa global é obtida calculando a média da inclinação estimada de todas as sequências identificadas em um registro. Apesar de sua simplicidade, esta técnica algumas vezes não fornece uma estimativa adequada para pacientes com baixos valores de BRS, dependendo dos parâmetros utilizados. Como resultado, este método é considerado, por alguns autores, limitado para a avaliação/quantificação do BRS em casos de disfunção autonômica. Portanto, sugere-se melhoria de desempenho que, no entanto,

preservem a simplicidade do método (GOUVEIA, ROCHA, *et al.*, 2009; LA ROVERE, MAESTRI e PINNA, 2011; SVAČINOVÁ, HONZÍKOVÁ, *et al.*, 2013).

Sendo assim, a hipótese deste trabalho foi centrada na ideia de que a análise integrada de sinais fisiológicos que reflitam as condições do sistema nervoso autônomo, tais como a variabilidade da frequência cardíaca, do intervalo QT, da pressão sanguínea, sensibilidade barorreflexa e respiração, pode revelar índices que contribuam significativamente para a detecção e classificação da CAN em pacientes diabéticos. Dessa forma, pretendeu-se desenvolver uma metodologia para análise integrada dos referidos sinais, a fim de avaliar a função autonômica de pacientes diabéticos sob diferentes condições de acometimento pela CAN e viabilizar a implementação de um classificador computacional que pudesse realizar o *screening* de grande número de pacientes com diabetes e, sem a exigência de equipamentos complexos, profissionais treinados e participação/colaboração ativa dos pacientes, pudesse realizar a detecção precoce de neuropatia autonômica.

1.1 JUSTIFICATIVAS

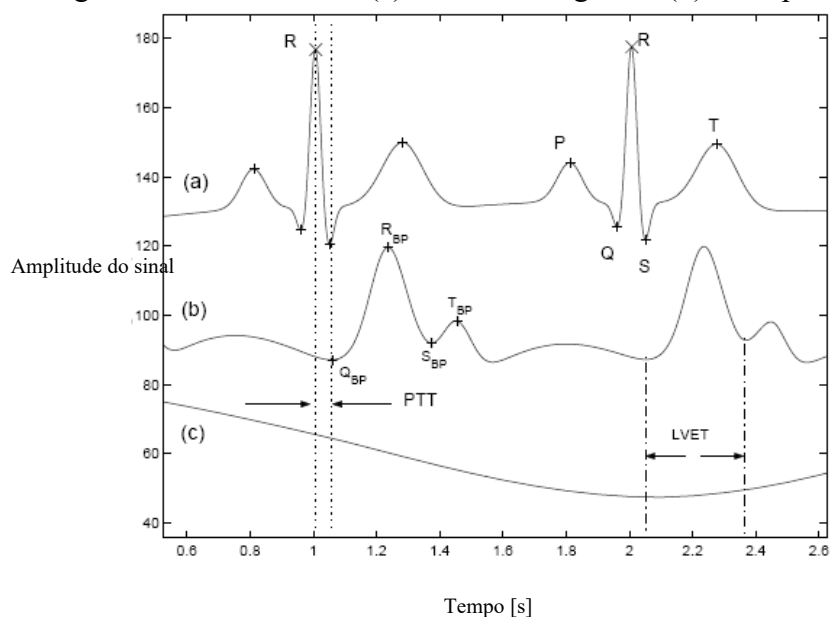
A neuropatia autonômica diabética (NAD) está entre as complicações crônicas mais comuns do diabetes mellitus, pois envolve todo o sistema nervoso autônomo e é um dos fatores determinantes da morbimortalidade e perda da qualidade de vida dos pacientes (CANANI, COPSTEIN, *et al.*, 2013). A NAD está associada com uma variedade de efeitos adversos, principalmente, cardiovasculares. A detecção precoce da NAD, enquanto assintomática, pode permitir a realização de tratamento e acompanhamento apropriados e, conseqüentemente, a prevenção das sérias complicações associadas com a NAD, tais como manifestações relacionadas a lesões dos sistemas geniturinário, gastrointestinal, da sudorese e cardiovascular, que, além de levarem à perda da qualidade de vida, se relacionam à morte súbita por eventos cardíacos, bem como no aumento das taxas de mortalidade por outras causas (NESTO, 2005; SCHMID, 2007; PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014).

Atualmente, não existe um teste simples que permita o *screening* de um grande número de pacientes diabéticos. A análise da variabilidade de sinais fisiológicos *e.g.*, frequência cardíaca (VFC), intervalo QT (função ventricular), pressão sanguínea (VPS), respiração (Resp) e sensibilidade barorreflexa (BRS) são técnicas de rápida execução e fácil utilização, de baixo custo e que podem constituir uma metodologia de ampla utilização para o diagnóstico e acompanhamento da neuropatia autonômica no próprio consultório médico.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) descreve a variação entre batimentos cardíacos consecutivos. A análise espectral da VFC, já utilizada juntamente com os testes de Ewing e O'Brien (EWING e CLARKE, 1982) para o diagnóstico da CAN, é realizada através da transformação do sinal biológico resultante do balanço simpático-vagal no nodo sinoatrial, em seus componentes causadores, apresentando-os segundo a frequência com que alteram a frequência cardíaca (PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014).

Após o pico da onda R no ECG há um pequeno atraso, conhecido como o tempo de ejeção ventricular esquerda (LVET), antes do volume de sangue ser ejetado para fora do ventrículo esquerdo, no sistema arterial. A Figura 1 ilustra as características marcantes das formas de onda de um sinal de ECG e de Pressão Sanguínea (PA). Os dois pontos principais marcados no sinal de Pressão Sanguínea são a PA Sistólica no início da onda (Q) e a PA Diastólica no pico da onda, (R) O Tempo de Transmissão do Pulso (PTT – *pulse pressure transiente time*) é considerado como sendo a diferença de tempo entre o pico da onda R do ECG e o início da onda da PA (Q) (CLIFFORD e MCSHARRY, 2004).

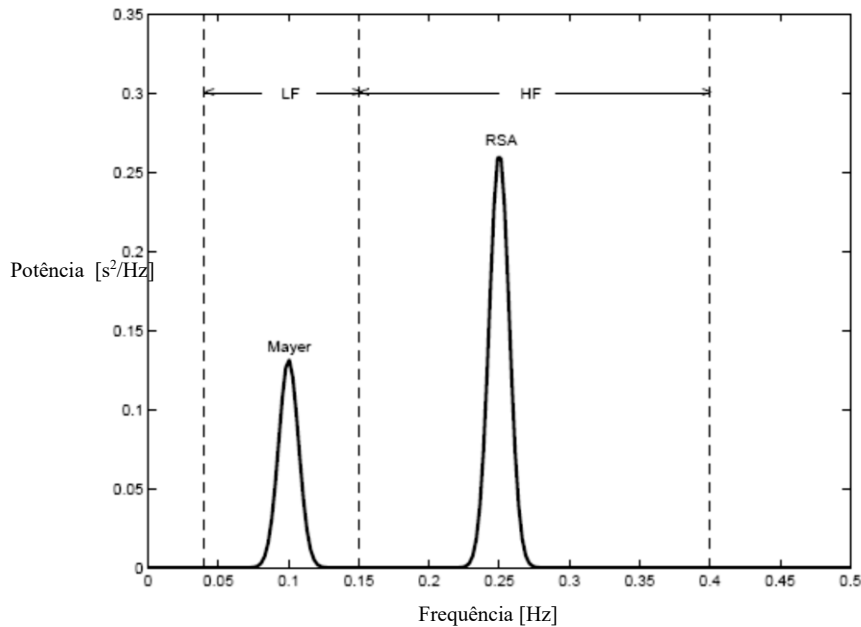
Figura 1: Sinais de ECG (a), Pressão Sanguínea (b) e Respiração (c).



Arritmia sinusal respiratória (RSA) é o nome dado à oscilação no tacograma RR devido à atividade parassimpática, que é sincronizada com o ciclo respiratório. A oscilação RSA manifesta-se como um pico na faixa do espectro de HF. Por exemplo, 15 respirações por minuto correspondem a uma oscilação de 4 segundos, com um pico no espectro de potência em 0,25 Hz. Um segundo pico é frequentemente encontrado na banda de LF do espectro em torno

de 0,1 Hz. Embora a causa do ritmo de 10 segundos seja fortemente debatida, uma possível explicação é que isto ocorre devido à regulação barorreflexa que cria as chamadas ondas de Mayer (HARKEL, LIESHOUT, *et al.*, 1990) no sinal de pressão arterial (Figura 2).

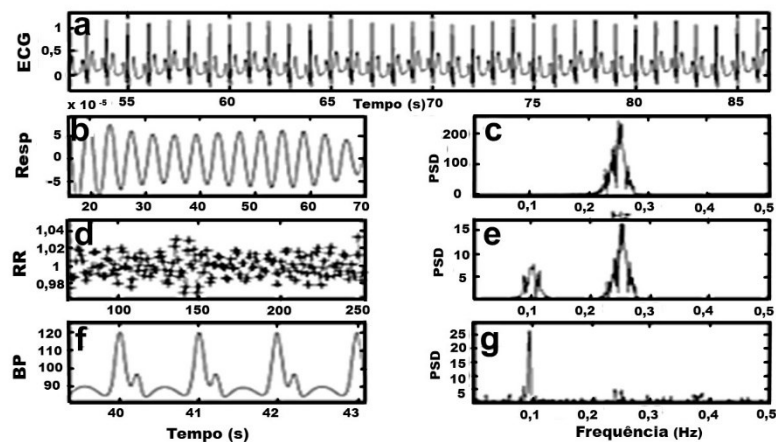
Figura 2: Espectro de Potência do Sinal de Intervalos RR.



Fonte: Adaptado de Clifford e McSharry (2004)

A Figura 3 ilustra o forte relacionamento entre os sinais de VFC, PA e Respiração, principalmente quando analisadas a Densidade Espectral de Potência (PSD) de cada um deles.

Figura 3: Sinal de ECG (a), Respiração (b) com correspondente PSD (c), Intervalos RR (d) com correspondente PSD (e) e PA (f) com correspondente PSD (g).



Fonte: Adaptado de Clifford e McSharry (2004).

Sendo assim, como visto anteriormente, normalmente a frequência cardíaca varia continuamente de acordo com a respiração, no entanto, em pacientes com neuropatia autonômica diabética existe uma notável redução e algumas vezes completa ausência de variação na resposta cardíaca.

A primeira manifestação da Neuropatia Autonômica Cardiovascular é, em geral, taquicardia de repouso e redução da variabilidade da frequência cardíaca. Posteriormente, a frequência cardíaca pode retornar ao normal, mas os ajustes fisiológicos são perdidos. A arritmia sinusal respiratória está nitidamente diminuída em indivíduos diabéticos. A tolerância ao exercício é frequentemente comprometida. Observa-se nestes pacientes uma diminuição da variabilidade dos ajustes da frequência cardíaca e da pressão arterial. Além disso, podem estar presentes redução da fração de ejeção, disfunção sistólica e diminuição do período diastólico (VOULGARI, TENTOLOURIS e STEFANADIS, 2011; PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014).

Entre outras explicações potenciais para a morte cardíaca associada à CAN estão o prolongamento do intervalo QT (SIVIERI, VEGLIO, *et al.*, 1993; VOULGARI, TENTOLOURIS e STEFANADIS, 2011) e a isquemia, levando a um aumento da susceptibilidade a arritmias ventriculares e a morte súbita cardíaca (MSC) (PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014). Vários estudos têm sugerido que o aumento da susceptibilidade a arritmias ventriculares fatais, relacionado com a modulação do sistema nervoso autônomo patológico sobre coração ou alterações intrínsecas associadas com repolarização prejudicada, contribui para o aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular em pacientes com diabetes (SUMEET, KYNDARON, *et al.*, 2008; KHANDOKER, IMAM, *et al.*, 2012).

A progressão da CAN está relacionada com a desregulação do sistema nervoso autônomo (KHANDOKER, JELINEK, *et al.*, 2010). A relação entre a regulação do sistema nervoso autônomo e a heterogeneidade da repolarização ventricular associada com variabilidade do intervalo RR, difere entre pacientes diabéticos e saudáveis (JELINEK, KHANDOKER e PALANISWAMI, 2010). No entanto, a relação entre a progressão da CAN em pacientes diabéticos Tipo 2 e a instabilidade da repolarização ventricular ainda não foi minuciosamente investigada, porém, já acredita-se que a análise desta relação possa ser clinicamente relevante na avaliação da progressão da CAN em pacientes diabéticos (VOULGARI, TENTOLOURIS e STEFANADIS, 2011; KUEHL e STEVENS, 2012).

A técnica da sensibilidade barorreflexa (BRS) avalia a capacidade de reflexamente se obter aumento da atividade vagal e diminuição da atividade simpática em resposta a um aumento súbito da pressão arterial (PA) e é usada em protocolos de pesquisa para determinar a

função cardíaca vagal e a função simpática barorreflexa. Um aumento da PA reduz o estímulo de eferentes simpáticos cardíacos e vasculares, resultando em uma rápida redução na frequência cardíaca (FC) e na PA. A redução da PA induz respostas opostas. Assim, para corretamente definir a função barorreflexa, devem ser consideradas a atividade vagal eferente (evidenciada por alterações na FC em resposta às modificações na PA), e a atividade simpática aferente (principalmente direcionada a vasos arteriais) (PEDROSA, VILAR e BOULTON, 2014). A avaliação da sensibilidade barorreflexa, de certa forma, busca avaliar a integração entre os marcadores biológicos de PA e de FC.

A forte correspondência entre os sinais de RR, intervalo QT, PA, Respiração e sensibilidade barorreflexa nos sugere a hipótese de que, com a utilização conjunta desses sinais, é possível obter melhores resultados, no que diz respeito à classificação do estágio da CAN em pacientes diabéticos (sem CAN, CAN subclínica, CAN estabelecida), do que os métodos disponíveis na literatura, os quais se baseiam apenas em um único tipo de sinal.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia capaz de detectar neuropatia autonômica subclínica em diabéticos, através da proposta de indicadores do Sistema Nervoso Autônomo baseada, principalmente, na análise da variabilidade da frequência cardíaca, intervalo QT, pressão sanguínea, respiração e sensibilidade barorreflexa.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Buscar, delimitar e implementar índices disponíveis na literatura que demonstrem inter-relações existentes entre a variabilidade da frequência cardíaca, do intervalo QT, da pressão sanguínea, a sensibilidade barorreflexa e a respiração, e que possam refletir o funcionamento do Sistema Nervoso Autônomo;
- Propor e implementar novos índices que possam contribuir na quantificação do funcionamento do Sistema Nervoso Autônomo, baseando-se também na integração dos sinais fisiológicos de ECG e PPG;
- Realizar análise exploratória com os índices implementados e definir uma metodologia para a detecção de neuropatia autonômica subclínica em diabéticos,

a partir daqueles índices com potencial para diferenciação do estágio da CAN em pacientes diabéticos;

- Implementar um classificador computacional de acordo com a metodologia desenvolvida, que possibilite a detecção da CAN e diferenciação do seu estágio nos pacientes diabéticos;
- Testar e verificar a eficácia da metodologia desenvolvida, a partir da comparação dos resultados do classificador com uma base de dados de pacientes já diagnosticados pelo “padrão ouro” utilizado (CARTs – Testes de Reflexo Autonômico Cardiovascular).

1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO

A estrutura deste trabalho de doutorado foi elaborada da seguinte forma:

- Capítulo 1: Introdução – Este capítulo apresenta e evidencia a importância da execução deste trabalho, esclarecendo as motivações para a implementação de uma metodologia para auxílio na detecção e classificação da Neuropatia Autonômica Cardiovascular, de forma a contribuir com a melhoria no prognóstico e qualidade de vida de pacientes com diabetes;
- Capítulo 2: Aspectos Fisiológicos – Este Capítulo contém as informações essenciais para compreensão da Neuropatia Autonômica Cardiovascular quanto aos seus efeitos e quanto a sua relação direta com o Sistema Nervoso Autônomo e com o Sistema Cardiovascular. É esta relação que possibilita o estudo da CAN através de sinais fisiológicos, como se propõe neste trabalho;
- Capítulo 3: Alguns Métodos de Análise do Sistema Cardiovascular para Diagnóstico da CAN – São apresentados métodos já utilizados para obtenção de índices que auxiliam na avaliação do funcionamento do sistema cardiovascular, principalmente relacionado à integração com o sistema nervoso autônomo;
- Capítulo 4: Material e Métodos – Neste Capítulo é apresentada metodologia seguida na expectativa de atingir os objetivos deste trabalho. Ou seja, a metodologia seguida para o desenvolvimento de um classificador computacional que detecte CAN e classifique-a, conseguindo discriminar o estágio SCAN entre os demais;

- Capítulo 5: Resultados e Discussão – Apresentam-se os resultados obtidos com a metodologia desenvolvida.
- Considerações Finais: São apresentadas as conclusões e limitações encontradas com o desenvolvimento deste trabalho, bem como sugestões de trabalhos futuros relacionados ao aprimoramento dos resultados encontrados.

2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS

Este Capítulo apresenta a fundamentação teórica dos aspectos fisiológicos que podem estar envolvidos no desenvolvimento da Neuropatia Autonômica Cardiovascular em pacientes diabéticos. Ou seja, descreve os sistemas fisiológicos envolvidos com a CAN e sua relação direta com a doença.

2.1 O SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

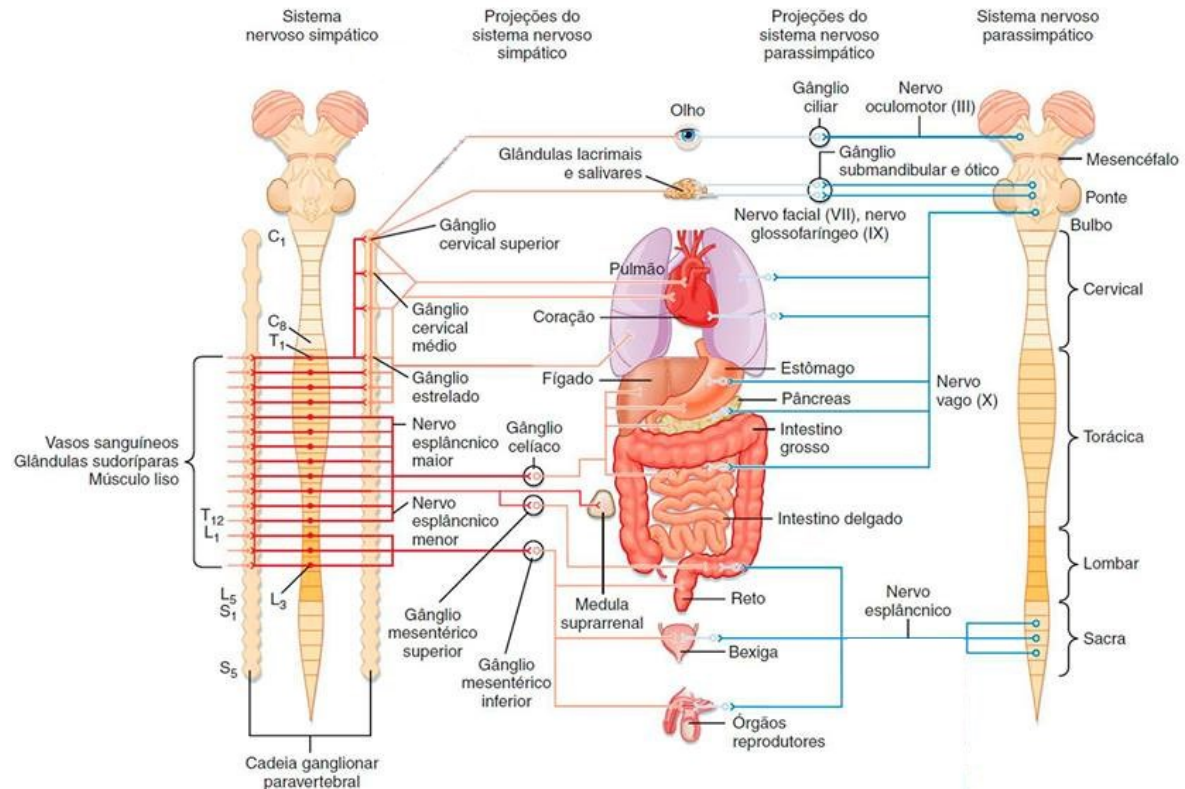
Atuando de forma integrada, o SNA é um dos efetores primários da homeostasia, regulando, em parte, o funcionamento dos órgãos participantes da manutenção da constância do meio interno do corpo (JOHNSON, 2000).

Ambas as divisões simpática e parassimpática do SNA (Figura 4) têm componentes centrais e periféricos. Grupamentos de células nervosas, que contribuem para o controle de diversos órgãos, por meio do SNA, ficam situados no hipotálamo e no tronco encefálico (SILVERTHORN, 2010).

Muitos desses grupamentos parecem ter participação na regulação de funções específicas. Por exemplo, a estimulação direta de certas áreas pode provocar a elevação da pressão arterial, enquanto a de outras áreas altera a temperatura corporal, a atividade gastrointestinal e o funcionamento da bexiga urinária.

A maior parte dos órgãos que são influenciados pelo SNA é inervada por ambas as divisões do SNA, simpática e parassimpática. As ações dessas duas divisões, sobre um determinado órgão, são, em geral, antagônicas. Por exemplo, aumento das entradas (*inputs*) simpáticas neurais para o nodo sinoatrial do coração provoca aumento da FC, enquanto o aumento das entradas parassimpáticas, para esse nodo, provoca redução da FC. À primeira vista, essa disposição poderia parecer estar atuando uma contra a outra; contudo, essas divisões, em geral, atuam de forma tal que o aumento das entradas de uma é acompanhado pela redução das entradas da outra (JOHNSON, 2000).

Figura 4: Representação esquemática mostrando as vias simpática (em vermelho) e parassimpática (em azul) do Sistema Nervoso Autônomo. As vias pré-ganglionares são mostradas em tonalidade mais escura e as pós-ganglionares em tonalidade mais clara.



Fonte: Johnson (2000).

2.2 O SISTEMA CARDIOVASCULAR

O sistema circulatório participa ativamente de mecanismos homeostáticos, tais como regulação da temperatura corporal, manutenção do balanço de fluidos e ajuste do fornecimento de O_2 e nutrientes sob vários estados fisiológicos.

O sistema cardiovascular, que realiza essas tarefas, é composto por uma bomba (o coração), por uma série de tubos coletores e distribuidores (vasos sanguíneos) e por extensa rede de vasos finos (capilares), que permitem o transporte rápido entre os tecidos e os canais vasculares. Os vasos sanguíneos, presentes em todo o corpo, são cheios por um fluido heterogêneo (sangue), essencial para os processos de transporte realizados pelo coração e por esses vasos (BERNE e LEVY, 2009).

O coração é o principal órgão do sistema cardiovascular, e é caracterizado por um músculo que funciona como uma bomba. O lado direito do coração recebe o sangue rico em gás carbônico e o leva para os pulmões, onde recebe oxigênio. Dos pulmões o sangue segue para o lado esquerdo do coração, de onde sai a aorta, que leva o sangue rico em oxigênio e

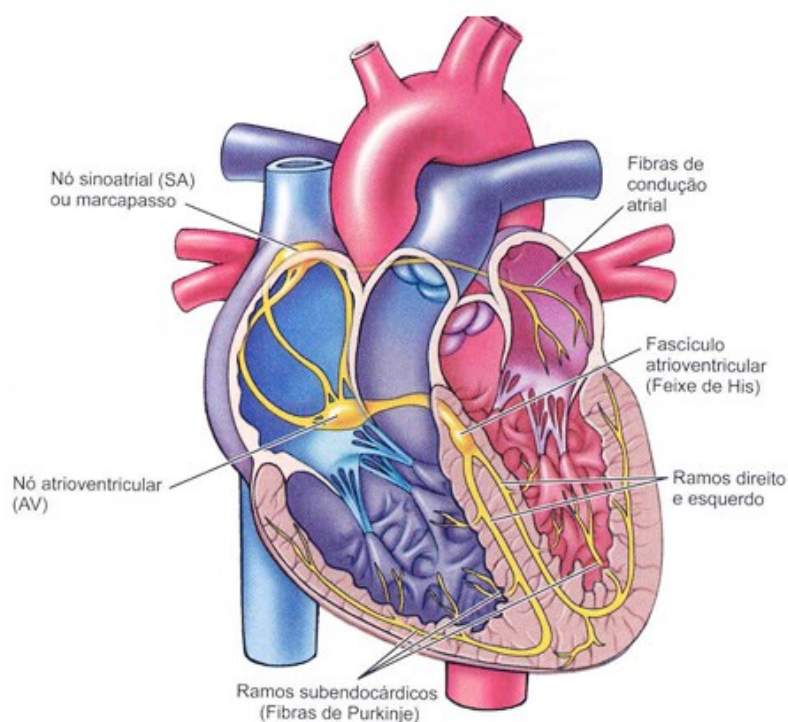
nutrientes para todo o corpo. Os vasos sanguíneos são os responsáveis pelo transporte do sangue do coração para o restante do corpo, e de volta para o coração.

2.2.1 Atividade Elétrica do Coração

No coração são encontrados dois tipos principais de células: células contráteis e células condutoras. As células contráteis compõem o miocárdio funcionante e representam a maioria das células musculares que constituem os átrios e os ventrículos. Um potencial de ação, em qualquer dessas células, acarreta a contração mecânica dessa célula. Além disso, um potencial de ação em célula muscular cardíaca estimula as células vizinhas a também apresentarem um potencial de ação, de modo que a ativação de qualquer célula se propaga por todo o coração.

As células condutoras são células musculares especializadas que estão envolvidas não com a geração direta da força, mas sim com o desencadeamento ou a propagação dos potenciais de ação (JOHNSON, 2000). As principais células condutoras são apresentadas na Figura 5.

Figura 5: Estrutura do sistema de condução do coração.



Fonte: Netter (2000).

Os impulsos elétricos são gerados repetidamente no nodo sinoatrial, que se propagam tanto para o átrio direito quanto para o átrio esquerdo. O átrio e o ventrículo são eletricamente isolados um do outro. Os impulsos elétricos se propagam dos átrios para os ventrículos por

meio de uma junção especial, chamada nó atrioventricular (AV), e depois para a rede de fibras de Purkinje e os ventrículos.

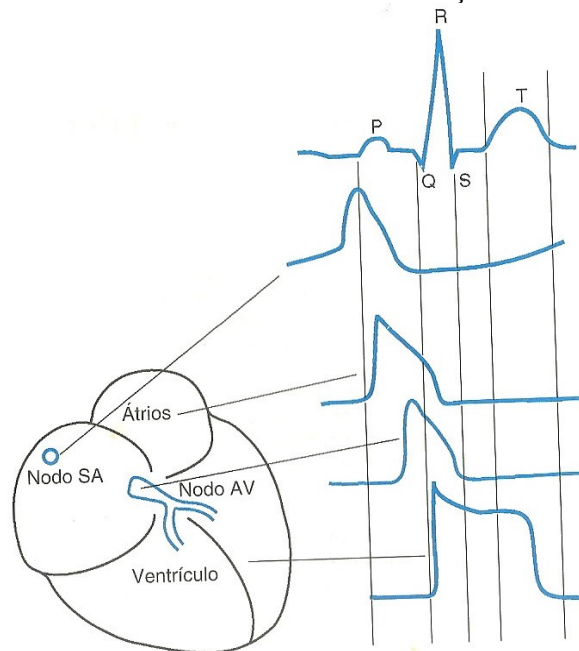
A velocidade de condução do impulso elétrico no tecido atrial e ventricular é de cerca de 0,5 m/s. A condução nas fibras de Purkinje é muito mais rápida (2–3 m/s) do que no átrio ou nos ventrículos. A condução rápida na fibra de Purkinje é importante para permitir um impulso de excitação de todos os ventrículos em um curto período de tempo, resultando em uma contração sincrônica para um bombeamento eficaz (QU, HU, *et al.*, 2014).

2.2.2 Visão Geral do Eletrocardiograma

Dá-se o nome de eletrocardiograma (ECG) ao registro da atividade elétrica do coração a partir da superfície do corpo. A Figura 6 mostra um traçado típico de ECG (JOHNSON, 2000).

Para obtenção desse registro, o eletrodo positivo foi colocado no ombro esquerdo e o eletrodo negativo no ombro direito (esta é a disposição padrão para a derivação I). A sequência de ativação do coração começa com potenciais de ação no interior do nodo SA. Como a massa do nodo SA é muito pequena, o traçado do ECG não registra qualquer dos potenciais de ação disparados pelo nodo SA. Depois da ativação do nodo SA, os potenciais de ação se propagam através dos átrios. Os átrios são suficientemente grandes para produzirem um sinal de baixa amplitude denominado onda P. A onda P é a primeira deflexão do ECG e representa a despolarização dos átrios. O término da onda P não representa o relaxamento dos átrios, mas sim o momento em que todas as células musculares dos átrios estão despolarizadas e em estado de contração. Assim, a duração da onda P indica a velocidade de propagação dos potenciais de ação através dos átrios.

Figura 6: O ECG. Suas principais ondas e a cronologia dos potenciais de ação nas principais estruturas condutoras do coração



Fonte: Johnson (2000).

Logo após começarem a se propagar pelos átrios, os potenciais de ação alcançam o nódo AV. Os potenciais de ação se propagam muito lentamente através do nódo AV e do feixe de His; essa propagação continua mesmo depois de os átrios se terem despolarizado por completo. Durante esse período, o ECG não revela variações de potencial, em virtude da pequena massa dos tecidos que formam o nódo AV e o feixe de His; assim, a deflexão rapidamente retorna à linha de base após a onda P.

O complexo QRS representa a propagação da onda de despolarização através dos ventrículos. Se o complexo começa com uma deflexão negativa, esta é denominada onda Q. A onda Q está ausente quando a primeira deflexão é positiva, e não negativa. A primeira deflexão positiva – quando presente – é denominada onda R. Quando uma deflexão negativa se segue a uma onda R, tal deflexão recebe o nome de onda S, mesmo que seja a primeira deflexão negativa. A forma do complexo QRS depende de onde os eletrodos estão posicionados. Conseqüentemente, um traçado pode ter apenas uma onda R ou apenas uma onda Q representando todo o complexo QRS. Em geral o complexo QRS tem voltagem maior que a da onda P, pois a massa dos ventrículos é muito superior a dos átrios. O complexo QRS é também mais breve que a onda P ($< 0,1$ s), em virtude da presença da rede de fibras de Purkinje, que rapidamente propaga a onda de excitação a todas as células dos ventrículos. O complexo QRS termina quando todas as células dos ventrículos estão despolarizadas.

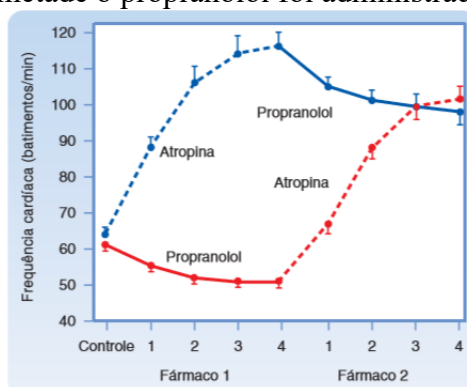
Depois do complexo QRS, o traçado novamente retorna à linha de base, indicando a inexistência de diferenças de potencial. Isso ocorre, evidentemente, porque todo o ventrículo se acha despolarizado e todos os potenciais de ação se encontram em sua fase de platô. Quando o ventrículo começa a se regularizar, surge a onda T. O término da onda T representa o momento em que todas as células dos ventrículos retornaram ao seu potencial de repouso e o coração está completamente relaxado. Não existe no ECG componente que corresponda à fase de repolarização dos átrios. A repolarização das células atriais é desorganizada e gera voltagens desprezíveis.

2.2.3 Controle Neural da Frequência Cardíaca

Embora certos fatores locais, tais como as variações da temperatura e do estiramento do tecido, possam afetar a frequência cardíaca (frequência de despolarização do músculo cardíaco), o sistema nervoso autônomo (SNA) é o principal meio pelo qual a frequência cardíaca é controlada (BERNE e LEVY, 2009).

O tônus parassimpático em geral predomina nos indivíduos saudáveis em repouso. Quando é administrada atropina, antagonista do receptor muscarínico que bloqueia os efeitos parassimpáticos, a um indivíduo em repouso a FC, em geral, aumenta substancialmente. Se, ao indivíduo em repouso, é administrado o propranolol, antagonista de receptor β -adrenérgico que bloqueia os efeitos simpáticos, a frequência cardíaca em geral diminui apenas levemente (Figura 7).

Figura 7: Efeitos de quatro doses iguais de atropina e de propranolol sobre a FC de dez homens jovens saudáveis. Em metade do experimento a atropina foi administrada primeiro (curva de cima) e na outra metade o propranolol foi administrado primeiro (curva de baixo).



Fonte: Berne e Levy (2009).

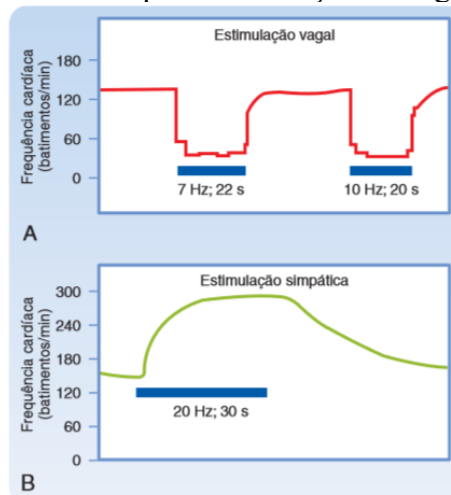
Quando ambas as divisões do SNA são bloqueadas, a média da frequência cardíaca de adultos jovens é de cerca de 100 batimentos/min. A frequência que prevalece, após bloqueio autonômico completo é chamada de FC intrínseca (BERNE e LEVY, 2009).

2.2.3.1 Fibras Parassimpáticas Cardíacas

A maioria das células dos gânglios vagais estão localizadas em depósitos de gordura no epicárdio, próximos aos nodos sinoatrial (SA) e atrioventricular (AV). O nervo vago direito afeta predominantemente o nodo SA; a estimulação desse nervo retarda o disparo do nodo SA e pode, mesmo, interromper o disparo por vários segundos. O nervo vago esquerdo inibe principalmente a condução do tecido do nodo AV, produzindo vários graus de bloqueio AV. Entretanto, a distribuição das fibras eferentes vagais direita e esquerda se sobrepõem de tal forma que a estimulação vagal esquerda também deprime o nodo SA e a estimulação vagal direita impede a condução AV (BERNE e LEVY, 2009).

Os nodos SA e AV são ricos em colinesterase, enzima que hidrolisa rapidamente o neurotransmissor acetilcolina (ACh). Os efeitos de um dado estímulo vagal decaem muito rapidamente (Figura 8 A) quando o estímulo vagal é interrompido, porque a ACh é destruída rapidamente. Além disso, os efeitos vagais sobre a função dos nodos SA e AV têm latência muito curta (aproximadamente 50 a 100 milissegundos), por causa da ACh liberada rapidamente e que ativa os canais de K^+ regulados pela ACh nas células cardíacas. Essas duas características do nervo vago (breve latência e decaída rápida da resposta) permitem-lhe exercer o controle batimento a batimento das funções dos nodos SA e AV (BERNE e LEVY, 2009).

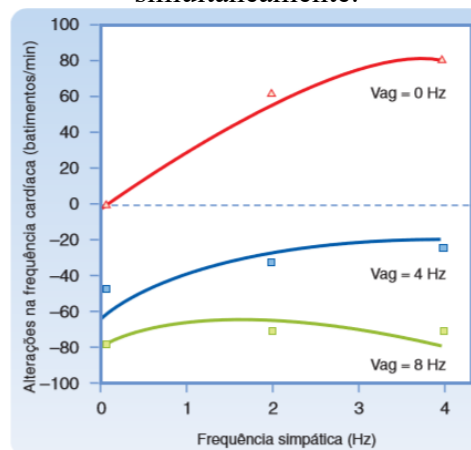
Figura 8: Alterações da FC provocadas pela estimulação do vago (A) e nervos simpáticos (B).



Fonte: Berne e Levy (2009).

A influência parassimpática predomina, em geral, sobre os efeitos simpáticos no nodo SA, como mostrado na Figura 9. Quando a frequência de estimulação simpática aumenta de 0 a 4 Hz a FC aumenta para cerca de 80 bat/min na ausência de estimulação vagal (Vag = 0 Hz). Entretanto, quando os nervos vagos são estimulados a 8 Hz, aumentando a frequência de estimulação simpática de 0 para 4 Hz, a influência sobre a FC é praticamente desprezível.

Figura 9: Alterações da FC quando os nervos vagos e simpáticos cardíacos são estimulados simultaneamente.



Fonte: Berne e Levy (2009).

2.2.3.2 Fibras Simpáticas Cardíacas

As fibras simpáticas pós-ganglionares chegam à base do coração, ao longo da superfície adventícia dos grandes vasos. Da base do coração essas fibras são distribuídas para as várias câmaras como extenso plexo epicárdico. Elas, então, penetram no miocárdio, geralmente acompanhando os vasos coronarianos.

Em contraste com a terminação abrupta da resposta após a atividade vagal, os efeitos da estimulação simpática decaem gradualmente após o término da estimulação (Figura 8 B). As terminações nervosas captam 70% da norepinefrina liberada durante a estimulação simpática; muito do remanescente é removido pela corrente sanguínea.

Esses processos são lentos e os efeitos facilitatórios da estimulação simpática sobre o coração atingem os valores de estado estável muito mais lentamente do que os efeitos inibitórios da estimulação vagal.

O início da resposta cardíaca à estimulação simpática começa de modo lento por duas razões principais. Primeiro, a norepinefrina parece ser liberada lentamente pelas terminações nervosas simpáticas. Segundo os efeitos cardíacos da norepinefrina liberada são mediados, em

grande parte, por um sistema de segundos mensageiros relativamente lentos. Conseqüentemente a atividade simpática altera a FC e a condução do nodo AV muito mais lentamente do que a atividade vagal o faz. Embora a atividade vagal possa exercer controle batimento a batimento da função cardíaca, a atividade simpática não pode (BERNE e LEVY, 2009).

2.2.3.3 *Reflexo Barorreceptor*

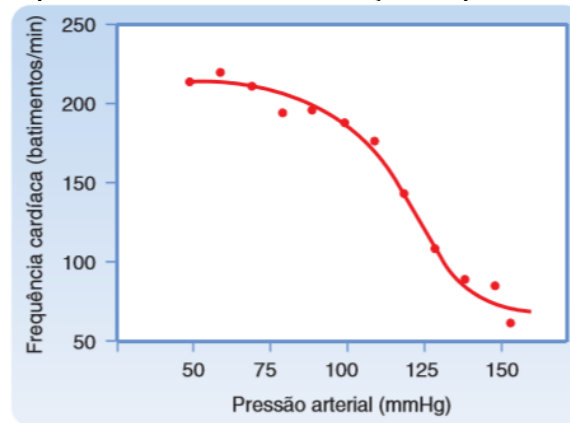
Sob uma variedade de circunstâncias ambientais e fisiológicas, a pressão arterial é regulada em torno de uma faixa estreita e os barorreflexos arteriais são extremamente importantes para a regulação batimento a batimento da pressão arterial (PA).

Variações súbitas da pressão arterial (PA) iniciam um reflexo que provoca alteração inversa da FC (Figura 10). Os barorreceptores, localizados no arco aórtico e nos seios carotídeos, são responsáveis por esse reflexo. A relação inversa entre FC e PA é em geral mais pronunciada na faixa intermediária de pressão arterial. Abaixo dessa faixa a FC se mantém constante e com alto valor; acima dessa faixa a FC também se mantém constante, mas com um baixo valor (BERNE e LEVY, 2009).

Os efeitos dessas variações da pressão do seio carotídeo sobre a atividade de nervos autonômicos cardíacos são mostrados na Figura 11, que mostra que na faixa intermediária de pressão do seio carotídeo (100 a 180 mmHg) alterações recíprocas são provocadas das atividades neurais eferentes vagal e simpática. Abaixo dessa faixa da pressão no seio carotídeo a atividade simpática é intensa e a atividade vagal é virtualmente ausente. De modo inverso, a atividade vagal é intensa e a atividade simpática é mínima acima da faixa intermediária da pressão no seio carotídeo (BERNE e LEVY, 2009).

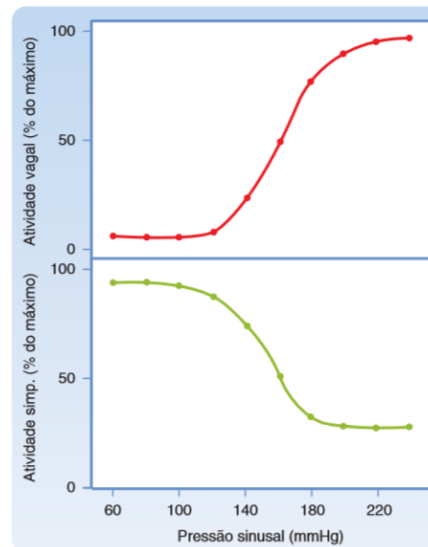
Nas pressões sanguíneas normais de repouso, o sistema nervoso central recebe informações continuamente das projeções dos barorreceptores aferentes. Em repouso, o coração está recebendo informações dos ramos simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo, e o equilíbrio entre a atividade desses sistemas eferentes determinará a frequência cardíaca basal. Em repouso, a vasculatura está recebendo informações tônicas do sistema nervoso simpático. Isso significa que, em condições normais de repouso, os barorreceptores arteriais estão funcionando como um "freio" para manter a frequência cardíaca e a pressão arterial mais baixas do que estariam na ausência de entrada de barorreceptores (HEESCH, 1999).

Figura 10: Frequência cardíaca como função da pressão arterial média.



Fonte: Berne e Levy (2009).

Figura 11: Efeitos das variações da pressão em seios carotídeos isolados sobre a atividade neural das fibras nervosas eferentes.



Fonte: Berne e Levy (2009).

2.2.3.4 Arritmia Sinusal Respiratória

A frequência cardíaca, mesmo em condições fisiológicas aparentemente estáveis, não é constante e alguma aceleração e desaceleração ocorrem com, respectivamente, inspiração e expiração (YASUMA e HAYANO, 2004).

Registros dos nervos autonômicos cardíacos revelam que a atividade neural aumenta nas fibras simpáticas durante a inspiração e aumentam nas vagais durante a expiração. A resposta da FC à cessação do estímulo vagal é muito rápida, porque a ACh liberada pelos nervos vagos é rapidamente hidrolisada pela colinesterase. Essa curta latência permite que a FC varie ritmicamente com a frequência respiratória. Reciprocamente, a norepinefrina liberada

periodicamente nas terminações simpáticas é removida de forma muito lenta (BERNE e LEVY, 2009).

Portanto, as variações rítmicas da atividade simpática que acompanham a inspiração não induzem qualquer variação oscilatória apreciável da FC. Assim, a alteração intra-respiratória da frequência cardíaca, ou arritmia sinusal respiratória (RSA), é atribuída a alterações no tônus vagal, cujas variações podem ser indicadores diagnósticos úteis e preditores de desfecho em pacientes adultos e neonatais (MORTOLA, MARGHESCU e SIEGRIST-JOHNSTONE, 2018).

2.2.4 Regulação do Sistema Cardiovascular

Uma das principais funções do sistema cardiovascular é manter a homeostase do meio interno, ou seja, suprir oxigênio, alimentos, vitaminas, hormônios e calor para cada uma das células constituintes do organismo, além de remover os produtos do catabolismo celular (gás carbônico, produtos nitrogenados, água, etc.) e o excesso de calor. A força motriz da circulação – a pressão sanguínea, ou pressão arterial (PA), que é responsável direta pela manutenção da perfusão tecidual em níveis adequados e razoavelmente constantes ao longo de toda a vida dos indivíduos – é controlada por mecanismos complexos e, muitas vezes, redundantes (ANTUNES-RODRIGUES, MOREIRA, *et al.*, 2005).

A PA é uma variável física (força/unidade de área) que depende da relação entre conteúdo/contínente, ou seja, do volume sanguíneo contido no leito arterial, o qual é condicionado pela combinação instantânea entre a entrada (fluxo sanguíneo gerado pela atividade cardíaca ou débito cardíaco – DC) e a saída de sangue do compartimento arterial (controlada pela resistência oferecida ao fluxo sanguíneo ou resistência periférica total – RPT).

O DC depende da frequência cardíaca (FC) e do volume de sangue ejetado a cada batimento (volume sistólico – VS), que é definido pela contratilidade cardíaca combinada com a pré-carga ou retorno venoso (RV) ao coração e com a resistência oferecida à ejeção do sangue. Por sua vez, o RV está na dependência do volume sanguíneo (volemia) e de vários mecanismos que condicionam o retorno do sangue ao coração, entre os quais se destaca a capacitância venosa (CV).

Deve-se ter presente que os mecanismos que regulam a PA o fazem através de alterações instantâneas da CV e RV, do DC ($FC \times VS$) e da RPT, ou de alterações mais em longo prazo da volemia. Esses ajustes, alterando a quantidade de sangue presente em dado instante no leito arterial, determinam o nível momentâneo da PA, bem como as alterações de

pressão necessárias manutenção da perfusão tecidual a cada um dos territórios do organismo (ANTUNES-RODRIGUES, MOREIRA, *et al.*, 2005).

Vários são os mecanismos que contribuem para a manutenção da constância da PA. Como descrito no Quadro 1, esses mecanismos podem ser didaticamente classificados em duas classes: (1) a que engloba mecanismos de ação imediata, ou seja, plenamente ativos em questão de segundo e/ou minutos (a chamada regulação em curto e médio prazo), que envolve mecanismos de ação local, mecanismos neurais e hormonais, os quais determinam respostas funcionais e promovem a translocação de sangue de um compartimento para outro; e (2) a classe que engloba mecanismos de ação mais prolongada e duradoura (regulação em longo prazo), envolvendo mecanismos de regulação da volemia e do leito vascular, que são, em última análise, os responsáveis pela dimensão física da PA (ANTUNES-RODRIGUES, MOREIRA, *et al.*, 2005).

Dentre os mecanismos neurais, o barorreflexo, comandado pelos mecanorreceptores arteriais, é tônico e o mecanismo mais importante para corrigir, de forma imediata, os desvios para mais e para menos dos níveis basais a PA.

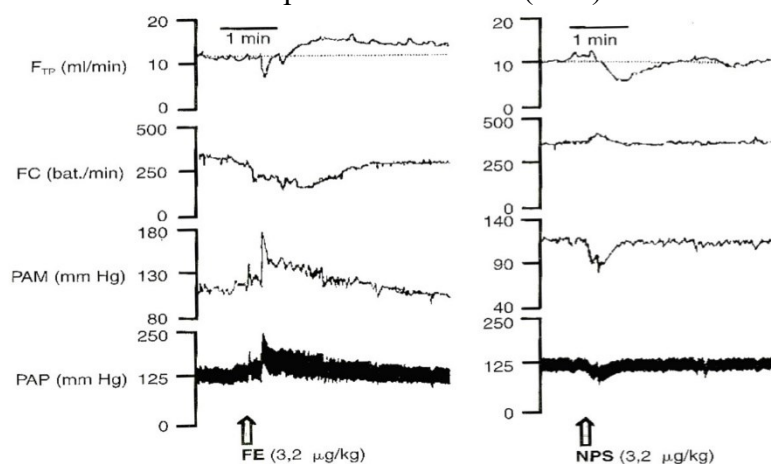
Conforme ilustrado na Figura 12, elevações transitórias da PA são prontamente corrigidas por intensa bradicardia e vasodilatação (indicada pelo aumento do fluxo ao trem posterior após o estímulo pressor) reflexas, as quais, reduzindo o DC e a RPT, trazem a PA de volta aos valores basais. Da mesma forma, quedas abruptas da PA desencadeiam taquicardia e vasoconstrição reflexas, com consequentes aumentos do DC e da RPT, trazendo novamente a PA a seus níveis basais. Esse mecanismo funciona momento a momento e é de fundamental importância para a manutenção da constância do meio interno, uma vez que estamos continuamente sujeitos a estímulos ambientais (atenção, estresse, reação de alerta, etc.), bem como a alterações posturais. Vale lembrar que a ação da gravidade sobre o sistema circulatório compromete a circulação dos territórios situados acima, enquanto sobrecarrega aqueles situados abaixo da bomba cardíaca, e que esta situação, por mudanças de postura, altera-se frequentemente, o que poderia vir a comprometer a perfusão tecidual, não fosse a ação eficiente e ininterrupta do barorreflexo em corrigir as oscilações da PA (ANTUNES-RODRIGUES, MOREIRA, *et al.*, 2005).

Quadro 1: Mecanismos que contribuem para a manutenção da constância da PA.

Mecanismos de Regulação da PA (DC, RPT, CV)	
Regulação em Curto e Médio Prazo	
Locais	Miogênicos Metabólicos (O ₂ , CO ₂ , pH, K ⁺ , osmolidade) Parácrinos/autócrinos (Bk, PGs, histamina, 5-HT, etc.) Fatores endoteliais Temperatura
Neurais	Mecanorreceptores arteriais Quimiorreceptores arteriais Receptores cardiopulmonares Outros receptores (aférentes renais, musculoesqueléticos, termorreceptores, etc.)
Hormonais	Catecolaminas Sistema renina-angiotensina-aldosterona Vasopressina Ocitocina Peptídeo natriurético atrial
Regulação em longo prazo	
Feedback rim-fluidos corporais (balanço ingestão/excreção de água e sais)	
Fatores físicos (neoformação e/ou rarefação de vasos)	

Fonte: Adaptado de Antunes-Rodrigues, Moreira, Elias e Castro (2005).

Figura 12: Funcionamento do barorreflexo ilustrando a correção da pressão arterial durante elevação ou queda transitórias, causadas pela administração endovenosa de fenilefrina (FE) ou nitroprussiato de sódio (NPS).



F_{TP}: fluxo sanguíneo ao trem posterior; FC: frequência cardíaca; PAM: pressão arterial média; PAP: pressão arterial pulsátil.

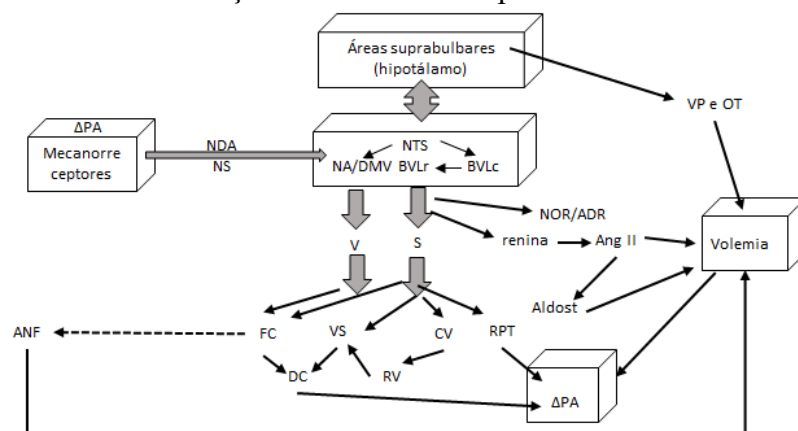
Fonte: Adaptado de Antunes-Rodrigues, Moreira, Elias e Castro (2005).

A regulação neural do sistema cardiovascular (Figura 13), comandada pelos mecanorreceptores arteriais, funciona como um arco reflexo (MICHELINI, 1999).

Elevações e quedas da PA causam maior ou menor deformação da parede arterial (proporcionais aos níveis de tensão arterial), as quais são codificadas pelos mecanorreceptores em maior ou menor frequência de disparo de potenciais de ação. Essas informações são

conduzidas ao sistema nervoso central pelas fibras aferentes do nervo depressor aórtico (NDA, que trafegam junto ao vago) e do nervo sinusal (NS, que se incorporam ao glossofaríngeo) e projetam-se para o núcleo do trato solitário (NTS), a primeira estação sináptica no bulbo, que contém as principais áreas de integração reflexa cardiovascular. Os neurônios do NTS são glutamatérgicos (SVED e GORDON, 1994) e projetam-se para os núcleos ambíguos (NA) e dorsal motor do vago (DMV). Ao serem ativados, excitam (ou não, no caso de queda de PA com redução da atividade aferente) os corpos celulares dos neurônios pré-ganglionares do parassimpático situados nessas áreas, que se projetam para o coração (via eferente vagal). No coração, os pós-ganglionares vagais inervam os nódulos sinoatrial (SA) e atrioventricular (AV) e átrios, determinando bradicardia, quando o estímulo inicial for elevação da PA, e taquicardia, quando o estímulo for queda da PA. Outros neurônios do NTS, também glutamatérgicos, projetam-se para o bulbo ventrolateral caudal (BVLc), excitando-o ou não, na dependência do aumento ou da queda da PA. Os neurônios do BVLc são gabaérgicos (SVED e GORDON, 1994) e projetam-se para o bulbo ventrolateral rostral (BVLr), inibindo-o (no caso de o estímulo inicial tratar-se de elevação da PA) ou não (durante quedas da PA). No BVLr situam-se os pré-motores simpáticos (DAMPNEY, 1994), que se projetam para os neurônios pré-ganglionares situados na coluna intermédio-lateral da medula espinhal, os quais, por sua vez, se projetam para os pós-ganglionares (via eferente) que inervam o coração, os vasos de resistência e os vasos de capacitância (efetores). O simpático é, portanto, inibido, durante aumentos da PA, ou não inibido durante quedas transitórias desta.

Figura 13: Representação esquemática das respostas neurais e hormonais desencadeadas pela estimulação dos mecanorreceptores arteriais.



Fonte: Adaptado de Antunes-Rodrigues, Moreira, Elias e Castro (2005).

Assim, quando o estímulo desencadeante do reflexo for elevação da PA, há, reflexamente, ativação do vago e inibição do simpático, com conseqüente redução da FC, do VS, da RPT e aumento da CV, a qual reduz o retorno venoso ao coração, com redução adicional do VS e do DC, determinando diminuição da PA e sua volta aos valores basais (MICHELINI, 1999). Por outro lado, quando o estímulo desencadeante for queda da PA, o vago não é ativado e o simpático não é inibido, determinando aumento da FC, do VS, da RPT e redução da CV, com conseqüente aumento do RV, que contribui para aumentar ainda mais o VS, o DC e a PA, trazendo esta última novamente a seus valores basais. Essas respostas neurais desencadeadas são extremamente rápidas, corrigindo em questão de segundos as oscilações pressoras para cima ou para baixo dos valores-controles (ANTUNES-RODRIGUES, MOREIRA, *et al.*, 2005).

2.3 O DIABETES MELLITUS

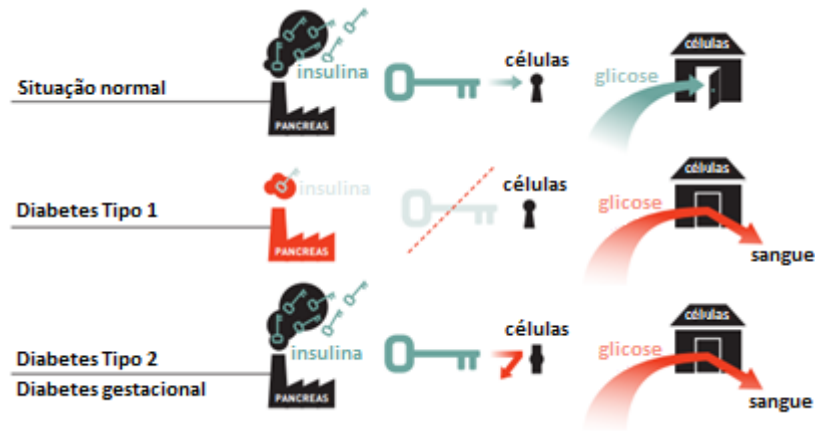
O diabetes é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, resultante de defeitos na secreção de insulina e/ou em sua ação. A hiperglicemia crônica está associada a dano, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

Os três tipos principais de diabetes (diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e diabetes gestacional) ocorrem quando o corpo não consegue produzir o suficiente de insulina ou não consegue utilizá-la de forma eficaz. A insulina é como uma chave que abre as fechaduras das células do corpo, para que a glicose (açúcar no sangue) entre e seja usada para gerar energia (

Figura 14). Ou seja, o hormônio ajuda a glicose a entrar nas células do corpo (INTERNATION DIABETES FEDERATION, 2019).

Nos organismos em condições normais, ou seja, sem o desenvolvimento de diabetes, as células beta do pâncreas secretam quantidade de insulina suficiente para que a glicose entre nas células e seja utilizada como fonte de energia. Com o diabetes tipo 1, ocorre a destruição das células beta do pâncreas e, conseqüentemente, a produção de insulina torna-se insuficiente para que a glicose chegue nas células. Com os diabetes tipo 2 e diabetes gestacional, o organismo, além de não produzir insulina convenientemente também não responde ao hormônio como deveria ("resistência à insulina"), ou seja, trata-se uma entidade heterogênea, caracterizada por distúrbios da ação e secreção da insulina, com predomínio de um ou outro componente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Figura 14: Comparação entre pessoas sem diabetes e com diabetes tipo 1, tipo 2 e gestacional.

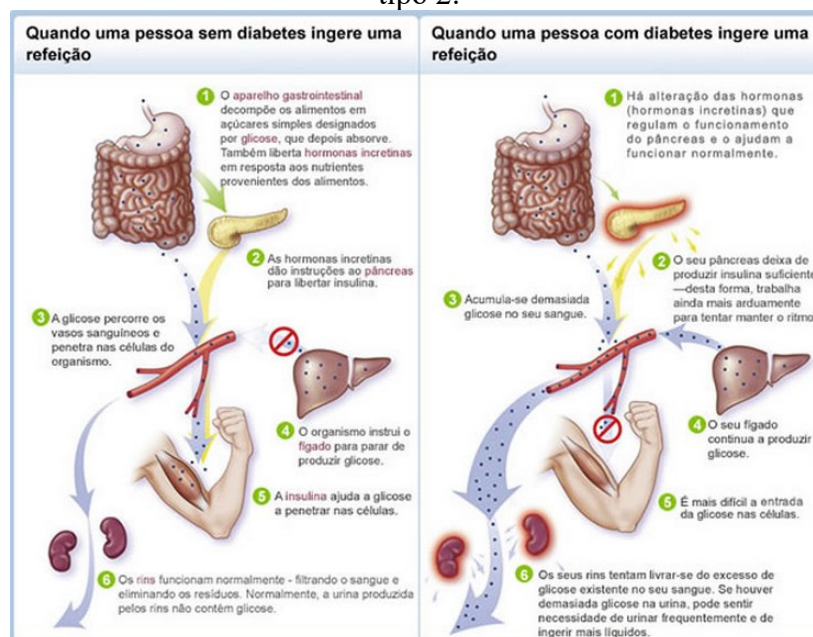


Fonte: Adaptado de International Diabetes Federation (2019).

Assim, em função desta resistência, a glicose não consegue entrar nas células. Sendo assim, níveis elevados de glicose (açúcar) acumulam-se no sangue (glicemia), podendo levar a complicações graves de saúde (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019). A

Figura 15 apresenta a comparação entre a decomposição dos alimentos numa pessoa com e sem diabetes tipo 2.

Figura 15: Comparação entre a decomposição dos alimentos numa pessoa com e sem diabetes tipo 2.



Fonte: MSD (2013).

O diabetes tipo 1 é em geral resultado de um processo autoimune que se apresenta de forma repentina e abrupta, sendo, portanto, de mais fácil percepção e diagnóstico. Pacientes com diabetes tipo 1 precisam de terapia com insulina para sobreviver. O pico de incidência do diabetes tipo 1 ocorre dos 10 aos 14 anos de idade, havendo a seguir uma diminuição progressiva da incidência até os 35 anos, de tal maneira que casos de diabetes tipo 1 de início após esta idade são pouco frequentes. No entanto, indivíduos de qualquer idade podem desenvolver diabetes tipo 1. Em geral, os pacientes apresentam índice de massa corporal normal, mas a presença de obesidade não exclui o diagnóstico (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

O diabetes tipo 2 é mais comum do que o tipo 1, perfazendo cerca de 90-95% dos casos de diabetes. A idade de início do diabetes tipo 2 é variável, embora seja mais frequente após os 40 anos de idade, com pico de incidência ao redor dos 60 anos. Ao contrário do diabetes tipo 1, a maioria dos pacientes com diabetes tipo 2 apresenta obesidade. O diabetes tipo 2 pode passar despercebido e não diagnosticado durante anos e, portanto, nesses casos, as pessoas afetadas não têm conhecimento dos danos a longo prazo causados pela sua doença (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

O diabetes gestacional aparece durante a gravidez e pode levar a sérios riscos de saúde para a mãe e seu bebê, além de aumentar o risco do desenvolvimento de diabetes tipo 2 mais tarde na vida (INTERNATION DIABETES FEDERATION, 2019). O diabetes gestacional é definido como a tolerância diminuída aos carboidratos, de graus variados de intensidade, diagnosticado pela primeira vez durante a gestação, podendo ou não persistir após o parto (THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; INTERNATION DIABETES FEDERATION, 2019). Os fatores de risco associados ao diabetes gestacional são semelhantes aos descritos para o diabetes tipo 2, incluindo, ainda, idade superior a 25 anos, ganho excessivo de peso na gravidez atual, deposição central excessiva de gordura corporal, baixa estatura, crescimento fetal excessivo, polidrâmnio, hipertensão ou pré-eclâmpsia na gravidez atual, antecedentes obstétricos de morte fetal ou neonatal (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

De acordo com o último Atlas do Diabetes, divulgado pela *International Diabetes Federation* (INTERNATION DIABETES FEDERATION, 2019), conforme pode ser observado nos Quadro 2 e Quadro 3, 7,7 % da população mundial estariam acometidos pelo diabetes em 2019, subindo para 9,5% em 2045. A metade dos casos de diabetes (1 em cada 2) são pessoas não diagnosticadas, o que certamente aumenta o risco de complicações graves.

No Brasil, 135.200 pessoas morreram em decorrência da doença em 2019, sendo que 56,5% tinham menos de 60 anos de idade. Os números expressam de forma bem clara que o diabetes é uma condição clínica frequente e que, em alguns casos, apresenta um prognóstico complicado aos pacientes, podendo levar à morte.

Evidências experimentais e clínicas vêm mostrando que o diabetes aumenta o risco de desenvolver insuficiência cardíaca congestiva, mesmo na ausência de doença cardíaca coronária ou de hipertensão (BOUDINA S, 2007). A disfunção do sistema nervoso autônomo (Neuropatia Autonômica Diabética – NAD) é uma das complicações mais comuns e graves do diabetes, podendo também ser o principal mecanismo implicado na patogênese, que leva ao comprometimento da função cardíaca em pacientes com diabetes (HATTORI, HATTORI e SUZUKI, 2015). A disfunção autonômica em diabetes prejudica a tolerância ao exercício físico, reduz a resposta da frequência cardíaca e pressão arterial, e apresenta aumentos no débito cardíaco em resposta ao exercício (VINIK e ZIEGLER, 2007).

A NAD pode envolver o sistema cardiovascular, o sistema digestivo, o sistema urogenital, o sistema exócrino e a motricidade pupilar. O envolvimento autonômico pode ser responsável por sintomas que permanecem não reconhecidos por muito tempo (BISSINGER, 2017; SERHIYENKO e SERHIYENKO, 2018).

Quadro 2: Dados da 9ª Edição do Atlas do Diabetes sobre a situação mundial em relação à doença.

O Diabetes no Mundo	2019	2045
População Adulta Mundial (20-79 anos) (bilhões)	5,0	6,4
Casos de diabetes (milhões)	463	700
Predominância mundial de diabetes (%)	9,3	10,9
Casos não diagnosticados (milhões)	231,9	-
Casos de diabetes em áreas urbanas	310,3	538,8
Despesas de saúde relacionadas ao diabetes (bilhões USD)	760,3	845
Morte devido ao diabetes (milhões)	4,2	-
Número de crianças e adolescentes com diabetes tipo 1 (0-19 anos)	1.110.100	-
Número de novos casos de diabetes tipo 1 a cada ano	128.900	-

Fonte: International Diabetes Federation (2019).

Quadro 3: Dados da 9ª Edição do Atlas do Diabetes sobre a situação do diabetes no Brasil.

O Diabetes no Brasil	2019	2045
Casos de diabetes (20-79) (milhões)	16,8	26
Casos de diabetes não diagnosticados (20-79) (milhões)	7,7	-
Predominância nacional de diabetes (%)	10,4	-
Despesas de saúde relacionadas ao diabetes (bilhões USD)	52,3	-

Fonte: International Diabetes Federation (2019).

Em estudo realizado em Ribeirão Preto, SP (FOSS, EIZIRIK, *et al.*, 1986), uma análise clínica padronizada, mas fundamentada em métodos rotineiros, encontrou neuropatia em 32% dos pacientes do tipo 1 e em 50,9% dos pacientes do tipo 2. Estudando 68 destes pacientes com avaliação neurológica mais sofisticada, com base em métodos eletrofisiológicos, 42 (61,8%) tinham neuropatia clinicamente detectável. Adicionalmente, a análise eletromiográfica destes pacientes foi anormal em todos que apresentavam alteração clínica, e em 17 pacientes dos 26 que não apresentavam alterações ao exame clínico, perfazendo um total de anormalidade de 86,8% (MARTÍNEZ, 1986). Ou seja, parte das anormalidades detectadas ainda estavam em estágio subclínico, sem a presença de sintomas clínicos.

Embora surjam clinicamente em diabéticos com longo período de doença, manifestações subclínicas podem ser detectadas nos cinco primeiros anos em diabéticos tipo 1 e, no diagnóstico ou no primeiro ano em diabéticos tipo 2 (FOSS-FREITAS, JUNIOR e FOSS, 2008).

A neuropatia autonômica cardiovascular (CAN), um subgrupo da NAD, é a complicação mais comum associada ao diabetes e considerada clinicamente uma das mais importantes em função de sua correlação com o aumento da mortalidade (KUEHL e STEVENS, 2012).

Estudos longitudinais de indivíduos com diabetes mellitus têm mostrado taxas de mortalidade em 5 anos entre 16-50%, com uma alta proporção de mortes atribuídas à morte súbita cardíaca. Mesmo nos estágios subclínicos da CAN, a mortalidade é afetada (KUEHL e STEVENS, 2012; FISHER e TAHRANI, 2017). A presença de CAN foi um forte preditor do aumento da mortalidade em um grande e bem caracterizado estudo (> 10.000 participantes) com DM2, independente de outros fatores de risco cardiovascular tradicionais (POP-BUSUI, 2010; ANG, DILLON, *et al.*, 2020). Por utilização de diferentes critérios de diagnóstico para

CAN, o risco relativo de mortalidade associado com a CAN subclínica (≥ 1 teste de função autonômica anormal) tem-se mostrado em torno de 2,14 (IC de 95% 1,83-2,51), ao passo que com mais de dois testes de função autonômica anormais o risco relativo passa para 3,45 (IC de 95%, 2,66-4,47) (MASER, MITCHELL, *et al.*, 2003; VINIK e ZIEGLER, 2007; SERHIYENKO e SERHIYENKO, 2018). Em pacientes com DM1, a NAD foi associada com um aumento de quatro vezes da mortalidade (ORCHARD, LLOYD, *et al.*, 1996; KUEHL e STEVENS, 2012). O aumento da mortalidade observada em pacientes com CAN parece ser independente dos convencionais fatores de risco cardiovascular (ZIEGLER, 2008; BEIJERS e ET AL, 2009; POP-BUSUI, 2010; FISHER e TAHRANI, 2017; ANG, DILLON, *et al.*, 2020).

2.3.1 A Neuropatia Autonômica Cardiovascular (CAN)

O comprometimento das divisões simpática e parassimpática do sistema nervoso autônomo (SNA) pelo Diabetes leva à neuropatia autonômica diabética (NAD), uma condição que pode afetar diferentes sistemas orgânicos, como cardiovascular, gastrointestinal, geniturinário, sudomotor e visual. A neuropatia autonômica cardiovascular (CAN) ocorre quando há um comprometimento do controle autonômico do sistema cardiovascular, após a exclusão de outras causas de disautonomia, (ROLIM, SÁ, *et al.*, 2008; VINIK e ZIEGLER, 2007; FISHER e TAHRANI, 2017; SERHIYENKO e SERHIYENKO, 2018).

A CAN é uma das complicações mais importantes do DM, pois a sua presença está associada com uma piora no prognóstico e na qualidade de vida do paciente (CANANI, COPSTEIN, *et al.*, 2013; BISSINGER, 2017). As seguintes manifestações clínicas estão associadas à CAN: taquicardia de repouso, hipotensão ortostática (HO) grave, síncope, intolerância a exercício físico (por bloqueio das respostas cronotrópica e inotrópica), instabilidade pré-operatória, isquemia e infarto do miocárdio assintomáticos, disfunção diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo (VE) e riscos aumentados de nefropatia, insuficiência renal crônica (IRC), acidente vascular cerebral (AVC) e morte súbita de origem cardíaca (MSC) (ROLIM, SÁ, *et al.*, 2008; SERHIYENKO e SERHIYENKO, 2018).

Apesar do seu potencial impacto negativo na qualidade de vida dos seus portadores, a CAN está entre as complicações menos compreendidas e diagnosticadas, e algumas vezes ignoradas (KUEHL e STEVENS, 2012; BISSINGER, 2017), dos indivíduos com DM (CANANI, COPSTEIN, *et al.*, 2013; ANG, DILLON, *et al.*, 2020).

Conforme um estudo realizado por Fischer e Tahrani (2017), esse tipo de neuropatia pode ser encontrado, de um modo geral, em aproximadamente 17% a 66% dos pacientes com

diabetes melito do tipo 1 (DM1) e entre 31% e 73% daqueles com diabetes melito do tipo 2 (DM2). Essa variação de valores se deve aos diferentes critérios usados para o diagnóstico, às diferentes populações em estudo e aos diferentes fatores de risco da CAN (FISHER e TAHRANI, 2017).

A CAN está associada a um aumento do risco de mortalidade (DIMITROPOULOS, TAHRANI e MARTIN, 2014; BISSINGER, 2017). Isto foi descrito em estudos longitudinais já no início da década de 1990, mostrando um aumento de 50% no risco de 5 anos de mortalidade em pacientes com DM e neuropatia autonômica em comparação com aqueles sem (O'BRIEN, MCFADDEN e CORRALL, 1991; SAMPSON, WILSON, *et al.*, 1990; RATHMANN, ZIEGLER, *et al.*, 1993; NAVARRO, KENNEDY e AEPPLI, 1996; FISHER e TAHRANI, 2017). Em uma meta-análise de 15 estudos com base em que eles incluíram pacientes com DM que tiveram avaliação basal da VFC usando um ou mais testes descritos por Maser *et al.* (2203) mostraram que o risco de mortalidade relativo estimado em conjunto era de 2,14, (95% IC: 1,83-2,51, $p < 0,0001$), para aqueles que tiveram CAN (MASER, MITCHELL, *et al.*, 2003; VINIK, CASELLINI, *et al.*, 2018; SOEDAMAH-MUTHU, CHATURVEDI, *et al.*, 2008; SERHIYENKO e SERHIYENKO, 2018).

A CAN também está associada ao aumento do risco de morte súbita cardíaca. Isto pode ser explicado pelo aumento da taxa de arritmias cardíacas fatais devido ao desequilíbrio entre a função autonômica simpática e parassimpática, bem como a denervação simpática cardíaca (EWING, CAMPBELL e CLARKE, 1980; ZACCARDI, KHAN e LAUKKANEN, 2014; AUNE, SCHLESINGER, *et al.*, 2018). O prolongamento do QT, que tem sido associado à neuropatia autonômica em vários estudos, também pode fornecer um mecanismo alternativo, tornando os pacientes com CAN mais suscetíveis a arritmias cardíacas com risco de vida (ARIF, SHAIKH e MASOOD, 2014; LYKKE, TARNOW, *et al.*, 2008; VINIK, CASELLINI, *et al.*, 2018; POURMOGHADDAS e HEKMATNIA, 2003; KAHN, SISSON e VINIK, 1987; SILVA, 2014; DOBSON, KIM e HAIGNEY, 2013; QUINTEIRO, BIAGETTI, *et al.*, 2014; KHANDOKER, IMAM, *et al.*, 2012; BISSINGER, 2017).

O tempo de duração do diabetes tem sido descrito como variável importante no estudo da CAN. O Quadro 4 apresenta os resultados de um estudo realizado numa cidade do estado de Minas Gerais, no Brasil, o qual contou com 1.320 pessoas com diabetes mellitus, registradas no programa de Saúde da Família do município. A média de idade dos voluntários foi de $58 \pm 13,4$ anos, sendo 61,4% de mulheres e 38,6% de homens (CORTEZ, REIS, *et al.*, 2015).

Levando em conta os resultados que evidenciam o crescimento de complicações relacionadas ao diabetes a medida que o tempo de diagnóstico aumenta, principalmente

avaliando-se a quantidade dessas complicações em indivíduos com menos de 5 anos de diagnóstico e os com mais de 10 anos, concluiu-se que o tempo de duração da doença é fator determinante nas condições de saúde dos pacientes. Quanto mais o tempo de doença passa maior a chance de complicações decorrentes da mesma, sendo, portanto, fundamental o acompanhamento contínuo dos pacientes diabéticos de forma a facilitar um possível diagnóstico de complicações graves como a CAN, bem como auxiliar numa classificação de estágios da CAN (CORTEZ, REIS, *et al.*, 2015).

A CAN pode ser subdividida em subclínica, SCAN, (em que predominam alterações funcionais e reversíveis) e clínica ou estabelecida, ECAN, (quando já há alterações neuronais estruturais). A primeira somente é diagnosticada por meio de testes e pode ocorrer já a partir do diagnóstico de determinados tipos de DM ou logo nos primeiros anos da doença; a segunda forma, como o próprio nome indica, é sintomática e ocorre em estágios mais avançados da doença (ZIEGLER, 1999; VINIK, CASELLINI, *et al.*, 2018).

Quadro 4: Distribuição de pessoas com diabetes mellitus de acordo com o tempo da doença, usando insulina e o início de complicações.

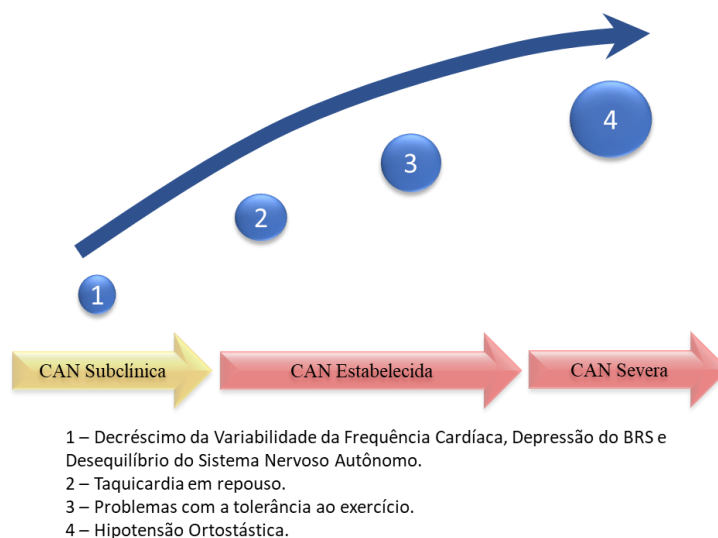
Variáveis	Tempo de Diagnóstico		
	< 5 anos	≥ 5 e ≤ 10 anos	> 10 anos
Quantidade – n (%)	372 (28,2)	464 (35,2)	484 (36,6)
Pessoas que tiveram alguma complicação – n (%)	45 (12,1)	66 (14,2)	156 (32,2)
Pessoas que usam insulina – n (%)	347 (26,3)		

Fonte: Adaptado de CORTEZ *et al.*, 2015.

Com o desenvolvimento de neuropatia, o diabetes mellitus atinge os neurônios autonômicos cardíacos de forma crescente, com alterações patológicas inicialmente mais evidentes nas fibras nervosas mais longas. O mais longo nervo autonômico é o nervo vago, responsável por ~ 75% de toda a atividade parassimpática. O efeito inicial da CAN é, portanto, caracterizado por uma denervação parassimpática predominante, com um aumento compensatório resultante do tônus simpático. Ao longo do tempo, ocorre também a denervação simpática, observada pela primeira vez distalmente no ápice e logo após espalhando-se à base do coração (POP-BUSUI, 2004; TASKIRAN e ET AL., 2004; LOZANO e ENA, 2017). Assim, como mostrado na Figura 16, os primeiros sinais subclínicos detectáveis de CAN são a diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (HRV) e efeitos barorreflexos (BRS) anormais, os quais já podem estar presentes no momento do diagnóstico do diabetes mellitus.

Em função das denervação parassimpática, a arritmia sinusal respiratória fica nitidamente diminuída em indivíduos diabéticos (POP-BUSUI, 2010; LOZANO e ENA, 2017). Clinicamente, a denervação simpática correlaciona-se com o desenvolvimento de taquicardia em repouso e comprometimento da tolerância ao exercício. A presença de hipotensão ortostática geralmente indica a presença de CAN em estado avançado ou grave (KUEHL e STEVENS, 2012; FISHER e TAHRANI, 2017).

Figura 16: Estágios da Neuropatia Autonômica Cardiovascular – CAN.



Fonte: Adaptado de Kuehl e Stevens (2012) e Fisher e Tahrani (2017).

Dessa forma, pode-se observar, em linhas gerais, que a medida que a CAN avança, a mesma torna-se sintomática e que, enquanto assintomática, em virtude de o nervo vago usualmente ser o primeiro a ser afetado, pode-se identificar uma predominância simpática nos pacientes. No entanto, a detecção desta característica está inicialmente limitada a anormalidades barorreceptoras e alterações na variabilidade da frequência cardíaca (FISHER e TAHRANI, 2017).

Apesar de sua alta prevalência em indivíduos com diabetes mellitus (DM), as neuropatias são a complicação crônica diabética mais subdiagnosticada e subtratada (VINIK e ZIEGLER, 2007).

As manifestações clínicas da CAN são pleomórficas e aparecem tardiamente e, isoladamente, não apresentam sensibilidade e especificidade suficientes para o diagnóstico, exigindo o uso de testes autonômicos objetivos. Assim, a detecção da CAN em um paciente diabético requer testes sensíveis e específicos para estabelecer o diagnóstico diferencial e quantificar a gravidade da disautonomia. Especificamente, a presença de sintomas ou sinais sugestivos de alterações autonômicas - como disfunção erétil, tontura, deficiência visual

intermitente, hipotensão pós-prandial, taquicardia de repouso ou intolerância ao exercício (dispneia) em pessoas com DM - deve ser investigada e confirmada por meio de testes diagnósticos específicos para CAN (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011; BISSINGER, 2017).

O Subcomitê de CAN do mais recente Consenso de Toronto sobre Neuropatia Diabética estabeleceu quatro razões pelas quais o diagnóstico de CAN é relevante para a prática clínica (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011): a) Para diagnosticar e classificar as diferentes formas clínicas de CAN: inicial, definida e avançada ou grave; b) Para estratificar o grau de risco cardiovascular e o risco de outras complicações diabéticas; c) Para o diagnóstico diferencial das manifestações clínicas e seu respectivo tratamento; d) Adaptar o controle glicêmico de cada paciente, por exemplo, aqueles com estágios iniciais de CAN devem ter um controle glicêmico mais intensivo, enquanto pacientes com CAN grave devem ter um controle glicêmico menos agressivo, devido ao risco de hipoglicemia assintomática.

Diante, portanto, da importância da detecção da CAN, o próximo capítulo tem o objetivo de apresentar o que se tem utilizado hoje para esse fim, tentando direcionar para uma análise da interação entre os sinais fisiológicos que possam refletir as condições do Sistema Nervoso Autônomo.

3 ALGUNS MÉTODOS DE ANÁLISE DO SISTEMA CARDIOVASCULAR PARA DIAGNÓSTICO DA CAN

A CAN tem sido tradicionalmente diagnosticada por testes que possibilitem a avaliação da função autonômica cardiovascular, tais como, testes de avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), os quais medem e analisam as diferenças de tempo existentes entre os batimentos cardíacos – intervalos RR (CANANI, COPSTEIN, *et al.*, 2013; VINIK, CASELLINI, *et al.*, 2018).

O mais recente Consenso de Toronto concluiu que atualmente os cinco métodos mais sensíveis e específicos para avaliar a presença de CAN são (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011):

a) Estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) usando a razão dos intervalos RR do eletrocardiograma (ECG): A variabilidade da frequência cardíaca (FC) é reconhecida como um sinal caótico com constituintes ocultos. A VFC pode ser definida como uma oscilação dos intervalos RR entre cada batimento cardíaco que ocorre como resultado das atividades simpáticas e parassimpáticas do SNA no nó sinusal. A hipótese é a de que a redução da VFC reflete a supressão da modulação vagal e da dominância simpática, resultando em maior mortalidade e arritmia (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996; ANDERSEN, WITTE, *et al.*, 2018; METELKA, CIBIČKOVÁ, *et al.*, 2018; MOȕăȕăIANU, MAIER, *et al.*, 2018; SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011).

b) Sensibilidade barorreflexa (BRS): A sensibilidade do barorreflexo é uma técnica usada para avaliar a função barorreflexa cardíaca, combinando informações da FC e da pressão arterial (PA). Teoricamente, esta técnica avalia as duas seções aferentes do SNA cardiovascular: simpático (vasoconstrição arterial) e vagal (bradicardia ou taquicardia) em resposta a alterações induzidas na PA. Na prática, no entanto, apenas a parte cardiorrespiratória acaba sendo analisada devido a dificuldades técnicas na avaliação do tônus simpático arteriolar. Essa metodologia tem sido estudada na expectativa de prover índice significativo na detecção da CAN e seus estágios (TANK, BAEVSKI, *et al.*, 2000; KARDOS, WATTERICH, *et al.*, 2001; SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011; BÖNHOF, STROM, *et al.*, 2018)

c) Atividade nervosa simpática muscular (ANSM): A atividade nervosa simpática muscular é um método invasivo para avaliar diretamente a condução do sistema nervoso simpático periférico através da microneurografia. Rotineiramente, não é recomendado para o diagnóstico de CAN (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011).

d) Medição dos níveis plasmáticos de catecolaminas (PLC): A avaliação do PLC (adrenalina, noradrenalina e seus metabólitos) não tem se mostrado útil para o estadiamento ou diagnóstico da CAN, embora o PLC tenha um papel marcante no diagnóstico diferencial de outras patologias endócrinas, como feocromocitoma e insuficiência adrenal medular (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011).

e) Mapeamento simpático cardíaco (CSM): As técnicas de imagem simpática cardíaca (PET e SPECT) avaliam diretamente a inervação simpática através da cintilografia ou MSC, utilizando catecolaminas radioativamente marcadas ativamente por terminais nervosos simpáticos. Devido ao seu alto custo, falta de valores de referência e de metodologia padronizada, bem como sua suscetibilidade à interferência da isquemia (pois o resultado depende diretamente da perfusão miocárdica), essas técnicas não são recomendadas para o diagnóstico rotineiro da CAN e atualmente permanecem restritas à pesquisa (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011).

Sendo assim, dos cinco métodos indicados pelo Consenso de Toronto, os dois primeiros são os que têm sido mais utilizados, principalmente pela maior facilidade de estabelecer numa rotina clínica de forma não invasiva.

A seguir segue a descrição de algumas análises baseadas principalmente nos dois referidos métodos, ou seja, análises que usam como base o estudo da variabilidade da frequência cardíaca, bem como do eletrocardiograma como um todo, e o estudo da sensibilidade barorreflexa.

3.1 TESTES DE EWING

Ewing *et al.* (EWING, CAMPBELL e CLARKE, 1980) propuseram, ainda nos anos 70, testes não invasivos para medir a função autonômica cardíaca com base na observação do comportamento da PA e da FC a diferentes estímulos (manobras fisiológicas) como a respiração e as mudanças posturais. Tais testes são até hoje utilizados e foram considerados padrão ouro neste trabalho. Esses testes incluem:

- **Razão da Frequência Cardíaca na Respiração Profunda:** É realizada com pacientes em decúbito dorsal. Executam-se seis inspirações e expirações profundas enquanto um monitor cardíaco registra a diferença entre a variação máxima e a mínima da FC. As medidas de variabilidade da FC podem ser avaliadas pelo cálculo de índices com base em operações estatísticas (diferenças entre as médias

dos intervalos RR normais, desvio-padrão dos intervalos RR normais, coeficiente de variação, diferença entre a máxima e a mínima FC) e pela razão das duas frequências.

- Resposta da Frequência Cardíaca a Mudança de Decúbito: Em indivíduos saudáveis observa-se um característico e rápido aumento na FC com a ortostase, principalmente por volta do 15º batimento seguido de uma desaceleração, que é máxima por volta do 30º batimento, porém em pacientes diabéticos observa-se somente um aumento gradual da FC. O resultado do teste é obtido pela razão do maior intervalo RR (entre o 20º e o 40º batimentos) e o menor (entre o quinto e os 25º batimentos).
- Manobra de Valsalva: Corresponde a uma expiração ativa de 40 mmHg por 15 segundos com monitorização cardíaca contínua. Em indivíduos saudáveis ocorre taquicardia e vasoconstrição periférica durante o esforço e um rebote de bradicardia e queda na pressão arterial. A resposta é avaliada pela relação entre a FC máxima durante a fase ativa e a mínima ao soltar a expiração. A manobra de Valsalva não é aconselhável na presença de risco aumentado de hemorragia retiniana e retinopatia proliferativa.
- Hipotensão Postural (OH): A pressão arterial é medida com o paciente em decúbito dorsal e após ficar em decúbito ortostático por 2 a 5 minutos. Quedas maiores que 20 mmHg na pressão sistólica e 10 mmHg na pressão diastólica, acompanhadas de sintomas de hipotensão, são consideradas evidência de falência do sistema nervoso simpático.

Os dois primeiros testes refletem falhas na atividade parassimpática (isto é, a capacidade do nervo vago de desacelerar a FC durante os procedimentos, o que aumenta o intervalo RR e, portanto, aumenta as razões), enquanto os dois últimos descrevem mudanças na função simpática (isto é, a capacidade de fornecer resposta adequada da PA e FC à atividade envolvida). As mudanças autonômicas que ocorrem durante a manobra de Valsalva são complexas e envolvem os sistemas simpático e, principalmente, parassimpático.

Embora os CARTs (Teste de Reflexo Autonômico Cardiovascular) descritos acima tenham sido amplamente utilizados desde a sua introdução, não há evidências sobre a superioridade de um teste em relação a outro quando se trata de avaliar a CAN. No entanto, a resposta da FC à respiração profunda é a mais comumente utilizada, devido à sua alta reprodutibilidade e especificidade e sua facilidade de uso. Todos os testes são considerados

marcadores válidos de disfunção autonômica, uma vez que a falência do órgão final é excluída e parâmetros como doença concomitante, uso de medicamentos de venda livre e fatores de estilo de vida (exercício, fumo, exercício) são levados em consideração.

Em 1996, uma força-tarefa dirigida pela Sociedade Europeia de Cardiologia e pela Sociedade Americana de Eletrofisiologia propôs a padronização de parâmetros e o uso clínico de testes autonômicos para o diagnóstico da CAN, especificamente no DM (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996). As diretrizes propostas atenderam aos objetivos, porém, enfatizaram medidas e técnicas computacionais em detrimento das interpretações fisiológicas da VFC. Além disso, valores consistentes para medidas normais da VFC em diferentes populações e por faixa etária e sexo não foram definidos (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996; KAREMAKER, 1997).

O progresso tecnológico, através da informatização de alto nível, permitiu uma ampla aplicação de métodos para estudar o SNA através da análise da VFC. Nestes métodos, os sinais biológicos do SNA são obtidos indiretamente e podem ser afetados por fatores não relacionados à atividade do SNA, levando a resultados potencialmente inadequados ou confusos. Diversos fatores podem alterar seus resultados, como idade, sexo, posição corporal, hora do dia, estado físico prévio, atividade, nutrição, PA, FC, frequência respiratória basal, ingestão de café, uso de cigarro, estresse mental, hiperglicemia e hipoglicemia e insulinemia. A hiperinsulinemia parece estar relacionada ao aumento da noradrenalina plasmática e à diminuição do controle parassimpático da FC causada pela própria insulina (SIMA, 2000). Além disso, a insulina afeta o tônus dos vasos sanguíneos e pode induzir vasodilatação e hipotensão. Além dos fatores acima mencionados que podem influenciar o resultado dos testes autonômicos, é crucial reforçar que o sinal biológico (VFC) deve ser obtido pelo ECG (intervalos RR), e que uma única extrassístole não reconhecida pode distorcer todos os resultados do teste (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996; KAREMAKER, 1997).

Recomenda-se a adoção de técnicas padronizadas na aplicação e interpretação de testes autonômicos de acordo com a fisiopatologia e os fatores de confusão presentes nos exames cardiovasculares. Nesse sentido, o Consenso Internacional de Toronto (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011) defende o uso de um conjunto de medidas de VFC para além dos quatro testes de reflexos atualmente considerados padrão-ouro. Por exemplo, adicionando três testes de análise no domínio do tempo e da frequência (análise espectral) aos CARTs (quatro testes), totalizando sete testes. No mesmo Consenso foram definidos critérios para a definição e severidade da CAN (DIMITROPOULOS, TAHRANI e MARTIN, 2014; SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011). Para o diagnóstico precoce da CAN, apenas um resultado anormal (entre os 7 testes) é suficiente; CAN definitiva deve ser confirmada por 2 ou 3 testes anormais

e a CAN grave pode ser indicada pelo desenvolvimento de hipotensão (SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011; BALCIÖĞLU e MÜDERRISOĞLU, 2015).

3.2 VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) é o termo usado para descrever a variação instantânea da frequência cardíaca, ou seja, a variabilidade dos intervalos de tempo que decorrem entre batimentos cardíacos, no ECG identificados pelas ondas R (intervalo RR). A VFC vem sendo utilizada como um método técnico investigativo simples e não invasivo direcionado à detecção de disfunções patológicas e psicopatológicas ligadas ao sistema nervoso autônomo, tais como o diabetes (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996; SPALLONE, ZIEGLER, *et al.*, 2011; ANDERSEN, WITTE, *et al.*, 2018; METELKA, CIBIČKOVÁ, *et al.*, 2018; MOȚĂȚĂIANU, MAIER, *et al.*, 2018).

A VFC reflete a atividade do SNA a partir da modulação simpática e parassimpática proveniente do nodo sinoatrial do coração. Em um coração livre de patologias, com um SNA normal, existem variações fisiológicas geradas a partir dos ciclos cardíacos que refletem o equilíbrio simpatovagal resultando em um sinal de VFC normal. Entretanto, em um coração que sofre de alguma cardiopatia haverá mudanças no controle da regulação neural que contribuirão para o desequilíbrio simpatovagal que implicam na diminuição da VFC (FAUST, ACHARYA, *et al.*, 2012).

A Figura 17 exemplifica um sinal de RR (VFC) de um paciente normal (sem diabetes) e de um paciente diabético, no qual é perceptível a diminuição da variação dos intervalos de tempo entre os batimentos cardíacos.

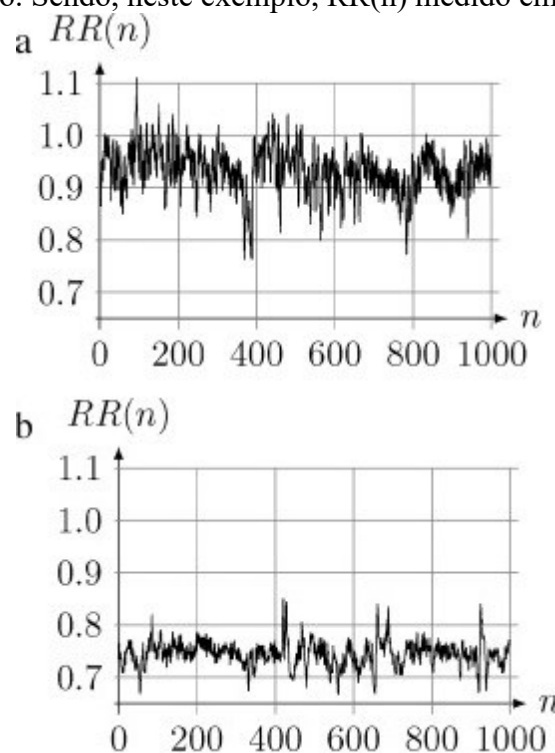
Dessa forma, esta tecnologia permite a quantificação da influência relativa dos sistemas simpático e parassimpático sobre o nodo sinoatrial e, em comparação com testes autonômicos cardiovasculares convencionais, tem uma maior sensibilidade para detectar anormalidades autonômicas.

A VFC é geralmente analisada no domínio do tempo e no domínio da frequência (análise espectral – AEP). Índices no domínio do tempo avaliam a dispersão dos intervalos RR em torno da média, e refletem a modulação autonômica global no nodo sinoatrial. AEP avalia a variância dos intervalos RR como uma função da frequência dividida em três componentes principais: muito baixa frequência (VLF; sem participação claramente definida na VFC), baixa frequência (LF; modulação principalmente simpática), e alta frequência (HF, modulação parassimpática). A AEP da VFC tem sido considerada uma ferramenta útil na avaliação da

função do sistema nervoso autônomo em pacientes com diabetes (CANANI, COPSTEIN, *et al.*, 2013).

Em 1996, a *Task Force of ESC and NASPE* (1996) definiu e estabeleceu medidas padronizadas tanto para a interpretação fisiológica quanto para o uso clínico da HRV. Assim, índices no domínio do tempo e da frequência, medidas geométricas, além da crescente utilização de medidas não lineares constituem os parâmetros clínicos atuais de análise da HRV (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996).

Figura 17: Gráfico de RR (VFC) de (a) um paciente normal (sem diabetes) e (b) um paciente diabético. Sendo, neste exemplo, RR(n) medido em segundos.



Fonte: FAUST *et al.* (2012).

A análise temporal propõe o cálculo estatístico de índices temporais obtidos a partir de intervalos de ECG de curta duração, ou seja, períodos de até cinco minutos de duração, tais como:

- Desvio padrão de todos os intervalos RR (SDNN): é a raiz quadrada da variância de sucessivos intervalos RR. O SDNN reflete todos os componentes cíclicos responsáveis pela variabilidade e é utilizado com um marcador global da HRV que abrange as influências simpáticas e parassimpáticas (valor médio normal > 140 ms).

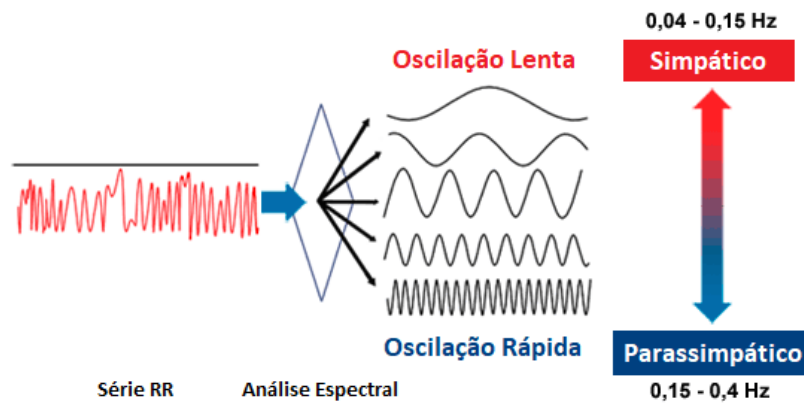
- pNN50: é a porcentagem da quantidade de intervalos RR consecutivos que diferem em mais que 50 ms.
- Raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre intervalos RR (RMSSD): é usado para quantificar o efeito dos componentes sobre a HRV. Corresponde principalmente à atividade simpática (valor normal médio > 27 ms).

A análise espectral (domínio da frequência) utiliza um algoritmo matemático (autorregressão ou transformada rápida de Fourier) para transformar a VFC - um sinal biológico complexo - em seus componentes causais, apresentando-os de acordo com a frequência com que alteram o RR (VINIK, CASELLINI, *et al.*, 2018; FAUST, ACHARYA, *et al.*, 2012; GORSOLKE, GORSOLKE, *et al.*, 2018). O resultado (amplitude espectral) é apresentado num gráfico que consiste em Amplitude (eixo Y) versus Frequência (eixo X). A amplitude espectral não reflete apenas a magnitude da VFC (eixo Y), mas também as oscilações em diferentes frequências, ou seja, o número de flutuações de FC por segundo (eixo X). Foi demonstrado que a amplitude espectral total (potência total ou TP) da VFC consiste em três bandas de frequência principais:

- Componente de muito baixa frequência ou VLF (de 0,01 a 0,04 Hz): este componente está relacionado às flutuações no tônus vasomotor associadas à termorregulação e sudorese (controle simpático);
- Componente de baixa frequência ou LF (de 0,04 a 0,15 Hz): este componente está relacionado ao barorreflexo (controle simpático com modulação vagal);
- Componente de alta frequência ou HF (de 0,15 a 0,4 Hz): este componente está intrinsecamente ligado ao ritmo da frequência respiratória (0,18 – 0,4 Hz) que ocorre devido às mudanças de pressão intratorácicas e as variações mecânicas causadas pela atividade respiratória., que estão sob controle parassimpático.

A Figura 18 apresenta a exemplificação do procedimento da FFT (*Fast Fourier Transform*), um dos métodos para se obter o espectro de potência (decomposição em suas componentes de frequência) do sinal RR e possibilitar a análise espectral.

Figura 18: Procedimento geral utilizado pelo método de FFT (*Fast Fourier Transform*) para a decomposição do sinal RR em suas faixas de frequência e consequente geração do gráfico de espectro de potência do mesmo.

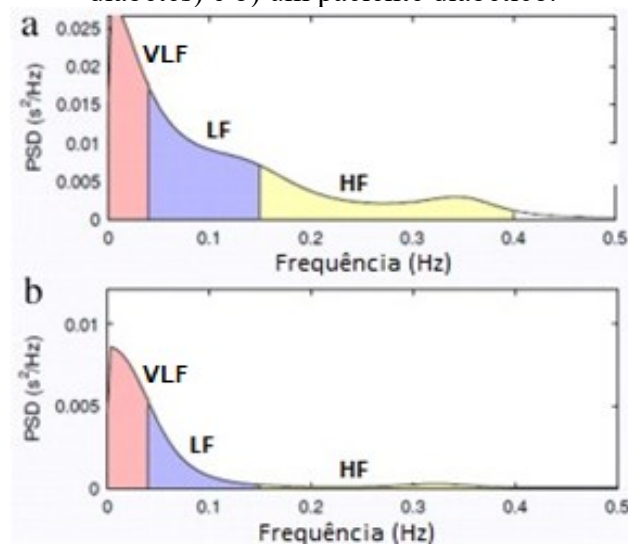


Fonte: GORSOLKE *et al.* (2018).

A Figura 19 apresenta o espectro de potência de RR de um paciente sem diabetes e o espectro de potência de um paciente com diabetes. No espectro de potência do paciente com diabetes já perceptível a redução de área (potência) da componente de alta frequência, como já esperado de acordo com os capítulos anteriores.

Usualmente quantifica-se VLF, LF e HF em valores absolutos de potência (ms^2 ou s^2), mas LF e HF podem ser mensurados em unidade normalizada. A normalização dessas medidas tende a minimizar as variações dos intervalos LF e HF na potência total.

Figura 19: Gráfico de espectro de potência (análise espectral) de a) um paciente normal (sem diabetes) e b) um paciente diabético.



VLF: faixa de muito baixa frequência (abaixo de 0,04 Hz), LF: faixa de baixa frequência (0,04 a 0,15 Hz) e HF: faixa de alta frequência (0,15 a 0,4 Hz).

Fonte: FAUST *et al.* (2012).

A relação entre baixas e altas frequências (LF/HF) é calculada para se obter uma medida que relacione as atividades simpática e parassimpática. O valor médio normal dessa relação está em torno de $LF/HF < 1.5$. Qualquer valor de LF/HF mais alto que o normal é associado com ativação simpática. Para diabéticos com CAN este índice tende a ser bastante útil, principalmente no início da doença, quando a componente de alta frequência costuma reduzir significativamente.

Lin et al. (2017) sugere a faixa de anormalidade para alguns índices (os mais comumente utilizados) do domínio do tempo e da frequência, conforme Quadro 5, na expectativa de detecção da CAN.

Dada a complexidade do Sistema Cardiovascular, já que o coração, sob condições normais, trabalha de forma não periódica, torna-se apropriado assumir que mecanismos não lineares podem estar envolvidos na geração da VFC.

Dessa forma, métodos de análise não linear têm sido utilizados para analisar a estrutura complexa dos sinais de VFC para extrair características de relevância clínica e fisiológica.

Quadro 5: Faixas de anormalidade para índices de Variabilidade da Frequência Cardíaca nos domínios do tempo e da frequência, para a detecção de CAN Estabelecida em Diabéticos.

Domínio	Índice	Faixa de Anormalidade
Tempo	SDNN	< 50 ms
Tempo	SDANN	< 40 ms
Tempo	RMSSD	< 15 ms
Tempo	PNN50	< 0,75 %
Frequência	LF	< 300 ms ²
Frequência	HF	< 300 ms ²
Frequência	LF/HF	> 1,5

Fonte: KUN *et al.* (2017).

Alguns dos métodos não lineares utilizados que têm tido resultados positivos na avaliação de pacientes diabéticos são: Mapa de Retorno (Poincaré Plot), CZF, Entropia Aproximada e Entropia Amostral.

3.2.1.1 Mapa de Retorno

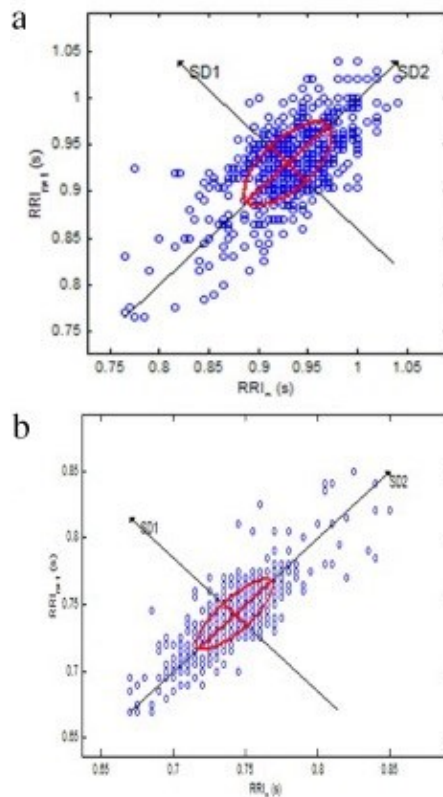
O mapa de retorno dos intervalos RR é uma ferramenta gráfica de análise não-linear, que possibilita análise visual e quantitativa. Representa a relação entre um ponto da série temporal (RR_n) no eixo x, e o ponto seguinte (RR_{n+1}) no eixo y.

Existem vários parâmetros que podem ser utilizados para quantificar os mapas gerados pela VFC em duas dimensões. No entanto, a maioria deles, exige uma grande quantidade de dados, ou seja, horas de registro do sinal eletrocardiográfico. Um dos métodos considerados eficientes para análise de mapas de retorno (KUO et al., 2003) com curtos períodos de registro de sinal, é o método por meio da análise de regressão linear, o qual produz uma linha de regressão $RR_{n+1} = \alpha + \beta RR_n$. Os coeficientes, angular (β), linear (α) e o coeficiente de correlação de *Pearson* (ρ), quantificam o mapa de retorno. Sendo que, um maior ρ implica numa maior linearidade na dinâmica da FC, enquanto que um menor ρ implica no oposto.

Outra forma de quantificar o mapa de retorno é através do cálculo dos índices SD2 e SD1, que são, respectivamente, o desvio padrão da distância de RR_n à reta $y = x$ e $y = -x + 2 * \overline{RR}$, sendo que \overline{RR} é a média de todos os intervalos RR. Tem sido demonstrado que SD1 está correlacionado com a variabilidade de curto prazo da frequência cardíaca e é influenciado principalmente pela modulação parassimpática, enquanto SD2 é uma medida da variabilidade de longo prazo e reflete a ativação simpática. O SD1 menor em indivíduos diabéticos indica que a regulação parassimpática está enfraquecida pela doença, presumivelmente por neuropatia autonômica, enquanto que um SD2 maior em pacientes diabéticos indica aumento da variabilidade de longo prazo devido ao input compensatório simpático (FAUST, ACHARYA, et al., 2012; ROY e GHATAKI, 2013).

A Figura 20 apresenta o mapa de retorno de um paciente sem diabetes e de um paciente diabético.

Figura 20: Mapa de retorno de (a) um paciente sem diabetes e (b) de uma paciente diabético. Para o paciente sem diabetes obteve-se um valor de $SD1 = 26,2$ ms e de $SD2 = 58,6$ ms. Para o paciente diabético os valores foram $SD1 = 11,6$ ms e $SD2 = 35,9$.



Fonte: FAUST *et al.* (2012).

3.2.1.2 Entropia

O termo entropia comumente se refere a uma medida associada à quanto um sistema pode estar em desordem. Estimativas de taxas de entropia nos dão uma ideia da complexidade dos sistemas. Sistemas com uma taxa de entropia baixa são sistemas com baixo nível de complexidade, ou alto nível de regularidade. Em contrapartida, uma medida alta de taxa de entropia significa que o sistema é altamente complexo, ou irregular. Por vezes, uma mudança em uma condição sistema, pode levá-lo de um estado de alta complexidade, ou imprevisibilidade (um estado caótico) para um estado de baixa complexidade, mais previsível, ou regular (não caótico) (NAKAZATO, MURTA, *et al.*, 2012).

A entropia aproximada (ApEn) e a entropia amostral (SampEn) são medidas usadas para quantificar a complexidade e a previsibilidade de um sistema, podendo assim quantificar a regularidade dos intervalos RR num sinal de VFC. Um número positivo é atribuído a uma série temporal mais irregular e um número menor indica que a série temporal é mais regular e previsível. Dessa forma, utilizando a ApEn ou a SampEn num sinal de VFC, buscar-se-ia

comprovar a hipótese de que valores decrescentes de entropia indicam alguma perturbação dos complexos mecanismos fisiológicos ou algum tipo de doença (PINCOS, 1991; RICHMAN e MOORMAN, 2000; FAUST, ACHARYA, *et al.*, 2012).

3.2.1.3 CZF (*Conte-Zbilut-Federici*)

O método de análise denominado CZF tenta reduzir uma das limitações da FFT na transformação dos dados de RR do domínio do tempo para o domínio da frequência. Tal limitação refere-se à pressuposição de uma periodicidade subjacente no sinal de RR, apesar do sinal da frequência cardíaca ser um sinal não-estacionário.

O conceito de Variabilidade pode ser visto como o exato contraposto conceitual do conceito de Recorrência. Dada uma série temporal de N intervalos RR, os pontos com a maior recorrência trarão correspondentemente a menor variabilidade. Por outro lado, os pontos que apresentam a menor recorrência corresponderão à máxima variabilidade.

Analisar a Recorrência num sinal significa identificar a variabilidade dependente de ordem no sinal, enquanto analisar a Variabilidade, por si só, isto é, desvio padrão dos intervalos RR, é totalmente independente da ordem. Duas séries quaisquer podem apresentar diferentes comportamentos em relação a recorrências, porém, como um todo, apresentarem o mesmo desvio-padrão, o que as classificaria com a mesma variabilidade. Por exemplo: série A: 1, 2, 3, 1, 2, 3, 1, 2, 3 e uma série B: 3, 2, 1, 2, 2, 1, 3, 3, 1. Ambas possuem desvio-padrão igual a 1, no entanto, a primeira apresenta um comportamento altamente recorrente no tempo e a segunda é totalmente aleatória. Se medirmos a recorrência de A tomando uma dimensão de incorporação de três (ou seja, considerando elementos atômicos compostos de três valores consecutivos, obtemos uma Recorrência = 100%, enquanto a segunda não mostra nenhuma Recorrência).

A identificação destes possíveis ciclos aos quais o sistema cardiovascular pode estar exposto pelo controle do SNA, não é possível nem com a análise de variabilidade tradicional, nem com a utilização da FFT. A única análise dependente de ordem comumente usada com os sinais de RR é o Mapa de Retorno (*Poincaré Plot*), o qual limita-se a consideração de dois elementos consecutivos, ou seja, dois batimentos cardíacos adjacentes (CONTE, PIERALICE, *et al.*, 2012; BOND JR, CURRY, *et al.*, 2016).

O método CZF baseia-se em duas etapas. A primeira é a construção do Variograma, que nada mais é do que a obtenção da variabilidade do sinal de RR dependente de ordem. Ou seja, calcular a variabilidade para cada par de ondas R, primeiramente adjacentes ($R - R_{i+1}$), no próximo passo estabelecendo um lag (atraso) igual a 2 ($R - R_{i+2}$), e seguir essa metodologia até

que lag seja igual a N-3. Desta maneira reconstrói-se a variabilidade que é induzida a partir do SNA a partir de valores RR adjacentes e avançando, passo a passo, cada vez que um desvio é dado por um *lag*, podendo construir assim um gráfico no qual têm-se na abscissa os valores dos *lags* considerados, e no eixo das ordenadas o valor do marcador do SNA, ou seja, os valores da variabilidade total calculada na correspondência de cada *lag* (CONTE, PIERALICE, *et al.*, 2012; BOND JR, CURRY, *et al.*, 2016).

A segunda etapa é passar esse variograma para o domínio da frequência por meio de uma transformação adequada, o que é feito de forma bem semelhante ao realizado pela FFT. Na abscissa têm-se os valores das frequências. Na ordenada têm-se os verdadeiros valores da variabilidade e não o PSD. Também no caso do método CZF, consideram-se, como na FFT, três bandas básicas de frequência, o VLF, o LF e o HF. Desta forma, é possível obter os mesmos índices padrão, tais como LF/HF; percentuais de VLF, LF, HF; valores de VLF, LF e HF em nu e ainda o valor das razões VLF/(LF+HF) ou LF/(LF+HF) ou HF/(LF+HF) (CONTE, PIERALICE, *et al.*, 2012; BOND JR, CURRY, *et al.*, 2016).

Em resumo, acredita-se que a grande diferença entre os métodos CZF e FFT seja que, no caso da FFT, expressa-se o poder da modulação e, no caso do método CZF, estima-se a variabilidade (CONTE, PIERALICE, *et al.*, 2012; BOND JR, CURRY, *et al.*, 2016).

3.3 VARIABILIDADE DO INTERVALO QT

O intervalo QT é um parâmetro eletrocardiográfico que representa a duração total da atividade elétrica ventricular, ou seja, a duração dos processos de (a) despolarização e (b) repolarização ventricular. Levando em consideração o fato de que (b) é muito mais prolongado que (a), e que as variações da despolarização são pequenas, assume-se que as medidas do intervalo QT refletem mudanças na repolarização ventricular (QUINTEIRO, BIAGETTI, *et al.*, 2014; IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2015). A duração do intervalo QT varia inversamente com a FC. Diversos autores propuseram fórmulas para ajustar este intervalo à FC, obtendo-se assim um valor do intervalo QT corrigido, sendo a mais conhecida e utilizada a fórmula de Bazett (BAZETT, 1920), na qual $QT_c = QT/(RR)^{1/2}$ (BERGER, KASPER, *et al.*, 1997; PORTA, TOBALDINI, *et al.*, 2010; POP BUSUI e AL, 2013).

Segundo as recomendações da *American Heart Association/American College of Cardiology Foundation/Heart Rhythm Society*, o valor normal do intervalo QT corrigido é menor ou igual a 0,45 s. Em mulheres, após a puberdade, intervalos de até 0,46 s são considerados normais, sugerindo um papel hormonal na modulação da repolarização ventricular

(RAUTAHARJU, SURAWICZ, *et al.*, 2009). O aumento do intervalo QT pode ser devido tanto a agentes externos quanto a alterações geneticamente determinadas por mutações em canais iônicos cardíacos. Chamamos respectivamente de adquirido ou congênito a estes dois tipos de síndrome do QT longo (SILVA, 2014).

Os potenciais de ação cardíacos são determinados por correntes iônicas geradas por fluxos de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ e Cl através de canais iônicos que de uma forma indireta e exponenciada são registados como atividade elétrica no ECG. Assim, alterações nos canais iônicos ou proteínas reguladoras podem modificar os tempos de despolarização e repolarização dos ventrículos que são identificáveis na medição do intervalo QT no ECG. A interpretação da duração do intervalo QT nem sempre é fácil, por existirem muitas variáveis e fatores de confusão que a dificultam, como sejam a existência de onda U, a dispersão do intervalo QT, alterações eletrolíticas, influência de fármacos e variação fisiológica ao longo do dia (SILVA, 2014).

Estudos vêm demonstrando que intervalos QT prolongados e o incremento na variação de sua duração em pacientes com DM correlacionam-se com o grau de CAN (KHANDOKER, JELINEK, *et al.*, 2010), principalmente por este prolongamento estar relacionado com disfunção do sistema nervoso autônomo e o incremento da atividade simpática, e predispõem às arritmias graves e morte súbita (KAHN, SISSON e VINIK, 1987; POURMOGHADDAS e HEKMATNIA, 2003; MATHUR e GUPTA, 2006; VOULGARI, TENTOLOURIS e STEFANADIS, 2011; SCHMID, 2018)

Os métodos de análise da variabilidade do intervalo QT (VQT) que vêm sendo utilizados, assim como os da VFC, também se dividem em métodos lineares, no domínio do tempo e da frequência, e métodos não lineares (BERGER, KASPER, *et al.*, 1997; KHANDOKER, IMAM, *et al.*, 2012; DOBSON, KIM e HAIGNEY, 2013; POP BUSUI, 2013; QUINTEIRO, BIAGETTI, *et al.*, 2014; IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2015; BAUMERT, PORTA, *et al.*, 2016).

Para o caso das ferramentas de análise nos domínios da frequência, a metodologia seguida é análoga à usada para análise da VFC, conforme explanado anteriormente. No domínio do tempo, além dos índices estatísticos, tais como média, desvio padrão, coeficiente de variação (CV) e valores extremos dos intervalos QT, também é utilizado um outro índice, denominado índice de variabilidade do intervalo QT (QTVi). O aumento deste índice correlaciona-se com o aparecimento de arritmias ventriculares malignas.

O QTVi correlaciona a extensão da variabilidade do intervalo QT com a frequência cardíaca, representando a razão logarítmica entre o intervalo QT e a VFC, normalizada pela

média quadrática das respectivas séries temporais. Dessa forma, obtém-se uma medida do grau de variabilidade de repolarização.

Para a análise da VQT de forma não-linear, o método do mapa de retorno também é utilizado, no entanto, representando a relação entre um ponto da série temporal de RR (RR_n) no eixo x, e um ponto da série temporal de VQT (QT_{c_n}) no eixo y. Para sua quantificação são usados os índices obtidos através da análise de regressão linear, coeficiente de intersecção com eixo Y (α), coeficiente de pearson (ρ), e, principalmente, o coeficiente angular ($\beta = QT-RR_{slope}$).

3.4 VARIABILIDADE DA PRESSÃO SANGUÍNEA

A pressão arterial é uma variável biológica que não é constante no decorrer do tempo. Na dependência de uma série de fatores ligados às atividades cotidianas e também a mecanismos neuro-hormonais independentes, a pressão arterial varia de forma significativa nas 24 horas do dia (SILVA, 2017).

Como dito anteriormente, o SNA também é responsável pelo controle rápido da pressão arterial, mantendo níveis pressóricos estáveis e garantindo o suprimento adequado de sangue às demandas metabólicas do organismo (BERNE e LEVY, 2009). Este mecanismo autorregulatório é exercido pela modulação da resistência vascular periférica, da FC e do débito cardíaco (BERNE e LEVY, 2009).

Define-se variabilidade da pressão arterial (VPA), como sendo a flutuação da PAS (Pressão Arterial Sistólica) batimento a batimento do coração (SILVA, 2017; CHOON-HIAN, SIEW-CHEOK, *et al.*, 2017). Estudos a respeito da VPA e da VFC são relacionados e possuem uma abordagem similar no domínio da frequência, apresentando a análise das oscilações da PAS divididas em duas bandas de frequência, cada qual relacionada a uma origem simpática ou parassimpática (BEDA, JANDRE, *et al.*, 2007; MICHEL-CHÁVEZ, ESTAÑOL, *et al.*, 2015; REN, 2015; PARATI, OCHOA e LOMBARD, 2013).

As variações em alta frequência (0,15 – 0,5 Hz) estão relacionadas à variação da pressão intratorácica promovida pelo ciclo respiratório, estimulando os barorreceptores carotídeos os quais desencadeiam respostas do SNA. Por sua vez, as variações de baixa frequência (0,05 - 0,15 Hz) são atribuídas à modulação do controle simpático, aumentando a energia no espectro de frequências quando o SNA simpático exerce ação excitatória e reduzindo quando a ação é inibitória (BEDA, JANDRE, *et al.*, 2007; CHOON-HIAN, SIEW-CHEOK, *et al.*, 2017; REN, 2015; ZHOU, KROON, *et al.*, 2018).

3.5 ANÁLISE DA SENSIBILIDADE BARORREFLEXA

O barorreflexo é provavelmente um dos mais importantes mecanismos de controle cardiovascular ajustando a frequência cardíaca (FC) e saída simpática para os vasos sanguíneos batimento a batimento (TANK, BAEVSKI, *et al.*, 2000).

Os barorreceptores são células existentes na parede do seio carotídeo responsáveis por identificar variações na pressão arterial auxiliando o organismo no seu controle. Portanto, estímulos mecânicos nestes receptores levam a respostas reflexas do SNA. O aumento da pressão arterial leva ao predomínio da ação parassimpática ao passo que a ação simpática é desencadeada ao ocorrer uma queda nos níveis da PA (BERNE e LEVY, 2009).

A sensibilidade barorreflexa (BRS) é uma técnica para avaliar a função barorreflexa vagal e simpática cardíaca (KUEHL e STEVENS, 2012). O funcionamento barorreflexo resulta em um amortecimento dos aumentos da PA sistólica em função de um aumento do intervalo RR correspondente e vice-versa. A inclinação em qualquer ponto dessa relação reflete a sensibilidade (ganho) do barorreflexo em ms/mmHg e pode ser usado para quantificar o controle barorreflexo da FC (TANK, BAEVSKI, *et al.*, 2000; KUEHL e STEVENS, 2012).

A sensibilidade barorreflexa prejudicada pode ser um sinal de neuropatia autonômica cardiovascular diabética (CAN), que muitas vezes permanece desconhecida durante o curso inicial do diabetes. O BRS pode ser um marcador adicional para a CAN subclínica, pois vários estudos demonstraram que as anormalidades do BRS ocorrem antes de anormalidades dos testes de função autonômica convencional (BÖNHOF, STROM, *et al.*, 2018; FRATTOLA e ET AL, 1997).

Um dos métodos mais amplamente utilizados para a análise do BRS é o chamado método da sequência, no qual o BRS é avaliado como sendo a inclinação da linha de regressão entre aumentos ou diminuições espontâneas na pressão arterial sistólica (1 mmHg) linearmente relacionadas ($r \geq 0,85$) ao alongamento ou encurtamento do intervalo RR (5 ms), em sequências de pelo menos quatro batimentos cardíacos consecutivos (três intervalos RR). A inclinação média de todas as sequências gera o índice BRS do sinal (FRATTOLA e ET AL, 1997; TANK, BAEVSKI, *et al.*, 2000; KARDOS, WATTERICH, *et al.*, 2001; KUEHL e STEVENS, 2012; SANTOS, SAYEGH, *et al.*, 2018).

Apesar da complexidade anatômica e fisiológica do mecanismo barorreflexo, ele pode ser considerado como um sistema fechado de feedback negativo, no qual, para cada alteração na pressão arterial, há um atraso de tempo até que a resposta contrária ocorra - atraso do

barorreflexo (HEESCH, 1999; MARTINEZ-GARCIA, LERMA e INFANTE, 2012). No entanto, o método de sequência tradicional não leva em conta o atraso do barorreflexo.

Em geral, o retardo entre o aumento da pressão arterial sistólica (PAS) e a bradicardia barorreflexa aumenta quando o tônus vagal é baixo e o tônus simpático é alto (WESTERHOF, GISOLF, *et al.*, 2004; CIVIDJIAN, TOADER, *et al.*, 2011), situação que acomete pacientes com CAN subclínica, quando as fibras vagais já estão enfraquecidas e as fibras simpáticas atuam num mecanismo compensatório (POP-BUSUI, 2004). O atraso está positivamente relacionado à FC e à idade, mas negativamente relacionado à inclinação barorreflexa (WESTERHOF, GISOLF, *et al.*, 2004; CIVIDJIAN, TOADER, *et al.*, 2011), o que pode sugerir que quando o atraso é maior, tanto o início da ação do sistema nervoso autônomo quanto seu período de ação são lentos, o que poderia estar relacionado com um sistema nervoso autônomo prejudicado devido a uma doença como a CAN.

3.6 INFLUÊNCIA DA RESPIRAÇÃO NO CONTROLE CARDIOVASCULAR

Como já mencionado nos capítulos anteriores, a frequência do ritmo respiratório influencia a atividade autonômica do SNA ocasionando o fenômeno chamado de arritmia sinusal respiratória (ASR) (YASUMA e HAYANO, 2004; BEDA, JANDRE, *et al.*, 2007)(YASUMA, HAYANO, 2004, BEDA, 2007).

O papel da arritmia sinusal respiratória está ligado à função de melhorar as trocas gasosas, pois um maior volume de sangue venoso estaria disponível a cada batimento cardíaco (YASUMA e HAYANO, 2004). Um estudo desenvolvido por HAYANO *et al.* (1996), baseado em implementação artificial da ASR, já encontrou que a mesma foi responsável por aumentar a absorção de oxigênio por todo o sistema. Concluiu-se, assim, que a perfusão seria ajustada à ventilação para cada ciclo respiratório evitando batimentos desnecessários durante a expiração e proporcionando uma ventilação eficaz durante a inspiração (YASUMA e HAYANO, 2004). Em função do sincronismo existente entre a ASR e a FC, o componente da banda HF na análise da VFC (0,15 – 0,5 Hz) traria informações a respeito da ASR, e por consequência, refletiria a modulação parassimpática na FC (METELKA, CIBIČKOVÁ, *et al.*, 2018).

As fibras cardíacas vagais eferentes são disparadas preferencialmente durante a expiração, e esta relação é mantida por meio de estímulos mediados por quimiorreceptores e barorreceptores mesmo após a ressecção do nervo vago. Os pulmões, durante a inspiração, biotambém participam deste mecanismo inibindo a atividade vagal e provocando o aumento da FC por meio de fibras pulmonares eferentes, as quais transmitem informações dos

mecanorreceptores pulmonares. As fibras parassimpáticas originadas do nervo vago têm maior relevância na geração da RSA ao passo que a contribuição das fibras simpáticas possui pouca importância. Durante a inspiração, a atividade vagal é praticamente abolida encurtando o intervalo RR no ECG, ao passo que durante a expiração, a atividade vagal torna-se máxima aumentando o intervalo RR no ECG (YASUMA e HAYANO, 2004; BERNE e LEVY, 2009).

A atividade vagal contribui de forma importante para a componente HF do sinal (EAGLE, BERGER, *et al.*, 1996; METELKA, CIBIČKOVÁ, *et al.*, 2018). A alternância na atividade das fibras cardíacas vagais gerada pela respiração é responsável pela constituição desta componente e consequente geração da RSA (YASUMA e HAYANO, 2004). Num estudo de FONSECA (2012), avaliou-se que durante a inspiração foram observados valores de coerência mais elevados comparados à expiração, demonstrando que a inspiração possui maior influência sobre a VFC do que a expiração.

O mesmo estudo observou que tanto a banda LF como a banda HF possuem comportamento similar para o modelo direcionado (Respiração→VFC), com a respiração diminuindo sua influência sobre a VFC durante a expiração. O autor destaca que, proporcionalmente, a banda HF apresenta maior diminuição dos valores de coerência, podendo-se inferir que a redução durante a expiração em ambas as bandas se relaciona com a atividade vagal, porém a redução não proporcional entre as bandas é compatível com a presença da atividade simpática. Portanto, corroborando com a teoria de que a banda LF não teria suas componentes exclusivamente ligadas à atividade simpática, mas também haveria participação da atividade vagal (FONSECA, 2012).

Assim, o estudo da VFC não deve estar dissociado do padrão respiratório apresentado pelos sujeitos uma vez que o componente apresentado na banda HF é marcadamente relacionado à respiração, inclusive com influência sobre a banda LF do sinal.

Várias técnicas podem ser usadas para obter um sinal de respiração de um ECG. A técnica EDR (Respiração Derivada por ECG) é uma abordagem que se baseia na observação de que as posições dos eletrodos de ECG na superfície do tórax se movem em relação ao coração, e a impedância transtorácica varia, à medida que os pulmões se enchem e esvaziam. Assim, os eixos principais variam em diferentes pontos do ciclo respiratório, e qualquer medida suficientemente precisa do eixo elétrico cardíaco médio mostra variações correlacionadas com a respiração. Ou seja, obtém o sinal de respiração do sinal de ECG.

A técnica EDR tem sido validada e utilizada por vários estudos (IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2013; MAZZANTI, LAMBERT e BIE, 2003; MOODY, MARK, *et al.*, 1986). Por se tratar de uma técnica de bom desempenho e simples implementação, inclusive no

que tange a ideia desse trabalho de buscar uma metodologia eficiente para a detecção da CAN que seja não invasiva e não exija interação do paciente, esta técnica foi escolhida para ser usada para a leitura do sinal de respiração dos pacientes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Não existe uma abordagem única amplamente aceita para o diagnóstico de CAN em diabéticos. Muitos são os estudos na área e, em sua grande maioria, apresentam metodologias baseadas na análise da série de RR, refletindo a VFC. A utilização de dados referentes a série de VQT também aparece em vários estudos, bem como análise de BRS e pressão arterial. Porém, a análise de interação desses sinais fisiológicos não é comumente explorada.

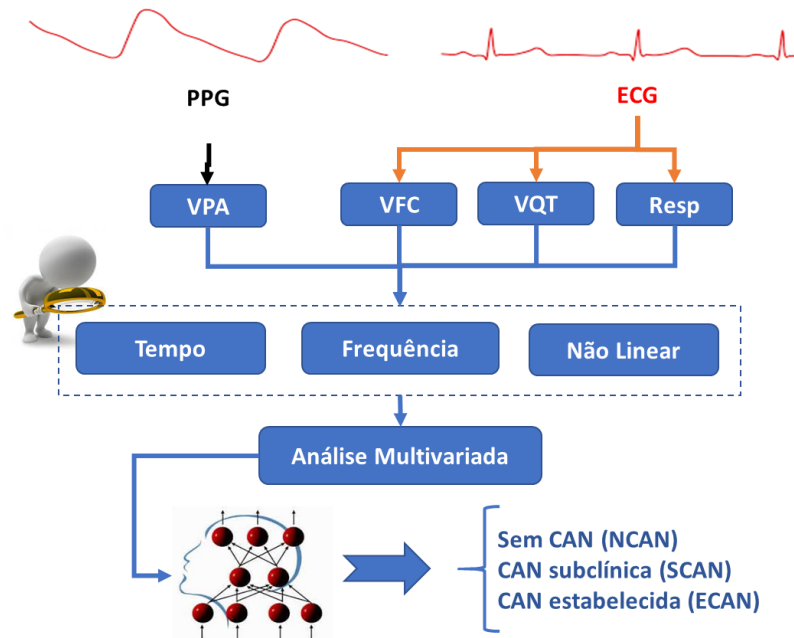
Nesse sentido, a partir da análise dos parâmetros cardiovasculares classicamente utilizados como quantificadores da atuação do Sistema Nervoso Autônomo, originados dos sinais de variabilidade da frequência cardíaca, do intervalo QT e da respiração (extraídos do sinal de ECG), bem como da variabilidade da pressão sanguínea e da dinâmica do barorreceptor (extraídos da análise conjunta dos sinais de ECG e PPG), a proposta geral desse trabalho foi o desenvolvimento de uma metodologia que:

- Avalie os sinais obtidos de forma conjunta, buscando o entendimento da interação fisiológica entre eles, principalmente no que diz respeito a atuação do Sistema Nervoso Autônomo;
- Analise parâmetros já conhecidos de forma a avaliar seu comportamento no tempo, frequência e de forma não linear;
- Identifique interações entre os parâmetros dos sinais fisiológicos estudados.
- Identifique novos parâmetros que auxiliem no papel de quantificação da atuação do Sistema Nervoso Autônomo;
- Disponibilize um classificador neural e/ou matemático que auxiliasse na distinção entre os estágios da Neuropatia Autonômica Cardiovascular, principalmente na detecção do estágio denominado subclínico.

4.1 DETALHAMENTO DA METODOLOGIA DESENVOLVIDA

A Figura 21 esboça a arquitetura geral da metodologia utilizada e logo abaixo procura-se esclarecer cada um dos processos que compõem a metodologia:

Figura 21: Arquitetura geral da metodologia utilizada para predição da CAN. VPA = Variabilidade da Pressão Arterial, VFC = Variabilidade da Frequência Cardíaca, VQT = Variabilidade do Intervalo QT, Resp = Frequência Respiratória.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

(a) Sinais de ECG e PPG

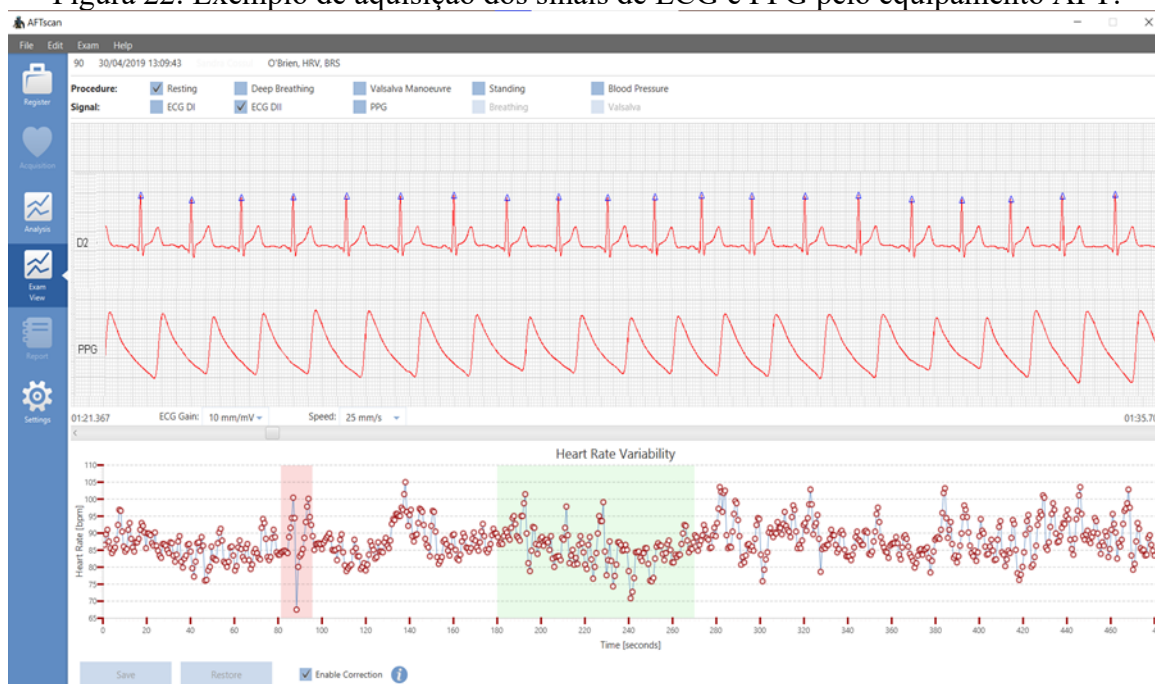
Estes sinais constituem a base da metodologia utilizada, pois são estes sinais fisiológicos que originaram as séries que efetivamente forneceram os parâmetros necessários para as análises. Foram utilizados sinais chamados de curta duração, correspondendo a 5 minutos de duração.

O protocolo de aquisição destes sinais é de suma importância, pois ambos precisam ser coletados de forma paralela, ou seja, na mesma sequência de tempo e mantendo constantes as condições de ambiente aos voluntários. Torna-se necessário ainda uma anamnese que reúna informações dos voluntários que venham a contribuir com a pesquisa. Já se tinha acesso a uma base de sinais com as características necessárias e, portanto, não foi necessária a aquisição da mesma. A base de dados recebida seguiu o procedimento experimental de (PACHECO, 2018), considerando todos os critérios de inclusão e exclusão. Dos 90 pacientes recebidos, dezoito foram descartados em função da identificação de possíveis extra-sístoles no sinal de ECG. Optou-se por descartar o sinal ao invés de remover as possíveis extra-sístoles. Dessa forma, dos 90 pacientes disponíveis, foram utilizados efetivamente 72 pacientes. A aquisição da base de dados foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número CAAE 24822114.5.0000.0121, e está de acordo com

as normas preconizadas com a Declaração de Helsinki e pelas diretrizes da Associação Médica Mundial (*World Medical Association*).

O equipamento utilizado para a aquisição dos sinais foi o AFT - *Autonomic Function Testing* (protótipo), desenvolvido e testado pela empresa In Pulse PNP SOLUCOES EM BIOENGENHARIA LTDA. Trata-se de um equipamento que possibilita a aquisição dos sinais de ECG e PPG de forma integrada, através de dois canais, numa frequência de amostragem de 500 Hz (Figura 22). Para este trabalho, todos os sinais foram reamostrados em 1 kHz.

Figura 22: Exemplo de aquisição dos sinais de ECG e PPG pelo equipamento AFT.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

(b) VFC (Variabilidade da Frequência Cardíaca), VQT (Variabilidade do Intervalo QT), Resp (Respiração), VPA (Variabilidade da Pressão Arterial)

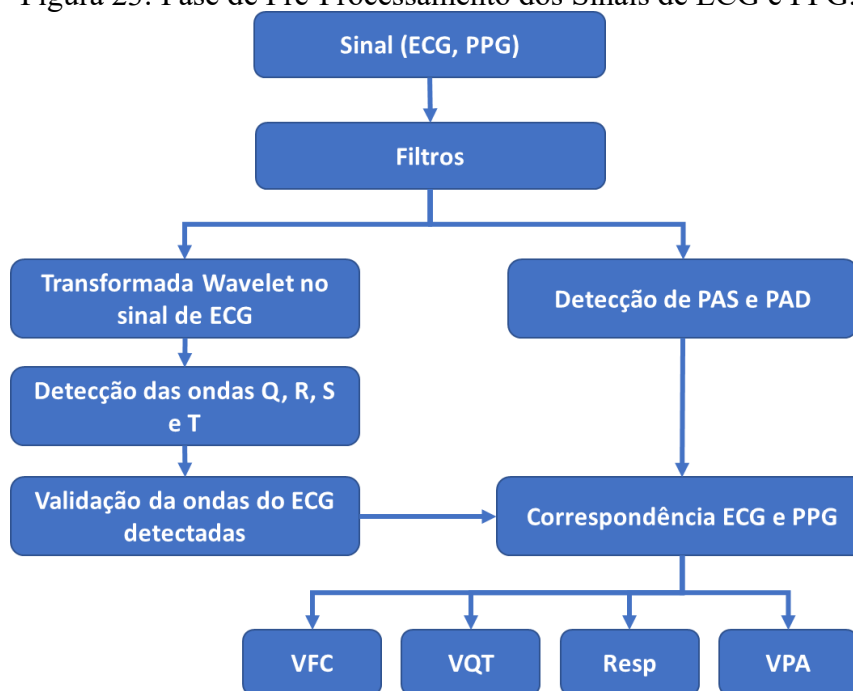
VFC, VQT, Resp e VPA são as séries geradas a partir dos sinais de ECG e PPG. Conforme já abordado nos Capítulos anteriores, as séries de VFC (diferenças temporais entre os batimentos cardíacos adjacentes), VQT (diferenças temporais entre as ondas Q e T (ECG) subsequentes, o que caracteriza a duração total da atividade elétrica ventricular), Resp (frequência respiratória no tempo) e VPA (pressão arterial sistólica e diastólica no tempo), oferecem um arcabouço bastante significativo de parâmetros que possibilitam a análise da efetividade do sistema nervoso autônomo para manter os indivíduos em homeostase, no que diz respeito principalmente ao controle cardiovascular, o que por sua vez pode auxiliar na

identificação de que distúrbios podem estar acometendo tais indivíduos e refletindo num mau funcionamento do seu organismo. Para a geração das referidas séries foi necessário seguir um roteiro aqui denominado pré-processamento, ilustrado pela Figura 23.

A partir da leitura dos sinais utilizou-se a metodologia proposta por Neto e Seisdedos (2015), a qual considerou o efeito de filtro passa alta do tipo Butterworth na obtenção do final da onda T de sinais de ECG (NETO e SEISDEDOS, 2015), a qual é fundamental para esse estudo. Sendo assim, foi utilizada a seguinte metodologia para a filtragem do sinal:

- a) Filtro passa baixa do tipo Butterworth de 4ª ordem, com frequência de corte de 40 Hz;
- b) Filtro passa alta do tipo Butterworth de 3ª ordem, com frequência de corte de 0,5 Hz.

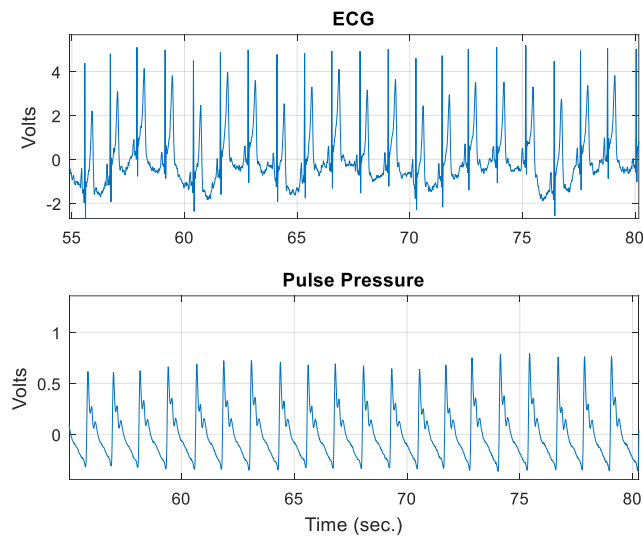
Figura 23: Fase de Pré-Processamento dos Sinais de ECG e PPG.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A Figura 24 apresenta um trecho de um sinal já filtrado.

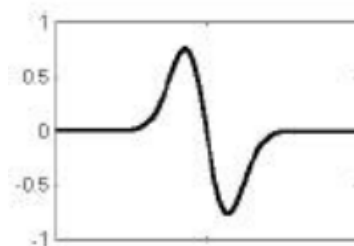
Figura 24: Sinal de ECG e PPG filtrados no sistema desenvolvido.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Com o sinal já filtrado, passou-se para a execução da transformada *Wavelet*, a fim de possibilitar uma precisa detecção das ondas do sinal de ECG. Para este trabalho optou-se pela metodologia de GARCIA (2005) e PETRY (2006), a qual utiliza a função correspondente à derivada de primeira ordem de uma função gaussiana (Figura 25), computada nas escalas 2^4 e 2^6 . A escolha de tais escalas foi feita de acordo com o exposto no Quadro 6, o qual mostra que as bandas de frequência das escalas 2^4 e 2^6 estão centradas em aproximadamente 13 Hz e 3 Hz, respectivamente, correspondendo aos valores onde se encontram as maiores potências relativas da onda R (do complexo QRS) e da onda T (GARCIA, 2005; PETRY, 2006).

Figura 25: Função Correspondente à Derivada de Primeira Ordem de uma Função Gaussiana.



Fonte: GARCIA (2005).

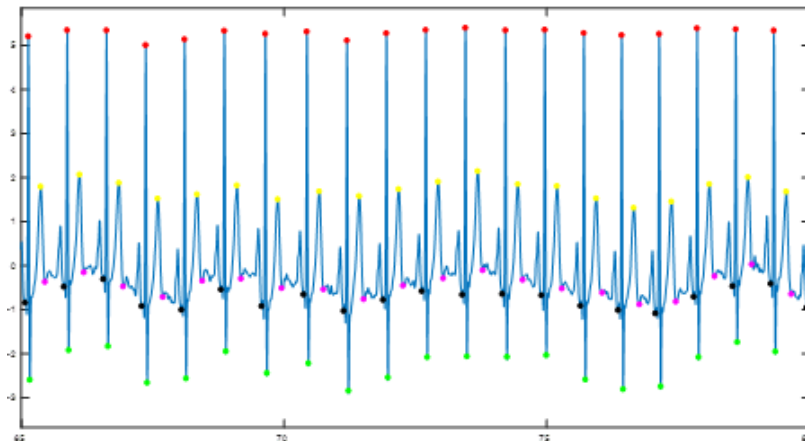
Quadro 6: Frequência central da banda de cada escala calculada para a 1ª derivada de uma Gaussiana, para frequência de amostragem de 1kHz

Escala	Frequência
2^1	100
2^2	50
2^3	25
2^4	12,5
2^5	6,25
2^6	3,125

Fonte: GARCIA (2005).

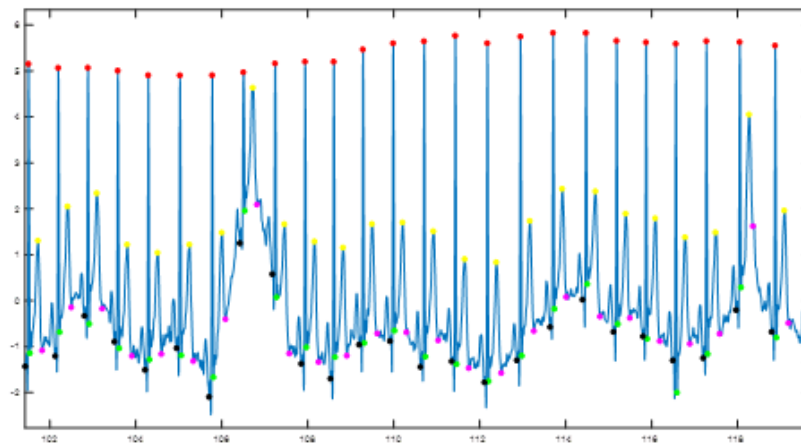
Após a aplicação da transformada *wavelet* nas escalas descritas, partiu-se para a detecção específicas das ondas Q, R, S e T do sinal, de acordo com a metodologia de PETRY (2006), sendo que a onda T teve sua marcação realizada no pico e no final. O desempenho do algoritmo desenvolvido foi avaliado através de testes com a base de dados *Arrhythmia Database* do MIT-BIH, utilizando-se os arquivos 117, 123, 200, 222 e 234. A sensibilidade do algoritmo foi de 99,92%, com uma taxa de erro de detecções de 0,21% (PETRY, 2006). A Figura 26 e a Figura 27 exemplificam a detecção das devidas ondas em trechos de dois sinais reais utilizados nesse trabalho.

Figura 26: Trecho de sinal de ECG com detecção de ondas realizadas através de transformada *Wavelet*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

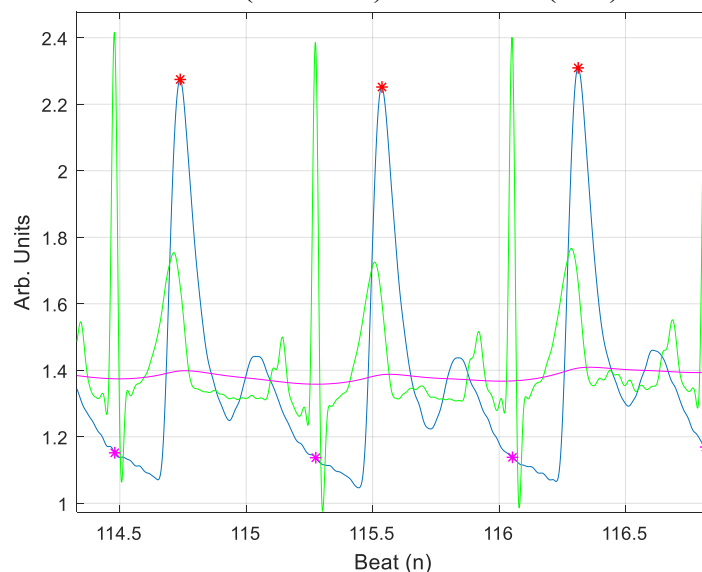
Figura 27: Trecho de sinal de ECG com detecção de ondas realizadas através de transformada *Wavelet*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para a detecção dos valores de pressão sistólica (SBP) e diastólica (DBP) do sinal de PPG, em conjunto com o sinal de ECG, seguiu-se a seguinte metodologia: com o alinhamento correto no tempo entre os sinais de PPG e ECG, busca-se o valor no tempo do pico da onda R do ECG e marca-se no mesmo ponto no tempo do PPG. Este ponto corresponderá ao valor da pressão diastólica. Seguindo o mesmo raciocínio, marca-se no sinal de PPG o valor no tempo correspondente ao pico da onda T do ECG e, este, será o ponto da pressão sistólica (CLIFFORD e MCSHARRY, 2004). A Figura 28 demonstra esta detecção realizada num dos sinais deste trabalho.

Figura 28: Trecho dos sinais de ECG e PPG sobrepostos e com as marcações de pressão sistólica (vermelho) e diastólica (rosa).



Linha verde: sinal de ECG; Linha azul: sinal de PPG; Linha rosa: linha auxiliar para identificação da PAS.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para gerar a série final de PAS e PAD, o algoritmo realiza uma correção nos valores, a partir dos valores informados de PAS e PAD adquiridos em repouso por um esfigmomanômetro. O fator de correção é calculado dividindo o valor do esfigmomanômetro pela média dos valores encontrados na detecção. Esse fator de correção multiplica-se aos valores detectados e têm-se então os valores finais de SBP e DBP.

Com a detecção de todas as características necessárias dos sinais, o algoritmo precisou validar as detecções de duas formas: avaliar se a sequência das ondas do ECG detectadas corresponde aos ciclos completos do ECG, ou seja, ondas P, Q, R, S e T de forma sequencial (desconsiderando batimentos ectópicos); e se as ondas detectadas do ECG correspondem corretamente com os pontos de SBP (pressão sanguínea sistólica) e DBP (pressão sanguínea diastólica) detectados, respeitando a questão temporal.

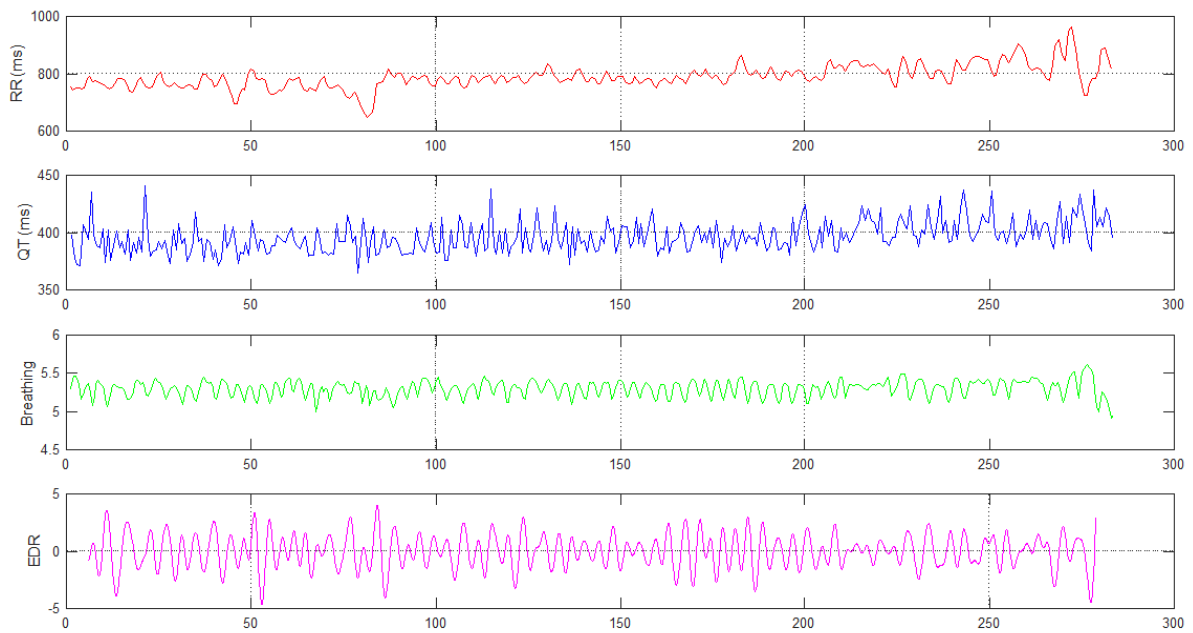
Encerrando a fase de pré-processamento partiu-se para a geração das séries a partir de todas as detecções realizadas. As seguintes séries foram formadas: VFC (contendo as durações de tempo entre ondas R), VQT (contendo as durações de tempo entre ondas Q e T – intervalo sistólico), TQ (contendo as durações de tempo entre ondas T e Q – intervalo diastólico), QRS (contendo as durações dos complexos QRS), QTp (contendo as durações de tempo entre ondas Q e pico das ondas T), Tp-e (contendo as durações de tempo entre o pico e o fim das ondas T), SBP (contendo os valores de pressão sistólica no tempo) e DBP (contendo os valores de pressão diastólica no tempo). Ressalta-se que as séries de QT foram calculadas inclusive com a correção referente ao RR, conforme a fórmula de Bazzett.

$$QT_c = \frac{QT}{\sqrt{RR}} \quad (1)$$

Além das séries já citadas, foi gerada ainda a série de frequência respiratória. Para obtenção dessa série foi utilizada uma metodologia que usa o sinal de ECG como fonte para extração da mesma, ou seja, a respiração derivada do ECG, conforme aplicação já validada (IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2013; VARON e VAN HUFFELI, 2015).

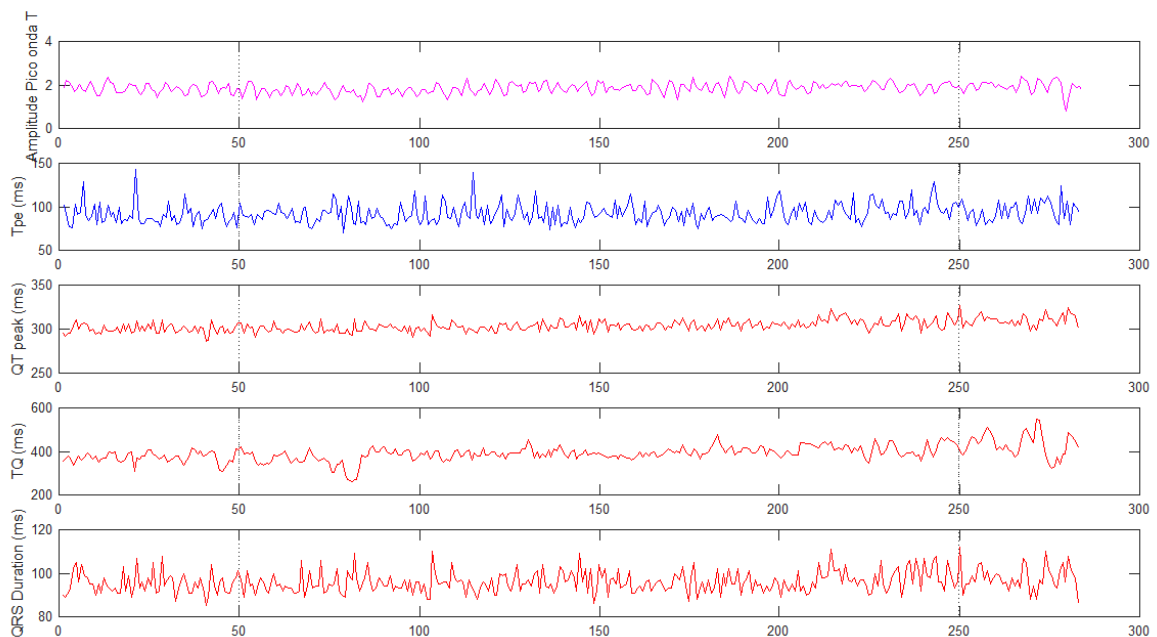
A Figura 29 ilustra as séries de RR, QT e Respiração. A Figura 30 apresenta as demais séries geradas.

Figura 29: Séries geradas: RR, QT e respiração.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 30: Séries geradas: Amplitude da onda T, Tpe, QTp, TQ e QRS.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

(c) Análises

A fase de análises foi composta de dois momentos: o primeiro teve por objetivo a extração de parâmetros das séries obtidas, e o segundo buscou avaliar o comportamento de cada um destes parâmetros, bem como a interação entre eles, objetivando alimentar o classificador final da metodologia.

Para o primeiro momento foram utilizadas análises já consolidadas no domínio do tempo, frequência e não-linear, tais como:

- **Domínio do Tempo:** informações temporais das séries obtidas, através de alguns índices já classicamente calculados para a VFC, tais como SDNN, RMSSD e pNN50. Especificamente para a VQT já se avalia normalmente índices que separam esse intervalo em duas partes, uma quantifica a duração média da onda Q até o pico da onda T e a outra quantifica o tempo de duração média entre os picos da onda T e o final da mesma. O intervalo entre o pico da onda T e o seu final pode descrever um índice de dispersão da repolarização cardíaca, pois poderá traduzir diferenças de morfologia da onda T durante esse período. Nesse mesmo sentido de analisar variações da repolarização ao avaliar a onda T, buscou-se analisá-la também quanto a variação da sua amplitude no tempo.
- **Domínio da Frequência:** Utilizam as informações contidas nas bandas de frequência (VLF, ≤ 0.04 Hz; LF, 0.04-0.15 Hz; e HF, 0.15-0.4 Hz) dos sinais. Essa análise especificamente da VFC é bastante utilizada e relaciona as bandas de frequência aos tônus simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo, apesar de, assim como as medidas no domínio do tempo, também considerar a linearidade do sistema. Na análise da VFC, baixos valores de HF indicariam baixa atividade vagal, e altos valores de LF/HF indicariam elevada atividade simpática. A análise espectral também foi utilizada para as demais séries geradas pela metodologia.
- **Não-Linear:** São métodos que exploram o comportamento não-linear e não-estacionário do sinal de VFC. Os principais métodos utilizados para a análise da frequência cardíaca, por exemplo, são baseados em modelos lineares. No entanto, sabe-se que a regulação do sistema cardiovascular envolve interações não-lineares entre os sistemas fisiológicos causando uma dinâmica complexa. Os métodos já consolidados propostos nesta metodologia são *Lorenz Plot* e seus devidos parâmetros para análise da complexidade das séries de VFC e VQT. Propõem-se ainda a mesma análise para VFC X VQT e VPA X VFC. Além do *Lorenz Plot*, foram aplicados os métodos de cálculo de entropia (amostral e aproximada) e CZF (*Nonlinear Conte-Zbilut-Federici*). As entropias procuram avaliar a complexidade do sistema, o quanto podem ser considerados caóticos. O método CZF procura corrigir uma das limitações técnicas da análise no domínio da

frequência, a qual ao transformar a série de intervalos no tempo para o domínio da frequência pressupõe que existe uma periodicidade subjacente no sinal, mesmo sabendo-se que o sinal de frequência cardíaca é um sinal não estacionário. A diferença básica da utilização da FFT (*fast Fourier transform*) e do CZF é que, no caso da FFT, expressa-se a potência da modulação e, no caso do método CZF, estima-se a variabilidade especificamente (CONTE, PIERALICE, *et al.*, 2012).

- **Outras Medidas:** Medidas que relacionam duas séries foram utilizadas de forma a analisar se as respostas do sistema nervoso autônomo estão refletindo nas diferentes áreas do sistema cardiovascular, o que procura também avaliar a eficiência do sistema para a regulação do organismo mediante alterações bruscas às quais todos os indivíduos estão sujeitos o tempo todo, sejam mudanças por fatores considerados ambientais como, por exemplo, a temperatura, ou mudanças provocadas por outros fatores, como até mesmo o emocional. Estas medidas visam confrontar o funcionamento sincronizado e interligado dos sistemas fisiológicos. A relação entre as séries obtidas foi explorada através de parâmetros selecionados na literatura e listados no Apêndice A, bem como com a busca por novos parâmetros. Entre os parâmetros já estabelecidos na literatura serão explorados: QTVi, SDI e BRS.

Como já explanado nos capítulos anteriores, o QTVi é um índice que mede a variabilidade do intervalo QT batimento a batimento, quantificando a magnitude da variação do intervalo QT, normalizada tanto pela duração média do intervalo QT quanto pela magnitude da variação da frequência cardíaca. Estudos em pacientes não saudáveis indicam que valores altos de QTVi correlacionam-se com o aumento do tônus simpático. A correlação entre o tônus simpático e a variabilidade QT é muito forte no estado de alta ativação simpática, mas pode ser muito mais fraca em outras condições quando o equilíbrio autonômico não é afetado. Isso pode significar que o tônus vagal estaria prejudicado, o que inicialmente ocorre com pacientes em estágio inicial de neuropatia autonômica.

O SDI procura avaliar a relação entre as fases sistólicas e diastólicas do ciclo cardíaco, através da razão entre intervalos QT e TQ (QT/TQ). Uma modificação desse parâmetro sugerida na literatura é o cálculo da razão entre intervalo TQ e intervalo RR. Acredita-se que o intervalo QT descreve o intervalo sistólico do ciclo cardíaco, bem como o intervalo TQ descreve o diastólico. Assim, com o QT/TQ poder-se-ia descrever a interação entre os intervalos sistólicos e diastólicos (SDI), podendo ser considerado um indicador de disfunção ventricular. Já com o TQ/RR , poder-se-ia descrever como o intervalo diastólico em cada batimento cardíaco varia

em relação à frequência cardíaca (IMAM, KARMAKAR, *et al.*, 2015). A importância desses índices para esse trabalho está na obtenção de indicadores que evidenciem principalmente disfunções diastólicas, as quais são comuns em pacientes com CAN (POP BUSUI, 2013).

Já o BRS, assim como também já explanado nos capítulos anteriores, também auxilia na avaliação da efetividade das funções do sistema nervoso autônomo, já que essa análise procura verificar se há e, se houver, quantificar as alterações de frequência cardíaca decorrentes de alterações na pressão arterial, a fim de rapidamente trazê-la para níveis normais, o que traduz um dos mecanismos de resposta rápida do sistema nervoso autônomo em indivíduos saudáveis, denominado reflexo barorreceptor.

Nessa metodologia foi realizado um estudo do BRS avaliando seu comportamento em níveis diferentes de lags (atrasos) na resposta da frequência cardíaca. Normalmente os estudos que levam em conta o BRS, mais especificamente pelo método das sequências, medindo a inclinação (*slope* da regressão linear) das sequências de intervalos RR e SBP que aumentam ou diminuem mais do 5ms e 1mmHg, em um nível fixo de atraso, normalmente igual a 1 (uma) unidade. Ou seja, os métodos contabilizam sequências na quais a partir de um aumento ou redução de 1 ou mais mmHg na pressão atual acarreta-se também no aumento ou redução de 5 ou mais ms no RR subsequente. Essa metodologia analisou a relação que diferentes atrasos podem ocasionar no comportamento do BRS nos diferentes estágios da CAN, pois acreditava-se que isso poderia estar relacionado diretamente com a classificação dos estágios da doença.

Dessa forma, para cumprir todas as análises delineadas pela metodologia, o estudo foi conduzido em 4 (quatro) fases:

- **Fase 1:** Implementação de um programa de computador para obtenção das séries geradas a partir dos sinais de ECG e PPG, bem como extração de índices das referidas séries.
- **Fase 2:** Análise exploratória dos índices tradicionais implementados para a diferenciação dos pacientes em relação ao estágio da CAN;
- **Fase 3:** Análise exploratória de índices gerados a partir da análise de BRS considerando diferentes *lags* (atrasos) na resposta da frequência cardíaca a mudanças na pressão sanguínea;
- **Fase 4:** Implementação de um classificador computacional que diferencie os pacientes diabéticos nas classes: NCAN, SCAN e ECAN.

Para a implementação do programa de computador (Fase 1) foi utilizada a linguagem de programação Matlab, do desenvolvedor MathWorks Inc, na versão R2015a, e todos os algoritmos usados para a geração de índices conhecidos na literatura, foram validados a partir da comparação dos resultados com softwares comerciais. A implementação se fez necessária, pois nenhum software comercial disponibilizava a possibilidade de gerar todos os índices utilizados neste trabalho, nem a possibilidade de gerar novos índices.

A metodologia utilizada para as Fases 2, 3 e 4, é apresentada a seguir.

4.2 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS ÍNDICES TRADICIONAIS

Para a análise exploratória dos pacientes em relação aos índices implementados foram utilizados sinais de 50 pacientes, distribuídos conforme Quadro 7.

Quadro 7: Caracterização dos sinais utilizados, quanto ao sexo, idade, duração do diabetes, pressão sistólica (PAS) e índice de massa corporal (BMI).

	Homens média ± dp	Mulheres média ± dp
Quantidade	26	24
Idade (anos)	35,19 ± 7,77	36,08 ± 8,24
Duração do Diabetes (anos)	15,65 ± 9,10	19,58 ± 10,85
PAS (Pressão Arterial Sistólica, mmHg)	132 ± 12,38	120 ± 12
IMC (Índice de Massa Corporal, Kg/m²)	25,71 ± 4,01	24,91 ± 3,02

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Cabe salientar que a pressão sistólica e o índice de massa corporal, além da idade e duração do diabetes, são índices que podem se correlacionar com a CAN (DAFAALLA, NIMIR, *et al.*, 2016) e por isso foram obtidos como indicadores de risco importantes para o estudo.

Quanto a presença da CAN, a classificação considerada “*Golden Standard*” foi realizada levando em conta a metodologia de O’Brien (O’BRIEN, O’HARE e CORRALL, 1986), o qual baseia-se nos testes de Ewing (EWING e CLARKE, 1982), conjuntamente com o índice de BRS, conforme apresentado no Quadro 8.

Quadro 8: Classificação considerada “*Golden standard*” dos pacientes envolvidos no estudo.

AFT Composite Score	BRS Status	CAN Composite Status
< 3 (normal)	0 (normal)	1 (NCAN - Sem CAN)
< 3 (normal)	1 (anormal)	2 (SCAN - CAN Subclínica)
>= 3 (anormal)	1 (anormal)	3 (ECAN - CAN Estabelecida)

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para a classificação do índice de BRS como normal ou anormal, foi utilizada a metodologia que verifica essa condição comparando o resultado obtido com um intervalo de confiança estabelecido por Kardos, *et al.* (2001), o qual avalia a normalidade levando em conta o sexo e a idade do paciente, assim como O’Brien *et al.* (1986) em relação ao *Composite Score*. O estudo realizado por Kardos *et al.* (2001) envolveu apenas sujeitos saudáveis e avaliou as diferenças nos valores de BRS mediante vários fatores. Especificamente em relação à idade e ao sexo, o estudo concluiu que o BRS se correlaciona inversamente com a idade em ambos os sexos e que, quanto ao sexo, em mulheres jovens e de média idade os valores são menores que nos homens de mesma faixa etária, o que não acontece quando ambos estão na terceira idade. Sendo assim, considerou-se a associação entre BRS e sexo independente (KARDOS, WATTERICH, *et al.*, 2001).

O status do BRS complementou o status obtido com a metodologia de O’Brien *et al.* (1986), na expectativa de encontrar uma classificação intermediária entre os que não possuem CAN e os que a possuem de forma estabelecida. Ou seja, com essa classificação identifica-se um status denominado “subclínico”. Essa classificação intermediária reflete um estado de transição entre o NCAN e o ECAN, no qual se tem concentrado os maiores esforços, pois trata-se de um estágio em que não existem sintomas clínicos, mas a doença já existe, e se tratada nesta fase apresenta chances de reversão ou desaceleração da evolução (BALCIÖĞLU e MÜDERRISOĞLU, 2015).

Utilizando essa metodologia de classificação “*Golden Standard*”, os pacientes envolvidos na segunda fase do estudo ficaram distribuídos conforme apresentado no Quadro 9.

Quadro 9: Classificação dos pacientes envolvidos no estudo, quanto ao status da CAN, sendo classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “SCAN” e classe 3 = “ECAN”. Foram divididos de acordo com o sexo e a idade.

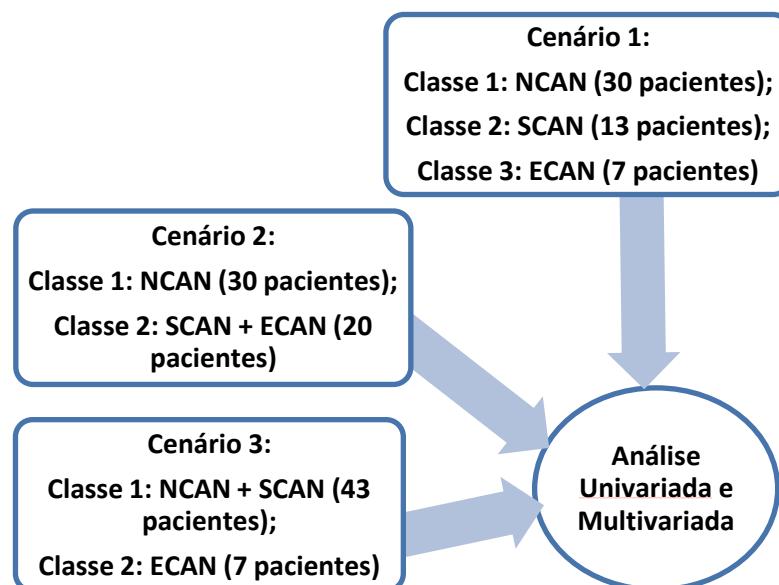
Idade/Classe	Homens			Mulheres		
	1	2	3	1	2	3
<= 29	2	3	1	1	2	1
De 30 a 39	9	2	0	6	4	2
De 40 a 49	7	1	1	5	1	2
>= 50	0	0	0	0	0	0
Total	18	6	2	12	7	5

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Destaca-se, portanto, que, de forma resumida, contou-se com 30 pacientes “NCAN” (classe 1), 13 pacientes “SCAN” (classe 2) e 7 pacientes “ECAN” (classe 3), totalizando 50 pacientes.

Os testes com estes pacientes seguiram um roteiro simples, para uma avaliação geral de três diferentes cenários, analisando os resultados dos índices calculados linearmente, nos domínios do tempo e frequência, e métodos não lineares, de forma univariada e multivariada. Os três cenários avaliados foram montados conforme apresentado na Figura 31.

Figura 31: Cenários utilizados nas análises do Estudo de Caso 1.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

De forma univariada, foi utilizado o Teste F (ANOVA) para verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos de pacientes. Todos os parâmetros calculados foram analisados com exceção dos parâmetros relacionados com o BRS, o qual foi estudado especificamente na fase 3 deste trabalho.

Conforme apresentado na Figura 30, foram realizadas três simulações para verificar as diferenças significativas: a primeira considerando as três classes (grupos) de pacientes, a segunda e a terceira considerando apenas duas classes, sendo que na segunda foram juntados os indivíduos da classe SCAN com os indivíduos da classe ECAN, e na terceira esses pacientes foram juntados aos da classe NCAN.

De forma multivariada, foi aplicado o teste de análise discriminante para os mesmos três cenários, na expectativa de avaliar a possibilidade de discriminação dos grupos referentes às classes dos pacientes utilizando os índices obtidos. Esta técnica foi escolhida por possibilitar avaliar matematicamente a possibilidade de discriminação entre classes, determinada em uma base de dados, a partir da análise de múltiplas variáveis. A partir da discriminação significativa, as equações matemáticas geradas poderiam ser utilizadas para a predição e novas amostras. Como o método de Análise Discriminante não tolera variáveis correlacionadas, as variáveis (índices) utilizados nessa análise foram os índices que mostraram alguma diferença significativa na análise univariada de variância, acrescidos dos índices de análise espectral do sinal de RR.

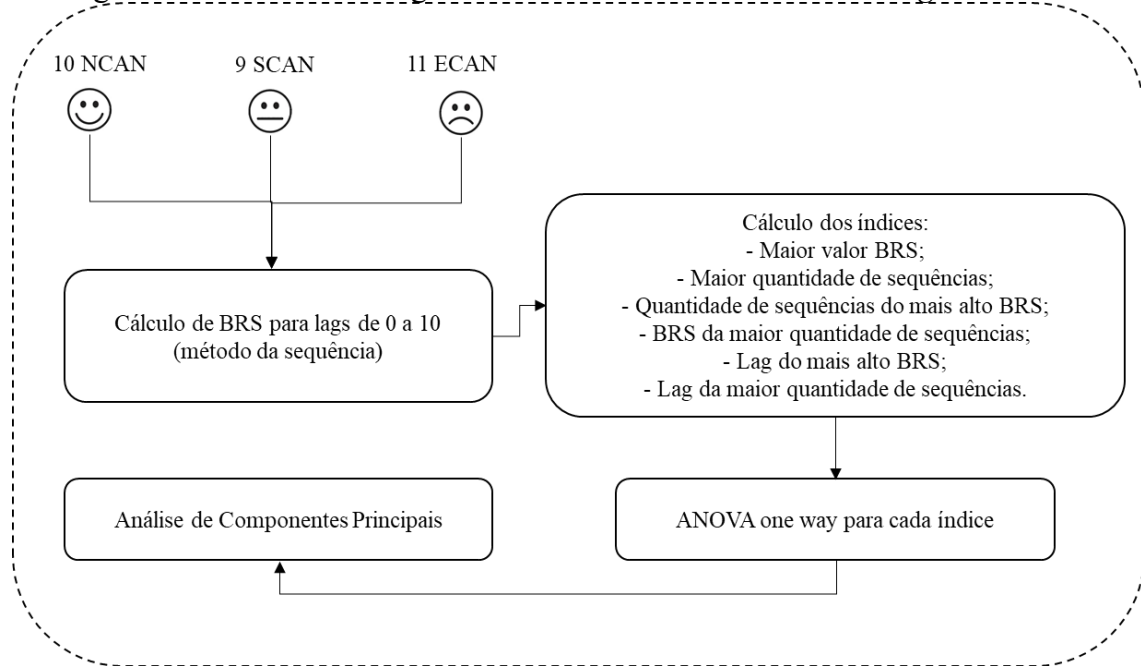
Como a classe de pacientes SCAN é o foco principal deste trabalho, foi realizada uma análise de componentes principais apenas com os pacientes desta classe, na expectativa de entender a estrutura de dimensões desses pacientes em relação às variáveis utilizadas, possibilitando entender quais são os índices responsáveis pelas variações nestes pacientes.

4.3 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE BRS COM DIFERENTES *LAGS*

A fase 3 deste trabalho procurou realizar uma análise aprofundada nos resultados de sensibilidade barorreflexa dos pacientes. Para tanto, partiu-se da hipótese de que pacientes diabéticos com SCAN pudessem apresentar retardo na ação do sistema nervoso autônomo, diferente de pacientes NCAN e ECAN. Para testar essa hipótese, foi então analisada a sensibilidade barorreflexa através dos índices de BRS calculados pelo método da sequência para diferentes *lags* (atrasos).

O estudo incluiu 30 pacientes diabéticos homogêneos quanto ao sexo e duração do diabetes: 11 com ECAN (37 ± 8 anos de idade), 9 com SCAN (35 ± 10 anos de idade) e 10 NCAN (35 ± 6 anos e idade). A Figura 32 mostra o fluxo metodológico desta fase do estudo.

Figura 32: Fluxo metodológico da análise de BRS considerando *lags* diferentes.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O BRS foi medido pelo método da sequência, conforme descrito por Porta *et al.* (2013), no entanto, com diferentes *lags* atribuídos a cada sujeito. Para *lags* de 0 a 10, sequências de 3 ou mais intervalos (resultado de 4 ou mais batimentos cardíacos consecutivos), com uma porcentagem de correlação igual ou superior a 85% entre as sequências RR e SBP foram consideradas. Para cada caso, foram obtidos os seguintes índices: maior valor BRS, maior quantidade de sequências, quantidade de sequências do mais alto BRS, BRS da maior quantidade de sequências, *lag* do mais alto BRS, *lag* da maior quantidade de sequências.

Para a análise estatística foi utilizada inicialmente análise univariada de variância (ANOVA one way com teste de Tukey a 5% erro alfa para comparação de médias) para avaliar a diferença significativa entre os níveis (ou seja, NCAN, SCAN e ECAN) para cada uma das variáveis. Posteriormente, foram utilizadas duas técnicas de análise multivariada: MANOVA e Análise de Componentes Principais. O método MANOVA foi utilizado para verificar se a variável dependente é significativamente afetada por mudanças nas variáveis independentes, considerando as interações entre variáveis dependentes e independentes. A análise de componentes principais foi utilizada como análise exploratória para avaliar as

estruturas/dimensões responsáveis pela diferença entre os sujeitos. O software utilizado para análise estatística foi o Minitab16 (Minitab Inc®).

4.4 IMPLEMENTAÇÃO DE UM CLASSIFICADOR COMPUTACIONAL

Por fim, a última fase do estudo foi a definição e desenvolvimento de um classificador matemático e/ou neural que possibilitasse a predição de existência de neuropatia autonômica e o estágio atual no paciente, a partir da identificação de uma combinação de parâmetros extraídos da fase de análise exploratória 3, por ter apresentado os resultados mais promissores.

Inicialmente foram testados métodos não iterativos, tais como Análise Discriminante, Árvore de Decisão e método do Vizinho mais próximo. Posteriormente foram testados métodos de aprendizagem usando Florestas de Decisão (Random Forest), técnica que tende a aprimorar o processo de predição por formar uma rede iterativa de métodos de decisão/classificação.

Para configurar uma floresta de decisão basicamente é necessário definir um algoritmo de treinamento e a quantidade de árvores que compõem a floresta. Cinco algoritmos de treinamento diferentes (Totalbust, LPBust, AdaBoostM2, RUSBust e Bag) foram testados, a fim de identificar o que melhor se adequa. Para definir a quantidade de árvores foi implementado um algoritmo que testa quantidade de árvores de 1 a 150, e indica aquela quantidade que produz o menor percentual de erro de classificação da rede. Todos os métodos foram implementados no Matlab, do desenvolvedor MathWorks Inc, na versão R2015a.

Duas metodologias de validação foram usadas para avaliar os resultados dos métodos. Para os não iterativos foi usada a metodologia de classificação (holdout) e para o iterativo foram usadas classificação e validação cruzada.

A classificação usou 30 pacientes para o treinamento, os mesmos 30 pacientes da fase 3, e outros 42 (9 NCAN, 15 SCAN e 18 ECAN) para classificação e validação dos métodos. A descrição das características dos 72 pacientes (20 NCAN, 25 SCAN e 27 ECAN) é apresentada no Quadro 10.

Quadro 10: Características dos pacientes envolvidos no treinamento e teste do modelo classificador.

Dados	NCAN média ± dp	SCAN média ± dp	ECAN média ± dp
Idade (anos)	36.5 ± 6.74	33.25 ± 9.58	34.14 ± 7.68
Gênero (M/F)	9/11	14/11	16/11
Idade no diagnóstico (anos)	20.8 ± 1.55	18.9 ± 8.78	16.8 ± 9.94
Duração do diabetes (anos)	15.8 ± 10.34	14.29 ± 8.1	17.39 ± 9.6
BMI (units)	25.0 ± 3.23	24.7 ± 2.82	25.6 ± 3.96
HbA1c (mmol/mol)	70.9 ± 18.8	73.6 ± 11.2	70.0 ± 14.1

* Todas as diferenças foram não significativas. BMI = Índice de massa corporal; HbA1c = hemoglobina glicosada.

A validação cruzada k-fold é uma técnica computacional intensiva, que usa todas as amostras disponíveis como amostras de treinamento e teste (DUCHESNE e RÉMILLARD, 2005), sem acarretar na possibilidade de *overfitting*. Consiste em dividir o conjunto total de dados em k subconjuntos mutuamente exclusivos do mesmo tamanho e, a partir daí, um subconjunto é utilizado para teste e os k-1 restantes são utilizados para estimação dos parâmetros. Este processo é realizado k vezes alternando de forma circular o subconjunto de teste. Com isso, em relação a outros métodos de validação cruzada como Hold-out e Leave-One-Out consegue-se chegar a resultados mais precisos.

Assim, foram utilizadas todas as 72 amostras (pacientes), considerando o algoritmo de treinamento Bag e k igual a 10.

Foram gerados três índices para avaliação dos resultados do modelo quanto à validade (sensibilidade e especificidade) e quanto à reprodutibilidade (índice Kappa).

Para o cálculo de especificidade e de sensibilidade foram considerados três cenários: NCAN positivo e o restante negativo, SCAN positivo e o restante negativo, e ECAN positivo e o restante negativo.

Cabe lembrar que a sensibilidade é a probabilidade de um teste dar positivo na presença da doença, isto é, avalia a capacidade do teste detectar a doença quando ela está presente; e a especificidade é probabilidade de um teste dar negativo na ausência da doença, isto é, avalia a capacidade do teste afastar a doença quando ela está ausente (FERREIRA e PATINO, 2017).

O índice Kappa é uma métrica estatística bastante utilizada para problemas de classificação com mais de duas classes, nos quais medidas de precisão/recall podem não revelar completamente a performance do classificador (SOUZA E SILVA e PAES, 2012). Foi proposto por Jacob Cohen em 1960 e pode ser utilizado para descrever a intensidade da concordância entre testes de diagnóstico.

Esse coeficiente se baseia no número de respostas concordantes, mais precisamente, no número de casos cujo resultado é o mesmo entre os testes de diagnóstico. Quando utilizado para avaliar classificadores, em linhas gerais, o índice Kappa informa o quão melhor seu classificador está se saindo em relação ao desempenho de um classificador que simplesmente adivinha aleatoriamente de acordo com a frequência de cada classe (SOUZA E SILVA e PAES, 2012).

O índice Kappa é calculado conforme equações 2, 3 e 4, as quais baseiam-se nos resultados que podem ser extraídos de uma matriz de confusão, conforme Quadro 11.

$$\text{kappa} = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e} \quad (2)$$

Sendo P_o = Concordância total observada; P_e = Concordância esperada pelo simples acaso.

$$P_o = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^k M(C_i, C_i) \quad (3)$$

$$P_e = \frac{1}{n^2} \sum_{i=1}^k M(C_i, *) \times M(*, C_i) \quad (4)$$

Quadro 11: Matriz de Confusão para cálculo do índice Kappa.

		Teste de Diagnóstico 2			
		Classe 1	Classe 2	Classe 3	Totais
Teste de Diagnóstico 1	Classe 1	M(C ₁ , C ₁)	M(C ₁ , C ₂)	M(C ₁ , C ₃)	M(C ₁ , *)
	Classe 2	M(C ₂ , C ₁)	M(C ₂ , C ₂)	M(C ₂ , C ₃)	M(C ₂ , *)
	Classe 3	M(C ₃ , C ₁)	M(C ₃ , C ₂)	M(C ₃ , C ₃)	M(C ₃ , *)
	Totais	M(*, C ₁)	M(*, C ₂)	M(*, C ₃)	n

Fonte: Adaptado de (SOUZA E SILVA e PAES, 2012).

O resultado de Kappa é sempre menor ou igual a 1. Valores menores ou iguais a zero indicam que o classificador não consegue representar a realidade. Landis and Koch (1977) propuseram uma escala para a interpretação dos valores maiores do que zero (Quadro 12). No entanto, esta escala não é um consenso entre pesquisadores, principalmente para problemas na área da saúde, para os quais deve-se exigir maiores valores de concordância para assumir que o modelo é confiável.

Quadro 12: Escala de interpretação para o índice Kappa.

Kappa	Interpretação
< 0	Ausência de concordância
0 – 0,19	Concordância pobre
0,20 – 0,39	Concordância leve
0,40 – 0,59	Concordância moderada
0,60 – 0,79	Concordância substantiva
0,80 – 1,00	Concordância quase perfeita

Fonte: LANDIS e KOCH, 1977.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro resultado desse trabalho (Fase 1) foi o desenvolvimento de um software, através da plataforma Matlab (desenvolvedor MathWorks Inc, na versão R2015a), que possibilitasse o processamento de todos os sinais fisiológicos dos pacientes envolvidos no estudo, de forma a gerar todos os índices comumente utilizados na análise destes sinais, bem como possibilitar o estudo da interação entre eles em busca de novos índices ou novas formas de análise que auxiliasse na caracterização dos estágios da CAN em pacientes diabéticos.

Foram implementados algoritmos para a obtenção de 128 índices a partir das análises lineares, nos domínios do tempo e frequência, e não lineares das séries de VFC, VQT, VPA e respiração (Apêndice A). Apesar da existência de softwares comerciais que dispõem da possibilidade de obtenção de alguns índices, nem todos aqueles que foram encontrados na literatura estão disponíveis nos softwares encontrados. Dessa forma, julgou-se necessária a implementação de todos os índices numa única plataforma, de maneira que pudessem ser trabalhados de forma integrada.

Para aqueles índices encontrados em softwares comerciais, tais como o Nevrokard® e o Kubios®, os algoritmos implementados foram validados estatisticamente a partir Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey (ambos com nível de significância de 5%) para a comparação de médias. Nenhum dos índices implementados apresentou diferença significativa em relação ao software comercial em comparação.

A partir então da finalização do software deu-se início às próximas fases do estudo, análise exploratória e desenvolvimento do modelo classificador.

Cabe salientar que a discussão dos resultados obtidos nas próximas fases se deu apenas sobre os índices que apresentaram alguma diferença significativa entre as classes, de forma que pudessem contribuir na diferenciação do estágio da doença nos pacientes. No entanto, todos os índices implementados, mesmo aqueles que não apresentaram nenhuma diferença entre as classes, encontram-se listados no Apêndice A.

5.1 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS ÍNDICES TRADICIONAIS

Na Fase 2, buscou-se uma análise exploratória dos índices implementados para análise de variabilidade da frequência cardíaca, intervalo QT, pressão sanguínea e respiração, na expectativa de desenvolver um classificador de estágio da CAN em indivíduos diabéticos.

Considerando o primeiro cenário, a ANOVA resultou em apenas 8 (dos 128) índices com alguma diferença significativa, mas nenhum entre todas as classes. Este resultado encontra-se descrito no Quadro 13.

Quadro 13: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentaram alguma diferença significativa, considerando 3 classes de pacientes (classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “SCAN” e classe 3 = “ECAN”).

Parâmetro	Classe	Média ± desvio-padrão	Valor de p
Dispersão do intervalo QT	1	133,27 ± 56,15	*(1-2) 0,0443
	2	172,46 ± 58,67	(1-3) 0,2359
	3	163,86 ± 77,89	(2-3) 0,7832
LF norm (Amplitude T)	1	25,50 ± 14,01	(1-2) 0,2406
	2	31,20 ± 15,35	(1-3) 0,1092
	3	15,54 ± 16,33	*(2-3) 0,0473
HF norm (Amplitude T)	1	74,50 ± 14,01	(1-2) 0,2406
	2	68,80 ± 15,35	(1-3) 0,1092
	3	84,46 ± 16,33	*(2-3) 0,0472
QT/TQ	1	1,05 ± 0,24	(1-2) 0,3196
	2	1,13 ± 0,27	*(1-3) 0,0285
	3	1,28 ± 0,29	(2-3) 0,2559
TQ/RR	1	0,49 ± 0,05	(1-2) 0,3666
	2	0,48 ± 0,05	*(1-3) 0,0455
	3	0,45 ± 0,06	(2-3) 0,2377

As diferenças significativas foram sinalizadas com o símbolo “*”, nos valores de $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A dispersão do intervalo QT, definida como sendo a diferença entre o intervalo QT mais longo e o mais curto, a qual objetiva detectar diferenças/variações na ativação e recuperação ventricular, apresentou diferença significativa quando comparadas as classes 1 e 2 dos pacientes. Esses resultados parecem indicar que a modificação mais brusca nesse parâmetro pode ocorrer logo no início da doença, quando ainda está em estágio subclínico. Portanto, uma maior heterogeneidade da repolarização ventricular parece acontecer no início da doença e, a medida que outros fatores/mecanismos compensatórios podem passar a interferir, uma leve queda começa a acontecer. Cabe ressaltar que o padrão de alta heterogeneidade permanece na

fase da doença estabelecida, apenas com uma pequena queda que acaba por não resultar em diferença significativa com os que não possuem a doença, no entanto também não se diferencia daqueles que possuem em estágio subclínico.

Assim como o índice de dispersão do intervalo QT, a análise espectral da variação da amplitude da onda T, a qual apresentou diferença significativa, também procura quantificar a variabilidade na repolarização ventricular, a qual em indivíduos saudáveis é bastante pequena. Nos achados em relação a este parâmetro a diferença significativa ficou especificamente na comparação entre as classes 2 e 3. Ou seja, apesar de medir aproximadamente a mesma condição que os parâmetros anteriores, este parece indicar uma mudança mais brusca na medida em que o estágio da doença avança para o nível estabelecido.

O parâmetro QT/TQ procura quantificar a interação entre os períodos sistólicos e diastólicos do ciclo cardíaco, e o TQ/RR busca a quantificação do comportamento do período diastólico batimento a batimento. Levando em conta que o período diastólico é normalmente prejudicado em pacientes com CAN, a diferença significativa nesses índices é bastante esperada. Nesses resultados preliminares, a diferença significativa de ambos os parâmetros foi em relação às classes 1 e 3, ou seja, diferenciando os indivíduos sem a doença e com a doença (em estágio estabelecido).

No segundo e no terceiro cenário poucos foram também os parâmetros com diferença significativa e os resultados destas simulações encontram-se no Quadro 14 e no Quadro 15.

Quadro 14: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentou diferença significativa, considerando 2 classes de pacientes (classe 1 = “NCAN”, classe 2 = “Com CAN”).

Parâmetro	Média ± desvio-padrão		Valor de p
	Classe 1	Classe 2	
Dispersão do intervalo QT	133,27 ± 56,14	169,45 ± 64,09	*0,0401

Os indivíduos com SCAN e ECAN foram colocados na mesma classe. As diferenças significativas foram sinalizadas com o símbolo “*”, nos valores de $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Conforme apresentado no Quadro 14, percebe-se que, ao unir os pacientes com SCAN e com ECAN no mesmo grupo, o único parâmetro que se mostrou significativo na comparação foi a dispersão do intervalo QT. Este parâmetro já havia se mostrado significativo na análise com as três classes, diferenciando os da classe 1 (NCAN) com os da classe 2 (SCAN), mas não apresentando diferença quando comparados à classe 3 (ECAN). Este resultado indica que a magnitude da diferença revelada na primeira análise é suficiente para manter significativa a

diferença do parâmetro quando os indivíduos são unidos numa mesma classe. O que não acontece com os demais parâmetros que, para essa análise não permaneceram significativos.

Quadro 15: Resultado da análise univariada (Teste F) que apresentou diferença significativa, considerando 2 classes de pacientes (classe 1 = “Sem CAN estabelecida”, classe 2 = “ECAN”).

Parâmetro	Média ± Desvio-Padrão		Valor de p
	Classe 1	Classe 2	
sd-DBP	5,08 ± 3,25	9,76 ± 13,08	*0,0431
QT/TQ	1,07 ± 0,25	1,28 ± 0,29	*0,0465
TQ/RR	0,49 ± 0,05	0,45 ± 0,06	0,0603

Os indivíduos com SCAN e NCAN foram colocados na mesma classe. As diferenças significativas foram sinalizadas com o símbolo “*”, nos valores de $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

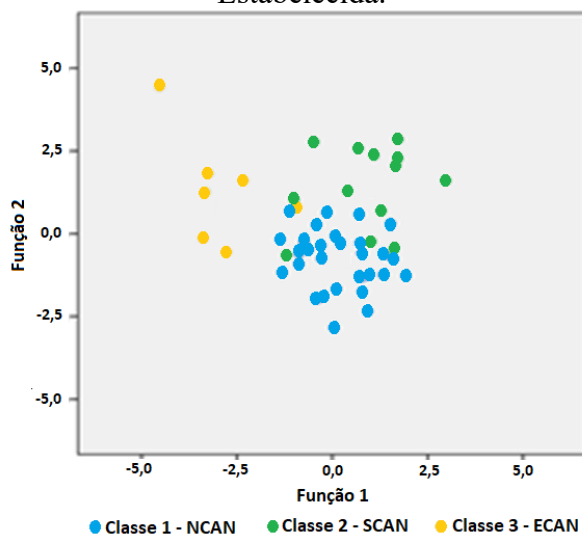
Na terceira simulação para análises, na qual foram unidos os pacientes NCAN e com SCAN no mesmo grupo, na intenção de diferenciá-los daqueles que possuem a doença estabelecida, conforme já era esperado apenas dois dos índices que tiveram diferença na primeira análise mantiveram sua significância nesta terceira simulação. Sendo que o QT/TQ se manteve com diferença significativa e o TQ/RR apresentou um resultado bastante próximo disto. Um terceiro índice que surgiu com diferença significativa nesta análise foi o desvio padrão da pressão sanguínea diastólica, o qual apresentou um valor de p igual a 0,0736 na primeira análise, quando comparou os pacientes NCAN com os que possuem ECAN. Ou seja, a partir do momento que os indivíduos com SCAN uniram-se aos NCAN, a diferença na variação da DPB para aqueles com a doença estabelecida tornou-se significativa, sendo que os pacientes com ECAN possuem uma maior variação na pressão diastólica.

Resumindo os dados encontrados a partir da análise univariada realizada através do teste *F*, pode-se concluir que considerando os indivíduos envolvidos no estudo, para a detecção/classificação do estágio da CAN, os parâmetros significativos foram: dispersão do intervalo QT, análise espectral do intervalo QT, análise espectral da amplitude da onda T, QT/TQ, TQ/RR e desvio-padrão da DBP. Sendo que praticamente todos referem-se ao intervalo QT extraído do ECG, e um deles ao sinal de pressão sanguínea extraído do sinal de PPG em conjunto com o sinal de ECG.

Na análise multivariada, com a utilização da técnica de análise discriminante, com o primeiro cenário, conforme a Figura 33 e o Quadro 16 ilustram, chegou-se a um percentual de

90% de acerto na classificação geral, de acordo com a classificação padrão ouro para cada paciente.

Figura 33: Representação do agrupamento dos sujeitos, de acordo com as três classes estabelecidas, sendo a classe 1 = Sem CAN, classe 2 = CAN Subclínica e classe 3 = CAN Estabelecida.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Quadro 16: Resultado da Classificação, por análise discriminante, dos sujeitos, conforme classificação padrão ouro considerada. Sendo Classe 1 = NCAN, Classe 2 = SCAN e Classe 3 = ECAN. Neste cenário 90 % dos casos foram classificados corretamente.

Classes	Associação ao Grupo			Total	
	Previsto				
	1	2	3		
Contagem	1	30	0	0	30
	2	4	9	0	13
	3	1	0	6	7
%	1	100,0	0,0	0,0	100,0
	2	30,8	69,2	0,0	100,0
	3	14,3	0,0	85,7	100,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Dentro de cada classe obteve-se uma taxa de acerto de 100% para os pacientes NCAN, 69,2% para os pacientes com SCAN e 85,7% para os pacientes com ECAN. Estes dados corroboram com a conclusão de que é principalmente na classe Subclínica que se encontra dificuldade na compreensão. A partir do momento que o paciente passa a possuir a CAN, do

seu início até o momento em que os sintomas clínicos apareçam a evolução da doença não segue um padrão linear.

Interessante ressaltar também, que nesse experimento, os quatro pacientes que tiveram sua classificação em desacordo com a classe Subclínica foram todos alocados na classe NCAN, o que evidencia a dificuldade de identificar o ponto inicial da doença. Em relação ao desacordo com a classificação do grupo com ECAN, que foi apenas um, este também foi alocado pelo método como se não tivesse a doença, o que pode sugerir que algum(ns) do(s) parâmetros considerados podem ter sua alteração não relacionada somente com a CAN, no entanto, estão influenciando na classificação matemática.

No segundo cenário, a análise discriminante foi realizada unindo os pacientes NCAN e SCAN (formando a classe 1), contra os pacientes com ECAN (formando a classe 2). Conforme o Quadro 17 ilustra, este cenário apresentou 96% de acerto na classificação geral. Considerando cada classe, obteve-se 100% de acerto na classe 1 (NCAN e SCAN) e 71,4% na classe 2 (ECAN).

Quadro 17: Resultado da Classificação dos sujeitos, por análise discriminante, conforme classificação padrão ouro considerada, unindo as classes NCAN e SCAN no mesmo grupo, contra a classe ECAN. Sendo Classe 1 = NCAN e SCAN e Classe 2 = ECAN. Esse cenário apresentou 96 % dos casos classificados corretamente.

Classes	Associação ao Grupo Previsto		Total
	1	2	
Contagem	1	43	43
	2	2	7
%	1	100,0	100,0
	2	28,6	71,4

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O Quadro 18 apresenta o resultado do terceiro cenário, o qual uniu os pacientes com SCAN e ECAN (formando a classe 2) contra os NCAN (formando a classe 1). Para este caso houve um percentual de 86% de acerto nas classificações gerais. Para a classe 1 foram 90% de acerto e para a classe 2 foram 80%. Este foi o único cenário que apresentou a possibilidade de falsos positivos, o que corrobora com a hipótese de que há uma evolução não linear separando os que não tem a doença dos que a tem em forma estabelecida. Nos pacientes envolvidos neste experimento, os que apresentaram erro na classificação estavam mais próximos dos sem a doença do que dos que a tem, sugerindo um estágio bem inicial da mesma.

Quadro 18: Resultado da Classificação dos sujeitos, por análise discriminante, conforme classificação padrão ouro considerada, unindo as classes ECAN e SCAN no mesmo grupo, contra a classe NCAN. Sendo Classe 1 = NCAN e Classe 2 = ECAN e SCAN. Neste cenário 86 % dos casos foram classificados corretamente.

Classes	Associação ao Grupo Previsto		Total	
	1	2		
Contagem	1	27	3	30
	2	4	16	20
%	1	90,0	10,0	100,0
	2	20,0	80,0	100,0

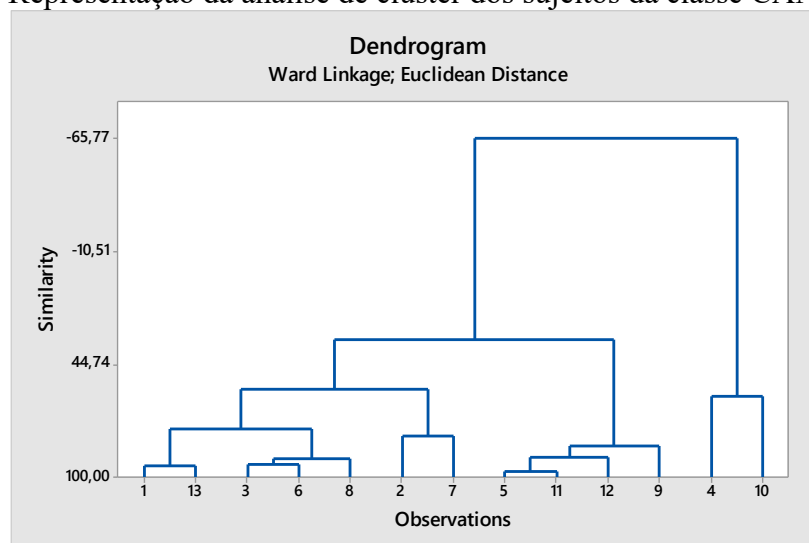
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A partir da análise dos três cenários considerados neste experimento, acredita-se que dentro do grupo considerado SCAN exista ainda uma possível subdivisão, quantificando o quão próximo estão dos que não tem CAN e o quão próximo estão dos que a tem na forma Estabelecida.

Nesse sentido, o próximo passo seguido foi uma análise da configuração dos pacientes que em sua classificação padrão ouro foram alocados como da classe SCAN.

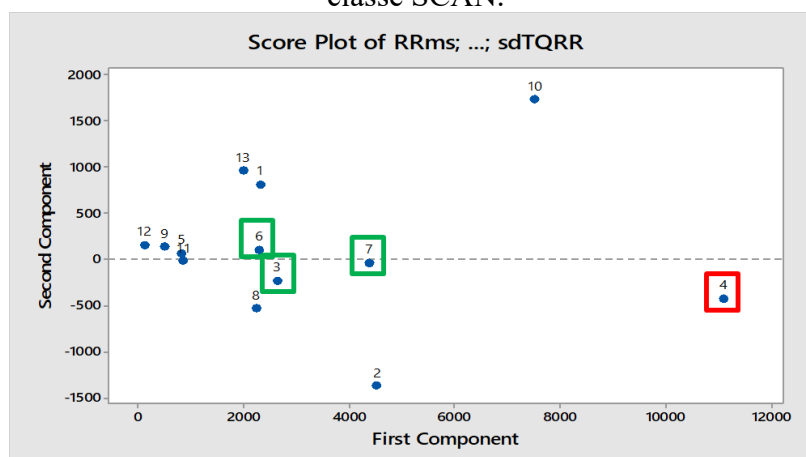
Os gráficos apresentados nas Figura 34, Figura 35 e Figura 36 ilustram a análise de cluster e de componentes principais realizadas nestes pacientes.

Figura 34: Representação da análise de cluster dos sujeitos da classe CAN Subclínica.



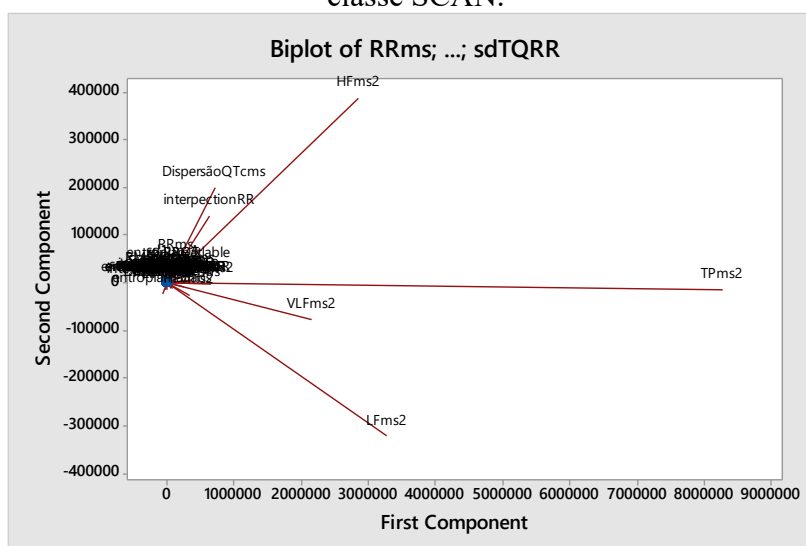
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 35: Representação dos escores da análise de componentes principais dos sujeitos da classe SCAN.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 36: Representação dos fatores da análise de componentes principais dos sujeitos da classe SCAN.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

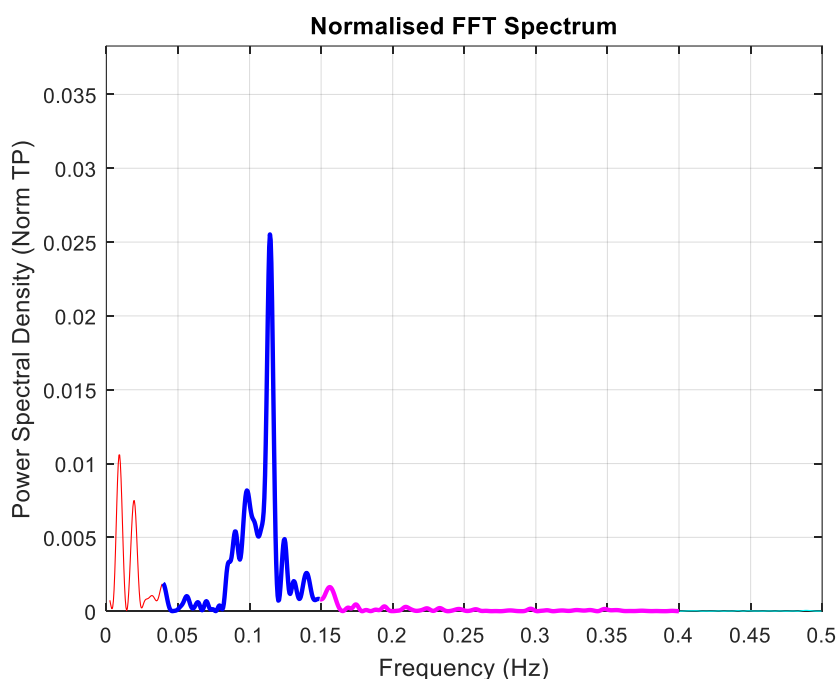
Identifica-se nesses resultados que realmente a distribuição no espaço dos pacientes com SCAN envolvidos no estudo não se apresenta de forma regular. Existem alguns subgrupos inseridos no grupo principal, o qual assim configura-se principalmente em função de três parâmetros relacionados à análise espectral do intervalo RR: Low Frequency (LF), High Frequency (HF) e Total Power (TP).

Analisando especificamente os indivíduos que não foram classificados corretamente como SCAN no grande grupo, percebe-se que tais indivíduos têm uma característica em comum em relação aos parâmetros da análise espectral. Quando a Total Power é alta, existe uma dominância da banda Low Frequency, e à medida que a Total Power diminui, os valores de

Low Frequency e High Frequency ficam mais próximos. Essa foi a característica dos indivíduos que não foram corretamente classificados no grande grupo: Um com alta TP e dominância de LF (Figura 37) e os outros três com baixa TP distribuída de forma semelhante entre LF e HF (Figura 38, Figura 39 e Figura 40).

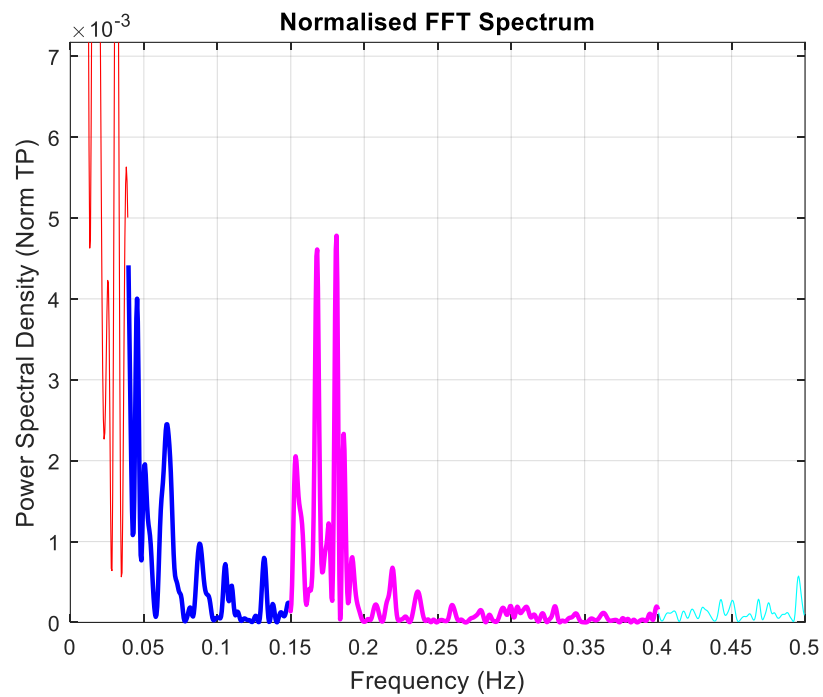
Fisiologicamente, pode-se compreender que nesta fase ainda não clínica, a evolução da doença não segue uma relação linear. Para os três indivíduos com LF e HF equivalentes, justamente este indicio pode ter feito o método considerá-los semelhantes aos que não possuem a doença, pois na condição de saudáveis existe a evidência de um balanço entre os sistemas simpático e parassimpático, o qual pode ser estimado pela razão entre LF e HF. No entanto, para este três paciente os valores de TP, LF e HF foram mais baixos, o que pode ser indicativo de algo anormal para quem não possui CAN. Já para o outro paciente que teve alta TP, este pode ter sido o indicativo de normalidade, juntamente com valores altos de LF e HF. No entanto, a predominância de LF indica que o sistema parassimpático não está exercendo sua função de forma correta e o simpático está superestimulado em tentativa de compensação.

Figura 37: Análise Espectral do Paciente A.



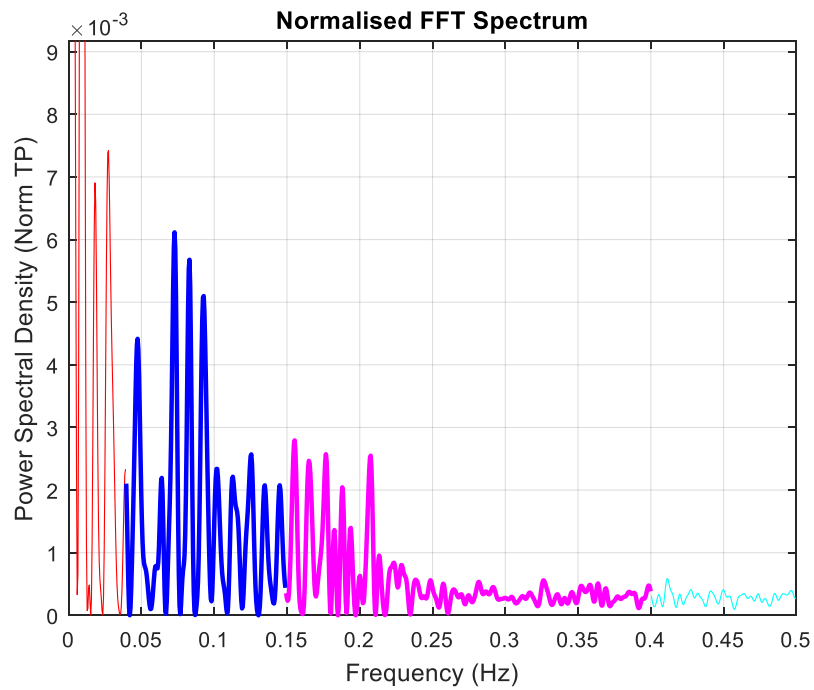
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 38: Análise Espectral do Paciente B.



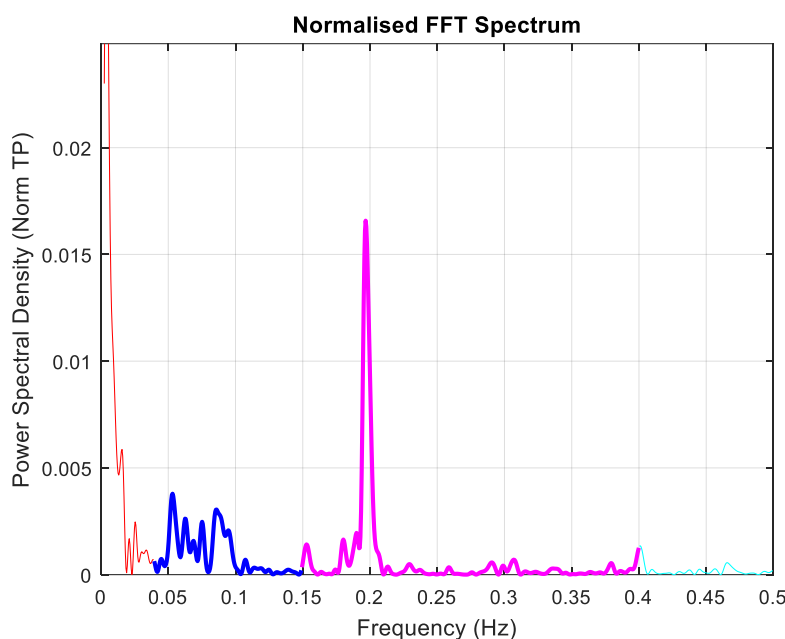
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 39: Análise Espectral do Paciente C.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 40: Análise Espectral do Paciente D.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

5.2 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE BRS COM DIFERENTES *LAGS*

Na Fase 3 do estudo foram conduzidas análises exploratórias sobre índices extraídos da análise de BRS, considerando *lags* de 1 a 10. O Quadro 19 mostra os resultados da ANOVA para cada uma das variáveis (índices obtidos), considerando um nível de significância de 0,05. Os resultados de *p* mostram que apenas um dos índices (quantidade de sequências do mais alto BRS) não apresentou diferença significativa entre os grupos (comparações de teste post-hoc de Tukey a 5% de erro alfa). Todas as outras variáveis apresentaram diferença significativa entre a comparação de pacientes NCAN e ECAN. Para três variáveis (Maior valor BRS, BRS da maior quantidade de sequências e Lag do mais alto BRS) foi possível diferenciar os pacientes NCAN e aqueles com SCAN e para duas variáveis (Maior quantidade de sequências e Lag da maior quantidade de sequências) foi possível diferenciar pacientes com SCAN de pacientes com ECAN. Ou seja, de forma univariada não é possível diferenciar os três grupos de pacientes, no entanto, indica-se com estes resultados que a associação de índices, de forma não linear pode auxiliar nesta diferenciação.

Quadro 19: Resultados da ANOVA one-way de três níveis (NCAN, SCAN e ECAN) para cada índice calculado.

	NCAN Média ± dp	SCAN Média ± dp	ECAN Média ± dp
Maior valor BRS	31.8 ± 6.2 * [^]	17.8 ± 7.79 #	11.2 ± 4.7 #
Maior quantidade de sequências	38.3 ± 18.3 [^]	45.9 ± 11.3 [^]	16.8 ± 7.5 #**
Quantidade de sequências do mais alto BRS	7.3 ± 4.3	8.8 ± 5.9	7.4 ± 4.3
BRS da maior quantidade de sequências	21.9 ± 4.4 * [^]	10.8 ± 2.6 #	7.1 ± 2.5 #
Lag do mais alto BRS	4.5 ± 2.4 * [^]	8.0 ± 2.7 #	7.4 ± 1.7 #
Lag da maior quantidade de sequências	0 ± 0.0 [^]	0.11 ± 0.3 [^]	2.1 ± 2.5 #**
RR	1030 ± 136.2 * [^]	839 ± 64.3 #	801 ± 5.2 #
SBP	124 ± 15	128 ± 12.8	124 ± 7.8

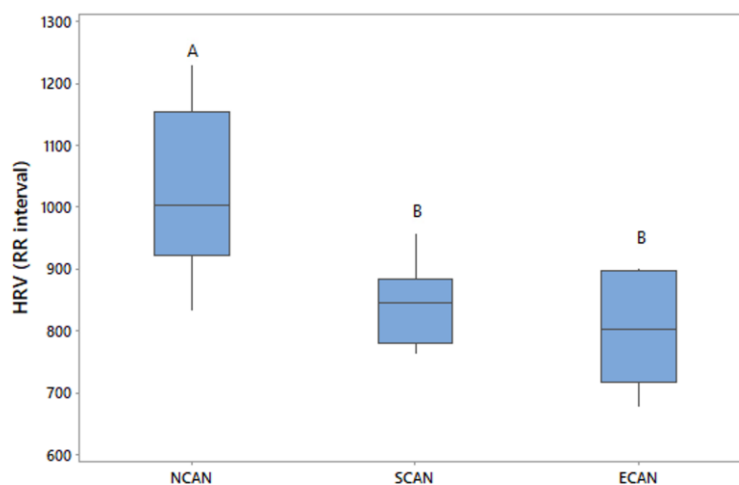
* significativamente diferente de SCAN; [^] significativamente diferente de ECAN; # significativamente diferente de NCAN; para valores de $p < 0,05$ considerados significantes.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A diferença da VFC (média dos intervalos RR) entre os grupos não foi significativa apenas entre os indivíduos com SCAN e ECAN, o que reforça a ideia de que para pacientes que estão doentes (em qualquer fase da CAN) a VFC é significativamente reduzida. No entanto, para separar os pacientes nos estágios subclínicos e estabelecidos, apenas esse índice não é suficiente.

A Figura 41, a Figura 42 e a Figura 43 apresentam o boxplot da comparação entre os pacientes de acordo com as variáveis estudadas. Os rótulos (A e B) em cada caixa mostram a divisão significativa dos grupos. Para SBP, nenhum boxplot foi gerado porque não houve diferença significativa entre nenhuma das comparações.

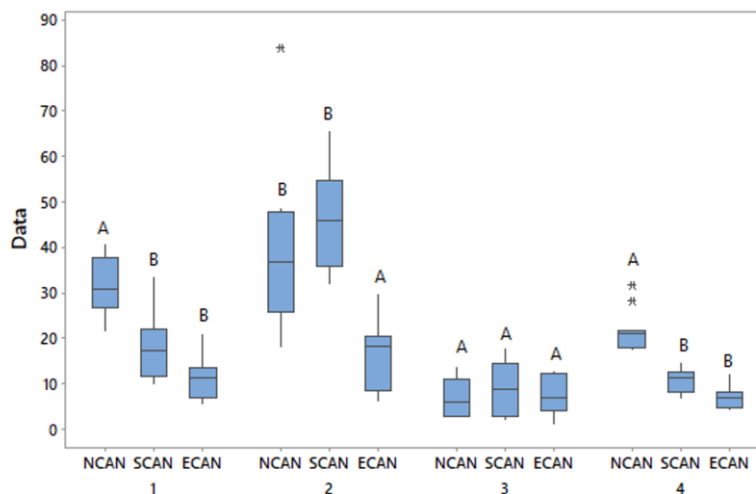
Figura 41: Boxplot dos valores de intervalos RR para os diferentes grupos de pacientes.



Os rótulos “A” e “B” indicam que os valores de RR dos pacientes NCAN são significativamente diferentes daqueles com SCAN ($p = 0.001$) e daqueles com ECAN ($p < 0.001$). Não houve diferença significativa entre os pacientes com SCAN e com ECAN.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

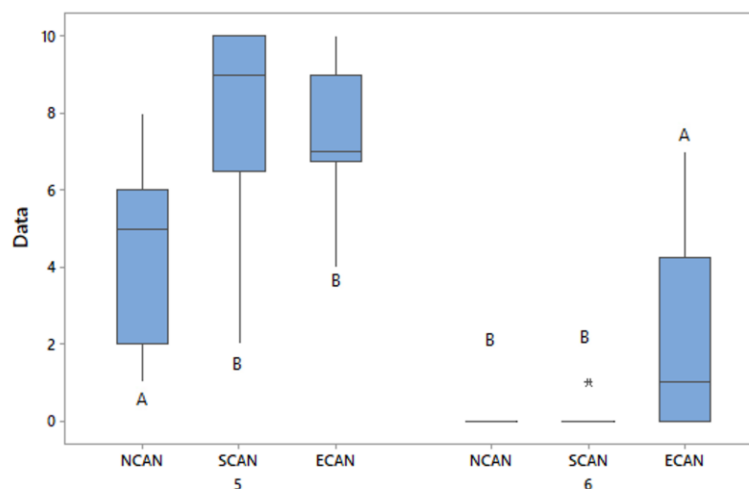
Figura 42: Boxplot dos índices “maior valor BRS (1),” “maior quantidade de seqüências (2),” “quantidade de seqüências do mais alto BRS (3),” e “BRS da maior quantidade de seqüências (4)” para os diferentes grupos de pacientes.



Os rótulos “A” e “B” indicam as diferenças significativas. Para (1), pacientes NCAN foram significativamente diferentes dos com SCAN ($p < 0.001$) e dos com ECAN ($p < 0.001$). Para (2), pacientes com ECAN forma significativamente diferentes dos pacientes com SCAN ($p < 0.001$) e dos NCAN ($p = 0.003$). Para (3), não houve diferença significativa entre nenhum dos grupos. Para (4), pacientes NCAN foram significativamente diferentes dos com SCAN ($p < 0.001$) e dos com ECAN ($p < 0.001$). Os símbolos * indicam a presença de três amostras outliers que foram consideradas no estudo.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 43: Boxplot dos índices “lag do mais alto BRS (5)” e “lag da maior quantidade de sequências (6)” para os diferentes grupos de pacientes.



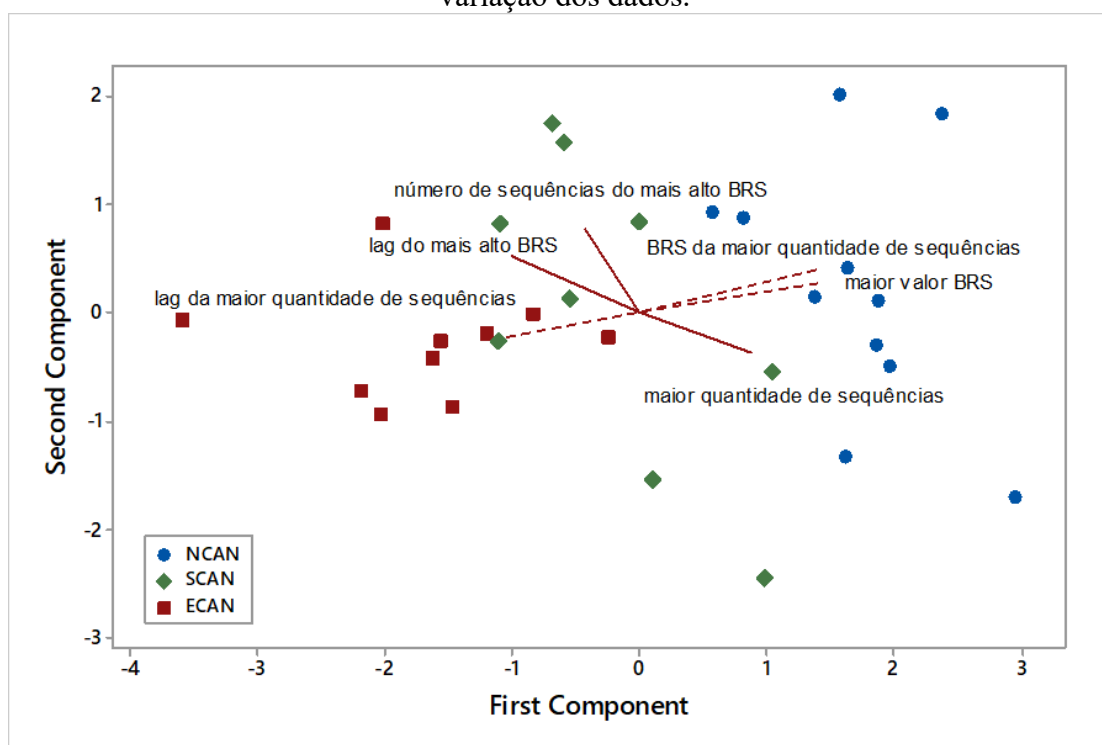
Os rótulos “A” e “B” indicam as diferenças significativas. Para (5), pacientes NCAN foram significativamente diferentes dos pacientes com SCAN ($p = 0.007$) e dos pacientes com ECAN ($p = 0.024$). Para (6), pacientes com ECAN foram significativamente diferentes dos pacientes com SCAN ($p < 0.001$) e dos NCAN ($p < 0.001$). O símbolo * indica uma amostra outlier que foi considerada no estudo.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para avaliar a possibilidade de diferenciação dos grupos de pacientes considerando a associação de índices, foi realizada inicialmente uma análise de variância multivariada (MANOVA). Como resultado da MANOVA foi obtido um Wilks λ (lâmbda de Wilk's) significativo < 0.001 . Ou seja, quando se considera a interação entre as variáveis, torna-se possível diferenciar os grupos de pacientes. Assim, aplicou-se a análise de componentes principais para entender a estrutura/dimensões que podem explicar a diferenciação dos grupos, ou seja, enfatizar a variação e identificar padrões no conjunto de dados.

A Figura 44 mostra o gráfico resultante da análise de componentes principais. Os pontos representam a dispersão dos pacientes de acordo com os escores das primeira e segunda componentes principais, as quais explicam 70% da variação dos mesmos. Os vetores indicam o peso que as variáveis exercem sobre as amostras.

Figura 44: Dispersão bidimensional dos pacientes e vetores dos pesos das variáveis de acordo com as duas primeiras componentes principais, explicando aproximadamente 70% da variação dos dados.



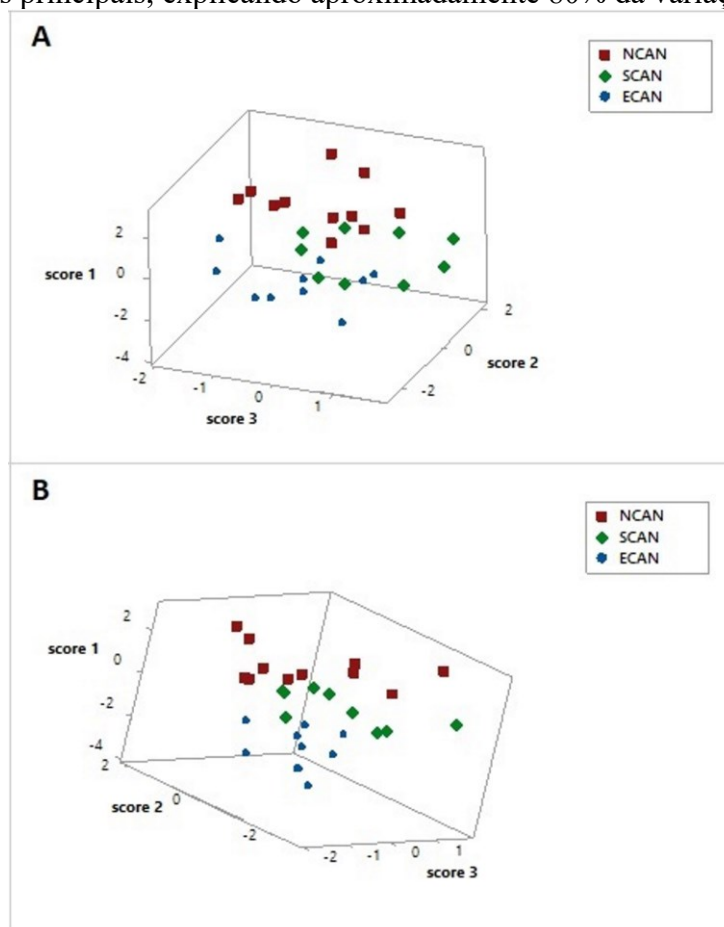
Pacientes NCAN, representados pelos quadrados vermelhos, foram posicionados nos segundo e quarto quadrantes e os pacientes com ECAN, representados pelos círculos azuis, foram posicionados nos primeiro e terceiro quadrantes. Os pacientes com SCAN, representados pelos losangos verdes, foram posicionados entre os pacientes NCAN e com ECAN.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Foi possível identificar que as variáveis "maior valor BRS", "BRS da maior quantidade de sequências" e "lag da maior quantidade de sequências" são as que têm maior efeito sobre a primeira componente principal (49% da variação). Os índices "quantidade de sequências do mais alto BRS" e "lag do mais alto BRS" são aquelas que têm maior efeito na segunda componente principal (21% da variação). Os índices "quantidade de sequências do mais alto BRS" e "maior quantidade de sequências" são as que têm o maior efeito na terceira componente principal (10% da variação).

Os gráficos da Figura 45 mostram a dispersão dos pacientes em relação aos escores das três primeiras componentes principais, explicando aproximadamente 80% da variação dos dados. A inclusão da terceira componente principal foi realizada apenas para mostrar a dispersão tridimensional dos pacientes em relação aos seus grupos, uma vez que os 10% da terceira componente principal não afetaram a dispersão dos pacientes. Ou seja, com apenas duas componentes principais, já foi possível obter o agrupamento dos pacientes de acordo com seu estágio de CAN.

Figura 45: Dispersão tridimensional dos pacientes de acordo com as três primeiras componentes principais, explicando aproximadamente 80% da variação dos dados.



A parte B apresenta o mesmo gráfico da parte A, apenas rotacionado para uma melhor visualização.
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Assim, como pode ser visto nos gráficos da Figura 44 e da Figura 45, é possível separar os pacientes nos três grupos definidos. As variáveis "maior valor BRS", "BRS da maior quantidade de sequências" e "lag da maior quantidade de sequências" juntas separam os pacientes NCAN dos com ECAN, e as variáveis "quantidade de sequências do mais alto BRS", "lag do mais alto BRS" e "maior quantidade de sequências" juntas separam os pacientes com SCAN dos demais.

As três variáveis que apresentaram potencial para separar os pacientes NCAN e com ECAN (maior valor BRS, BRS da maior quantidade de sequências e lag da maior quantidade de sequências) podem ser fisiologicamente validadas, uma vez que os indivíduos diabéticos que não possuem sistema nervoso autônomo afetado devem apresentar o maior número de sequências (reações do sistema nervoso autônomo) imediatamente após os estímulos naturais do ambiente, com o mínimo de atraso. Tal característica representa boas condições de reação, já que o indivíduo está sempre recebendo estímulos do ambiente que alteram suas condições de

pressão arterial. Além do grande número de reações e rápido início de ação, elas também devem ser rapidamente terminadas, ou seja, o valor do BRS deve ser alto, resultando em rápida regulação do sistema nervoso autônomo e retorno às condições de homeostase.

Como mencionado anteriormente, a fim de separar os indivíduos com a doença em dois grupos, indicando o estágio da doença (subclínica ou estabelecida), as variáveis que contribuíram para serem adicionadas às demais foram "quantidade de sequências do mais alto BRS", "lag do mais alto BRS" e "maior quantidade de sequências". A ideia inicial de que pacientes com SCAN ainda podem apresentar reações do sistema nervoso autônomo, no entanto, tardia e lenta pode ser considerada confirmada com esses resultados. Esses índices indicam que o que separou os pacientes de acordo com o estágio da doença foi a quantidade de reações que o sistema nervoso autônomo teve durante o período de registro dos sinais, ou seja, à medida que a doença progride, é possível identificar o sistema nervoso autônomo prejudicado.

É bem sabido que se deve ter cuidado na utilização do método de sequência para estimar o BRS com defasagens maiores que 1, pois essa estimativa pode não levar em consideração apenas a rápida resposta do sistema nervoso autônomo, mas também a influência de outros diferentes mecanismos regulatórios da pressão sistólica, pressão arterial e frequência cardíaca (LAUDE, BAUDRIE e ELGHOZI, 2009; FAES, NOLLO e PORTA, 2013). No entanto, os resultados encontrados neste trabalho demonstram que, pelo menos, poder-se-ia considerar que os pacientes com SCAN apresentam um padrão de comportamento diferente e detectável em relação aos outros dois grupos de pacientes, quando a análise do BRS é realizada com defasagens (lag) diferentes. Os resultados das variáveis significativas caracterizam o padrão que diferencia os pacientes NCAN do ECAN centrado em 0 e 1 defasagens. Por outro lado, os pacientes com SCAN afastaram-se desse comportamento, sugerindo um distúrbio na ação da frequência cardíaca do sistema nervoso autônomo e na regulação da pressão arterial.

Assim, pode-se afirmar que considerar o atraso da reação no sinal da VFC em função de modificações da PAS pode ser fundamental para a detecção da CAN ainda em seu estágio subclínico. Pode-se afirmar ainda, que os índices extraídos da análise de BRS considerando lags de 1 a 10, podem ser utilizados na tentativa de implementação de um classificador da CAN em pacientes diabéticos.

5.3 IMPLEMENTAÇÃO DE UM CLASSIFICADOR COMPUTACIONAL

A partir dos resultados significativos obtidos com a análise exploratória da Fase 3, partiu-se para a tentativa de implementação de um classificador que auxiliasse como *screening* para detecção de CAN e seu estágio.

A ideia inicial deste trabalho era a implementação de um classificador que usasse como entrada índices já conhecidos na literatura, obtidos de análises nos domínios de tempo e frequência dos sinais de ECG, PPG e respiração. No entanto, com os resultados promissores encontrados com a sugestão de novos índices obtidos da análise de BRS, que une os sinais de ECG e PPG, a metodologia seguida foi a implementação de um classificador que levasse em conta esses novos índices propostos, os quais apresentaram poder estatístico e coerência fisiológica suficientes para serem utilizados.

Utilizando os seis índices propostos como variáveis preditoras, foram testados vários métodos de aprendizagem de classificação (*Machine Learning*) a fim de verificar um que mais se adequasse ao problema específico.

Foram utilizados os mesmos 30 pacientes envolvidos no estudo do BRS, a fim de buscar a classificação dos pacientes em grupos de acordo com o estágio da CAN. Todos os métodos foram implementados no Matlab, do desenvolvedor MathWorks Inc, na versão R2015a.

Dos três métodos implementados (Análise Discriminante, Árvore de Decisão e método do Vizinheiro mais próximo), o de Análise Discriminante foi o que apresentou melhor resultado de classificação com cross-validação. O percentual de acerto foi de 96,7 %, com um único paciente não sendo classificado conforme grupo de origem. O Quadro 20 apresenta os resultados de classificação de todos os pacientes que apresentaram percentual de probabilidade de pertencerem ao grupo verdadeiro abaixo de 93 %, incluindo o paciente com erro de classificação.

Como pode ser visto, o Paciente 13, que matematicamente não foi classificado como sendo do grupo de origem, foi o único paciente que teve suas probabilidades de pertencer a dois grupos muito semelhantes, sem diferença estatística, com o grupo de origem (NCAN) numericamente maior, mas muito próxima do grupo SCAN. Este paciente estaria numa linha tênue entre os dois estágios da doença, o que sugeriria um paciente pré-SCAN que, assim como um pré-diabético, já deveria ser tratado com os devidos cuidados. Ou seja, esse erro de classificação encontrado revelou possivelmente o período de transição de um estágio da doença para o seu subsequente.

Quadro 20: Classificação do método de análise discriminante sem e com cross-validação.

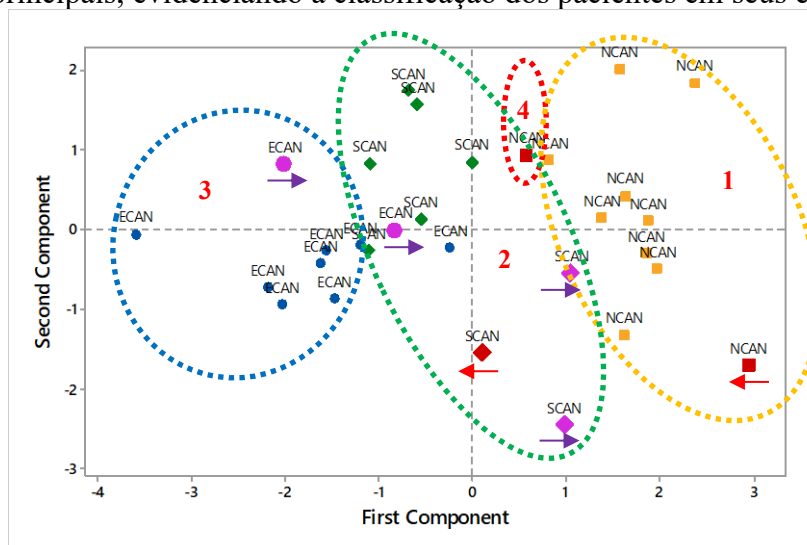
Paciente	GV	GP	GX	Grupos	Probabilidade	
					P	X
3	ECAN	ECAN	ECAN	NCAN	0,00	0,00
				SCAN	0,06	0,07
				ECAN	0,94	0,93
9	ECAN	ECAN	ECAN	NCAN	0,00	0,00
				SCAN	0,02	0,10
				ECAN	0,98	0,90
13 **	NCAN	NCAN	SCAN	NCAN	0,56	0,38
				SCAN	0,44	0,62
				ECAN	0,00	0,00
16	SCAN	SCAN	SCAN	NCAN	0,01	0,19
				SCAN	0,99	0,81
				ECAN	0,00	0,00
22	SCAN	SCAN	SCAN	NCAN	0,01	0,30
				SCAN	0,99	0,69
				ECAN	0,00	0,01
24	SCAN	SCAN	SCAN	NCAN	0,00	0,00
				SCAN	0,93	0,82
				ECAN	0,07	0,18
27	NCAN	NCAN	NCAN	NCAN	1,00	0,53
				SCAN	0,00	0,47
				ECAN	0,00	0,00

GV: grupo verdadeiro, GP: grupo predito, GX: grupo predito com cross-validação, P: probabilidade sem cross-validação, X: probabilidade com cross-validação.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O gráfico da Figura 46 é o mesmo resultante de análise de componentes principais, já apresentado anteriormente, no entanto, evidenciando o paciente com erro de classificação (Grupo 4), circulado em vermelho, bem como os demais pacientes exibidos no Quadro 20, com percentuais menores que 93 % de acerto de seu grupo de origem. Os demais pacientes do Quadro 20 estão em tamanho maior e preenchidos com cor vermelha e cor lilás.

Figura 46: Dispersão bidimensional dos pacientes de acordo com as duas primeiras componentes principais, evidenciando a classificação dos pacientes em seus estágios da CAN.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

As duas cores foram escolhidas para demonstrar a condição de cada um desses pacientes em relação ao estágio da doença em que se encontram, de acordo com as probabilidades calculadas pelo método. Aqueles pacientes em lilás são os pacientes que provavelmente entraram recentemente no estágio atual, ou seja, estão no período inicial do estágio. Já os pacientes em vermelho apresentam características de estarem próximos a progredir para o próximo estágio, piorando sua classificação de CAN. Obviamente que a transição de um estágio para o próximo, ou seja, a evolução da doença, não acontece de forma linear e depende de cada paciente. No entanto saber se ele está no início ou final de cada estágio pode ser um indicador importante para a definição de tratamento para cada um dos pacientes.

Outros 42 pacientes (9 NCAN, 15 SCAN e 18 ECAN) foram testados de acordo com os três classificadores gerados, a fim de auxiliar na possível validação dos métodos. Novamente a Análise Discriminante apresentou melhor resultado, agora com a base de dados de validação, com 2 erros em 42 pacientes (~ 4 %) e com 5 erros em 42 pacientes (~ 11 %) para os outros dois métodos.

Como o objetivo do trabalho é classificar o estágio do paciente e não somente dizer se tem ou não CAN, para validação da metodologia, foram gerados os valores de sensibilidade e especificidade levando em conta três cenários de verdadeiro positivo: (a) NCAN, (b) SCAN e (c) ECAN. Os dados do Quadro 21 são referentes ao método de Análise Discriminante.

Quadro 21: Resultado da classificação da base de dados de validação usando o modelo de análise discriminante.

Cenário	(a) NCAN considerado positivo	(b) SCAN considerado positivo	(c) ECAN considerado positivo
VP	9	15	17
VN	33	25	23
FP	0	0	2
FN	0	2	0
Sensibilidade	100 %	88 %	100 %
Especificidade	100 %	100 %	92 %

VP (Verdadeiro Positivo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo de origem. FN (Falso Negativo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. VN: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. FP: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo do cenário. Sensibilidade: probabilidade de um paciente positivo ter seu diagnóstico positivo. Especificidade: probabilidade de um paciente negativo ter seu diagnóstico negativo.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Como pode ser observado nos resultados de sensibilidade e especificidade, o modelo gerado apresentou apenas dois erros de classificação tanto no cenário b quanto no cenário c, e nenhum erro no cenário a. Sobre o cenário a, a não obtenção de erro de classificação indica que a separação entre doentes e não doentes (com e sem CAN) foi de 100 %. Os dois erros de classificação obtidos nos cenários b e c foram de pacientes que estavam na fase de transição de um estágio para o outro, sendo que ambos apresentam maior probabilidade de terem avançado para o estágio ECAN, no entanto, a classificação “padrão ouro” é de SCAN. A partir dos valores de probabilidade de pertencer a cada grupo, fornecidos pelo método, é possível advertir os pacientes que demonstrem estar em fase de transição entre grupos. A detecção de um determinado estágio da doença mais avançado do que se tinha conhecimento pode indicar, vide probabilidades, uma fase inicial do novo estágio. Assim como, mesmo chegando numa detecção idêntica a que se tinha conhecimento, também vide probabilidades, pode-se observar uma tendência à mudança de estágio.

Importante ressaltar que em nenhum dos “erros” de classificação a doença foi regredida, e sua progressão sempre foi baseada em probabilidades, num dos casos, não significativamente distintas para os dois estágios. Nesse sentido, acredita-se que esta classificação realizada pelo método multivariado possa indicar com maior exatidão o real

estágio do paciente, considerando uma possível transição para o estágio ECAN, ainda em fase inicial, não detectada pelo método “padrão ouro” hoje utilizado.

Em busca de aprimorar esses resultados de predição, foi implementado outro método de aprendizagem de classificação, denominado Random Forest (Floresta de Decisão), o qual se baseia numa rede iterativa de árvores de decisão que podem resultar numa melhor qualidade de classificação. Dos 5 algoritmos de treinamento testados (Totalbust, LPBust, AdaBoostM2, RUSBust e Bag), Bag foi o que apresentou melhor resultado, considerando 200 árvores na rede. A quantidade de 200 árvores foi estabelecida em função do erro de classificação passar a ser constante depois desta quantidade.

Para uma base de dados de validação com 42 pacientes (9 NCAN, 15 SCAN e 18 ECAN), apenas 1 erro de classificação foi obtido (~ 2 %). Para cálculo de sensibilidade e especificidade, foram usados os mesmos cenários do método de Análise Discriminante e os resultados são apresentados no Quadro 22.

Quadro 22: Resultado da classificação da base de dados de validação usando a rede de aprendizagem Floresta de Decisão, treinada com o algoritmo Bag.

Cenário	(a) NCAN considerado positivo	(b) SCAN considerado positivo	(c) ECAN considerado positivo
VP	9	15	17
VN	33	26	24
FP	0	0	1
FN	0	1	0
Sensibilidade	100 %	94 %	100 %
Especificidade	100 %	100 %	96 %

VP (Verdadeiro Positivo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo de origem. FN (Falso Negativo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. VN: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. FP: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo do cenário. Sensibilidade: probabilidade de um paciente positivo ter seu diagnóstico positivo. Especificidade: probabilidade de um paciente negativo ter seu diagnóstico negativo.

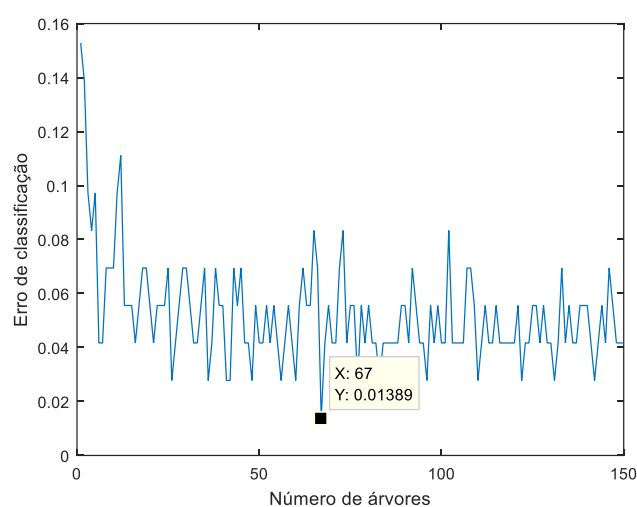
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

O erro de classificação foi novamente a predição de um estágio da doença mais avançado do que se tinha conhecimento. Um paciente originalmente classificado como SCAN foi diagnosticado como ECAN pelo modelo.

Ainda utilizando a técnica de floresta de decisão, foi implementada outra metodologia para geração e validação do modelo, utilizando cross-validação pelo método k-fold.

Assim, foram utilizadas todas as 72 amostras (pacientes), considerando o algoritmo de treinamento Bag e k igual a 10. Para definir a quantidade de árvores, foram calculados o erro de classificação para a quantidade de árvores de 1 a 150 e identificada a quantidade com menor taxa de erro. Nesse sentido, com 0,013 de taxa de erro de classificação, foi definida a quantidade de 67 árvores para treinamento da floresta de decisão (Figura 47).

Figura 47: Erros de classificação calculados para diferentes quantidades de árvores (1 a 150) na floresta de decisão.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Comparada à metodologia que usou base de treinamento (30 pacientes) e base de validação (42 pacientes), esta nova metodologia com validação cruzada (72 pacientes) apresentou um erro dentre os 72 pacientes analisados (0,013). Ou seja, acarretou numa menor taxa de erro de classificação. O erro foi exatamente um dos mesmos da metodologia anterior, um paciente predito como ECAN, quando seu estágio segundo padrão ouro era de SCAN. Conforme pode ser visto no Quadro 23, o paciente 83 apresentou 89% de probabilidade de pertencer ao grupo dos pacientes com ECAN. Ou seja, as características deste paciente em relação às variáveis estudadas são semelhantes aos pacientes que possuem ECAN, o que pode indicar um possível erro de classificação em relação ao padrão ouro utilizado para identificar o estágio de CAN do paciente. O Quadro 23 apresenta os resultados de probabilidade de cada estágio para todos os pacientes com menos de 85% de chance de pertencer a um único grupo, o que pode ser considerado importante para detectar fases de transição entre estágios.

Quadro 23: Pacientes que apresentaram probabilidade menor que 90% de pertencerem a um único estágio da CAN.

Paciente	Estágio Predito	Estágio Original	p(NCAN)	p(SCAN)	p(ECAN)
2	SCAN	SCAN	0,0000	0,8209	0,1791
6	ECAN	ECAN	0,0162	0,4847	0,4989
13	NCAN	NCAN	0,8108	0,1891	0,0000
17	SCAN	SCAN	0,2713	0,6987	0,0298
22	SCAN	SCAN	0,2372	0,6458	0,1169
28	SCAN	SCAN	0,0186	0,8445	0,1368
30	NCAN	NCAN	0,8209	0,1044	0,0746
38	NCAN	NCAN	0,7036	0,2558	0,0405
47	SCAN	SCAN	0,0132	0,5912	0,3955
49	SCAN	SCAN	0,2388	0,7014	0,0597
52	NCAN	NCAN	0,8298	0,1701	0,0000
67	SCAN	SCAN	0,0757	0,4840	0,4401
68	ECAN	ECAN	0,0000	0,2134	0,7865
69	SCAN	SCAN	0,0298	0,6978	0,2723
78	ECAN	ECAN	0,0149	0,4462	0,5388
79	SCAN	SCAN	0,0000	0,8080	0,1919
82	NCAN	NCAN	0,8428	0,1372	0,0199
83	SCAN	ECAN	0,0000	0,1044	0,8955
84	SCAN	SCAN	0,0032	0,8324	0,1643
85	ECAN	ECAN	0,2399	0,3783	0,3817
86	SCAN	SCAN	0,0000	0,7684	0,2315
88	SCAN	SCAN	0,0169	0,6879	0,2951

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Diante dos resultados que podem ser observados no Quadro 23, fica clara a importância de uma ferramenta que não somente classifique um paciente de acordo com seu estágio da doença, mas que também possa auxiliar na complementação desse diagnóstico, identificando em que fase do estágio o paciente se encontra. Assim, torna-se possível avaliar mais consistentemente a evolução da CAN.

Todos os pacientes evidenciados em negrito apresentaram probabilidades de estarem próximos de acessarem o próximo estágio da doença (paciente 67), ou de terem iniciado um novo estágio recentemente (pacientes 6, 78 e 85). Destaca-se o paciente 85, que apresenta probabilidades semelhantes para os três estágios, no entanto, pertence ao grupo dos ECAN. Estatisticamente, o fato do estágio mais grave não ter uma grande diferença do menos grave, pode indicar um acometimento e avanço rápido da CAN a partir do diagnóstico de diabetes, já que o paciente apresenta diabetes há apenas 4 anos e tem 33 anos de idade, um perfil para o qual não era esperado encontrar a CAN em estado estabelecido. Ao contrário do paciente 67 que já apresenta diabetes há 29 anos e ainda está no estágio subclínico, começando a apresentar potencial de avanço para o estágio ECAN. Os pacientes 6 e 78 também foram destacados por terem probabilidades semelhantes de pertencerem aos estágios SCAN e ECAN, sendo ligeiramente maior a probabilidade de ECAN. Ambos os casos foram classificados de acordo com o padrão-ouro, no entanto os valores de probabilidade podem permitir subsídio ao profissional da saúde, para compreender de forma mais específica a condição do paciente e definição de tratamento.

Em relação à idade e ao tempo de diabetes dos pacientes estudados, esse trabalho não encontrou nenhuma relação com o estágio da CAN. O Quadro 24 apresenta os valores de média e desvio padrão destas variáveis, demonstrando que a diferença delas entre os estágios da CAN é não significativa.

Quadro 24: Idade e tempo de diabetes dos 72 pacientes analisados.

Estágio	Idade (Média ± Desvio Padrão)	Tempo de diabetes (Média ± Desvio Padrão)
NCAN	35,85 ± 6,67	15,60 ± 9,79
SCAN	32,00 ± 9,55	12,83 ± 8,57
ECAN	35,55 ± 7,62	18,55 ± 9,08

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para avaliar a validade do modelo, foram calculados os índices de sensibilidade e especificidade, considerando os três cenários já antes explanados na seção de Metodologia. Tais resultados são apresentados no Quadro 25.

Quadro 25: Resultado da classificação da base de dados total (72 pacientes) com cross-validação realizada com a rede de aprendizagem Floresta de Decisão, treinada com o algoritmo Bag com 67 árvores.

Cenário	(a) NCAN considerado positivo	(b) SCAN considerado positivo	(c) ECAN considerado positivo
VP	20	24	27
VN	52	47	44
FP	0	0	1
FN	0	1	0
Sensibilidade	100 %	96 %	100 %
Especificidade	100 %	100 %	98 %

VP (Verdadeiro Positivo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo de origem. FN (Falso Negativo): paciente pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. VN: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente num grupo diferente. FP: paciente não pertence ao grupo de cenário e método classifica o paciente no grupo do cenário. Sensibilidade: probabilidade de um paciente positivo ter seu diagnóstico positivo. Especificidade: probabilidade de um paciente negativo ter seu diagnóstico negativo.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os resultados de sensibilidade e especificidade confirmam a capacidade do classificador gerado de corretamente separar os pacientes de acordo com sua categoria em relação à CAN. O único erro de classificação obtido acarretou num valor de sensibilidade de detecção da CAN subclínica de 96% e especificidade de 100%. Cabe aqui ressaltar que a discriminação dos pacientes subclínicos em relação aos que não possuem a doença e aos que já a possuem de forma estabelecida era um dos principais objetivos deste trabalho, pois trata-se de um dos maiores desafios para o acompanhamento do avanço da doença em pacientes diabéticos.

Para calcular o índice Kappa, e medir a capacidade de reprodutibilidade do modelo, foi gerada a matriz de confusão dos resultados de classificação comparados aos resultados do padrão ouro, conforme Quadro 26.

Quadro 26: Matriz de confusão do classificador desenvolvido com a técnica de Random Forest.

		Classes Modelo Implementado			
		NCAN	SCAN	ECAN	Total
Classes Padrão Ouro	NCAN	20	0	0	20
	SCAN	0	24	1	25
	ECAN	0	0	27	27
	Total	20	24	28	72

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A concordância total observada (P_o) obtida foi de 0,99 e a concordância total esperada pelo simples acaso (P_e) foi de 0,34, o que gerou um índice Kappa de 0,98. De acordo com a escala de Landis e Koch (1977), o resultado de Kappa indica uma coerência quase perfeita entre as classes obtidas pelo padrão-ouro e as obtidas pelo classificador implementado.

Dessa forma, os resultados dos índices de erro de classificação, sensibilidade e especificidade foram suficientes para demonstrar a validade dos resultados de classificação do modelo e o resultado do índice Kappa foi capaz de demonstrar a capacidade de reprodutibilidade do classificador desenvolvido.

Diante da validação dos resultados obtidos com a metodologia proposta, o software desenvolvido foi aprimorado para que proporcionasse seu uso enquanto ferramenta computacional de *screening* para pacientes diabéticos.

Para utilização da ferramenta, o especialista precisa inserir os sinais de ECG e PPG sincronizados, com duração de 5 minutos e indicar a que paciente pertencem estes sinais. Indicando um paciente já existente, a ferramenta busca os dados de consultas anteriores. Indicando que se trata de um novo paciente, a ferramenta cria o espaço para os dados do novo paciente.

Como resultado de um novo paciente, são apresentadas as probabilidades de semelhança com cada estágio considerado – NCAN, SCAN e ECAN de forma numérica e gráfica. Para os pacientes em acompanhamento, além desses resultados, é apresentada de forma gráfica a evolução das probabilidades para cada estágio, de forma a possibilitar que o especialista avalie a progressão da doença, de forma numérica.

O software foi desenvolvido utilização da linguagem de programação Matlab e necessita receber os sinais de ECG e PPG já lidos. Dessa forma, para utilização em consultório clínico precisa ainda ser ter sua interface com o usuário aprimorada, bem como possibilitar a

aquisição dos sinais de ECG e PPG. No entanto, a ferramenta computacional desenvolvida é capaz de detectar e classificar a CAN em pacientes diabéticos.

6 CONCLUSÃO

A hipótese central que norteou este trabalho foi a de que a análise integrada de sinais fisiológicos que reflitam as condições do sistema nervoso autônomo, tais como variabilidade da frequência cardíaca, intervalo QT, pressão sanguínea, respiração e sensibilidade barorreflexa, poderiam revelar índices que contribuíssem significativamente para a detecção e classificação da CAN em pacientes diabéticos, discriminando os pacientes com CAN subclínica dos demais.

Vários pesquisadores têm abordado a detecção da CAN em seu estágio subclínico por meio de diferentes metodologias. SCAN é uma fase em que os pacientes não apresentam comportamento linear, ou seja, os achados fisiológicos relacionados aos sinais que refletem a condição do sistema nervoso autônomo não apresentam um padrão que esteja presente em todos os pacientes. Ressalta-se que o padrão-ouro utilizado hoje são os testes de O'Brien, que requerem, além de equipamentos dedicados, o treinamento especializado de quem os realiza e, principalmente, a colaboração ativa do paciente para realizar as manobras necessárias.

Dessa forma, para conseguir cumprir o objetivo principal deste trabalho, de desenvolver uma metodologia capaz de detectar neuropatia autonômica subclínica em diabéticos, todos os objetivos específicos listados foram de fundamental importância.

O estudo da fisiologia do sistema nervoso autônomo e sua relação direta e indireta com o sistema cardiovascular possibilitou a compreensão necessária tanto para a implementação dos índices já conhecidos para avaliação dessa complexa relação, quanto para viabilizar uma análise mais específica do comportamento destes sistemas em pacientes sob os efeitos prejudiciais da CAN.

Nesse sentido, duas análises exploratórias foram realizadas a fim de buscar índices suficientemente significativos para auxiliar na discriminação dos pacientes diabéticos em função do estágio da CAN. A primeira análise, a qual levou em consideração todos os 133 índices já conhecidos da análise de variabilidade da frequência cardíaca, intervalo QT, pressão sanguínea e respiração, não apresentou nenhum índice que sozinho pudesse discriminar os pacientes corretamente nas três classes (NCAN, SCAN e ECAN). A análise multivariada utilizando aqueles índices que tiveram significância para a separação entre duas classes, dispersão do intervalo QT, análise espectral do intervalo QT, análise espectral da amplitude da onda T, QT/TQ, TQ/RR e desvio-padrão da DBP, apresentou percentual de acerto de 90%.

A maioria dos erros de classificação obtidos nesta fase foram relacionados aos pacientes com SCAN, os quais tiveram seu estágio subjogado pelo classificador, sendo diagnosticados como NCAN.

A segunda fase de análise exploratória buscou, dessa forma, encontrar índices que pudesse aumentar a chance de acerto nas classificações dos pacientes. Partiu-se, portanto, para a busca de novos índices que pudesse cumprir esse papel. Nesta próxima fase, foi testada a hipótese de que a SCAN poderia ser considerada uma ampla fase de transição entre pacientes diabéticos que não possuem CAN e pacientes que possuem CAN estabelecida, que poderia ser mapeada por meio da análise de atrasos na reação espontânea da frequência cardíaca em resposta a mudanças na pressão arterial. Assim, um retardo na resposta da frequência cardíaca em resposta a mudanças na pressão arterial poderia ser um indicador de CAN em pacientes diabéticos, ainda em estágio subclínico.

Através do método da sequência foram calculados os índices da sensibilidade barorreflexa (BRS), os quais quantificam as reações da frequência cardíaca em função de alterações da pressão arterial sistólica. No entanto, tais índices foram calculados considerando lags (atrasos) de 1 a 10 intervalos, a fim de avaliar se comportamento de reação de indivíduos acometidos pela CAN subclínica era diferente dos demais indivíduos estudados.

A partir dos resultados para todas os atrasos considerados, foram gerados 6 (seis) índices estatísticos que pudessem representar os comportamentos encontrados para cada indivíduo: maior valor BRS, maior quantidade de sequências, BRS da maior quantidade de sequências, quantidade de sequências do mais alto BRS, lag do mais alto BRS, lag da maior quantidade de sequências.

Os índices de maior valor BRS, BRS da maior quantidade de sequências e lag da maior quantidade de sequências mostraram potencial para distinguir pacientes com CAN e pacientes sem CAN; e os índices quantidade de sequências do mais alto BRS, lag do mais alto BRS, e a maior quantidade de sequências, distinguiram os indivíduos com SCAN dos demais.

Assim, com a utilização dos novos índices obtidos das análises de BRS considerando atrasos na reação da frequência cardíaca às alterações de pressão arterial sistólica, foi implementado um modelo computacional, baseado na técnica de *Machine Learning Random Forest*, para classificar pacientes diabéticos de acordo com o estágio da CAN, bem como identificar processo de evolução da doença, caracterizando a classe subclínica como uma fase de transição não determinística entre os estágios com e sem CAN. Este modelo pode fornecer aos médicos uma ferramenta de *screening* capaz de auxiliar no monitoramento consistente da evolução da CAN em pacientes diabéticos e dar subsídios para, se não for possível reverter a

doença, pelo menos sugerir um controle mais adequado para um melhor prognóstico e qualidade de vida.

Dessa forma, pode-se considerar que o objetivo principal deste trabalho foi atingido, pois, a partir da análise integrada dos sinais fisiológicos que refletem a condição do sistema nervoso autônomo, foi possível revelar indicadores (índices) capazes de discriminar pacientes diabéticos com CAN ainda em sua fase subclínica.

O classificador desenvolvido obteve apenas um erro em 72 testes, acarretando em 96% de sensibilidade e 100% de especificidade para detecção da SCAN, além de um índice kappa de 0,98, sendo, portanto, validado quanto a exatidão e reprodutibilidade dos resultados. Esses resultados geraram a publicação de um artigo intitulado “*Baroreflex Sensitivity with Different Lags and Random Forests for Staging Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Subjects with Diabetes*”, na *Computers in Biology and Medicine*, conforme Anexo A.

A ferramenta computacional já oferece condições de ser usada em ambiente ambulatorial/consultório, no entanto, ainda necessita que o profissional insira os sinais de ECG e PPG adquiridos previamente, e que tenha licença do software Matlab. Sugere-se como continuidade do trabalho, que seja desenvolvido um módulo para aquisição em tempo real de ambos os sinais no próprio software classificador, bem como que sejam feitos aprimoramentos quanto a sua interface com o usuário, de forma a melhorar seus quesitos de usabilidade e disponibilidade.

Dessa forma, são duas as principais contribuições deste trabalho. A primeira delas é a disponibilização de uma metodologia que a partir da análise integrada de sinais fisiológicos, oferece subsídios para que seja avaliada e periodicamente acompanhada, de forma não invasiva e sem depender da contribuição do paciente, a real condição dos pacientes diabéticos em relação à CAN, a fim de possibilitar um prognóstico com maior qualidade de vida dos mesmos. A segunda contribuição é a disponibilização de uma ferramenta que usa inteligência computacional (Machine Learning) para viabilizar a utilização da metodologia do estudo realizado e facilitar a execução da metodologia. Ou seja, que se torne simples, barato e efetivo o *screening* de pacientes diabéticos no que se refere as suas condições de saúde decorrentes da CAN.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, 35, 2012.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY. Consensus statement: Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. **Diabetes Care**, 1988. 592–597.
- ANDERSEN, S. T. et al. Risk Factors for the Presence and Progression of Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Type 2 Diabetes: ADDITION-Denmark. **Diabetes Care**, 2018. 2586-2594.
- ANG, L. et al. Cardiovascular autonomic neuropathy: A silent killer with long reach. **Autonomic Neuroscience.**, 2020. 225.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ARIF, Z. A.; SHAIKH, I. A.; MASOOD, N. Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) in patients of type 2 diabetes mellitus: A tertiary care hospital based study. **indian heart journal**, 2014. 751-754.
- AUNE, D. et al. Diabetes mellitus and the risk of sudden cardiac death: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease**, 2018. 543-556.
- BAILÓN, R. et al. Analysis of heart rate variability during exercise stress testing using respiratory information. **Biomedical Signal Processing and Control**, 2010.
- BALÇIOĞLU, S.; MÜDERRISOĞLU, H. Diabetes and cardiac autonomic neuropathy: Clinical manifestations, cardiovascular consequences, diagnosis and treatment. **World J Diabetes**, 15 Feb 2015. 80-91.
- BAUMERT, M. et al. QT interval variability in body surface ECG: measurement, physiological basis, and clinical value: position statement and consensus guidance endorsed by the EHRA jointly with the ESC Working Group on Cardiac Cellular Electrophysiology. **Europace**, 2016. 925-944.
- BAZETT, H. C. An analysis of the time relationships of electrocardiograms. **Heart**, 1920. 355-370.
- BEDA, A. et al. Heart-rate and blood-pressure variability during psychophysiological tasks involving speech: Influence of respiration. **Psychophysiology**, 2007. 767-778.
- BEIJERS, H. .; ET AL. Microalbuminuria and cardiovascular autonomic dysfunction are independently associated with cardiovascular mortality: evidence for distinct pathways: the Hoorn Study. **Diabetes Care**, 2009. 1698–1703.

BEN-TAL, A.; SHAMAILOV, S. S.; PATON, J. F. R. Central regulation of heart rate and the appearance of respiratory sinus arrhythmia: New insights from mathematical modeling. **Mathematical Biosciences**, 2014.

BERGER, R. D. et al. Beat-to-beat QT interval variability: novel evidence for repolarization lability in ischemic and nonischemic dilated cardiomyopathy. **Circulation**, 1997.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. 6^a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

BISSINGER, A. Cardiac Autonomic Neuropathy: Why Should Cardiologists Care About That? **J. Diabetes Res.**, 2017. 1-9.

BOND JR, V. et al. Nonlinear Conte-Zbilut-Federici (CZF) Method of Computing LF/HF Ratio: A More Reliable Index of Changes in Heart Rate Variability. **Journal of Pharmacopuncture**, 2016. 207-212.

BÖNHOF, G. J. et al. Impaired Baroreflex Sensitivity in Patients with Recent-Onset Type 2 Diabetes. **Diabetes**, 2018.

BOUDINA S, A. E. Diabetic cardiomyopathy revisited. **Circulation**, 2007. 3213–3223.

BOULTON, A. J. et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, 2005. 956-962.

CANANI, L. H. et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in type 2 diabetes mellitus patients with peripheral artery disease. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, 2013.

CHEN, H. S. et al. Abnormal cardiovascular reflex tests are predictors of mortality in type 2 diabetes mellitus. **Diabet Med.**, 2001. 268-273.

CHOON-HIAN, G. et al. Standing beat-to-beat blood pressure variability is reduced among fallers in the Malaysian Elders Longitudinal Study. **Medicine (Baltimore)**, 2017. e8193.

CIVIDJIAN, A. et al. Effect of clonidine on cardiac baroreflex delay in humans and rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 300, 2011. R949-R957.

CLIFFORD, G. D.; MCSHARRY, P. E. **A realistic coupled nonlinear artificial ECG, BP and respiratory signal generator for assessing noise performance of biomedical signal processing algorithms**. SPIE - THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICAL ENGINEERING. [S.l.]: [s.n.]. 2004.

CONTE, E. et al. Traditional and a new methodology for analysis of heart rate variability: a review by physiological and clinical experimental results. **IJRRAS**, Oct 2012.

CORTEZ , D. N. et al. Complications and the time of diagnosis of diabetes mellitus in primary care. **Acta paul. enferm.**, 2015.

DAFAALLA, M. D. et al. Risk factors of diabetic cardiac autonomic neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis. **Open Heart**, 2016.

DAMPNEY, R. A. L. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. **Physiol. Rev.**, 1994.

DIMITROPOULOS, ; TAHRANI, A. A.; MARTIN, J. S. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. **World J Diabetes**, 2014. 17-39.

DOBSON, C. P.; KIM, A.; HAIGNEY, M. QT Variability Index. **Progress in Cardiovascular Diseases**, 2013. 186-194.

DONAGHUE, K. C. Autonomic neuropathy: diagnosis and impact on health in adolescents with diabetes. **Horm Res.** , 1998.

DUCHESNE, P.; RÉMILLARD, B. Statistical modeling and analysis for complex data problems. **Springer Science & Business Media**, 2005.

EAGLE, K. et al. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task force of European society of cardiology and the north American society of pacing and electrophysiology. **Eur Heart J**, 1996. 354–381.

EWING, D. J.; CAMPBELL, I. W.; CLARKE, B. F. Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. **Ann Intern Med**, 1980. 308-311.

EWING, D. J.; CAMPBELL, I. W.; CLARKE, B. F. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. **Q J Med** , 1980. 95-108.

EWING, D. J.; CLARKE, B. F. Diagnosis and treatment of diabetic autonomic neuropathy. **Br Med J.** , 1982.

FAES, L.; NOLLO, G.; PORTA, A. Mechanisms of causal interaction between short-term RR interval and systolic arterial pressure oscillations during orthostatic challenge. **Journal of Applied Physiology**, 114, n. 12, 2013. 1657-1667.

FAUST, O. et al. Linear and non-linear analysis of cardiac health in diabetic subjects. **Biomedical Signal Processing and Control**, 2012. 295-302.

FERREIRA, J. C.; PATINO, C. M. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 1. **J Bras Pneumol.**, 43, n. 5, 2017. 330.

FISHER, V. L.; TAHRANI, A. A. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus: current perspectives. **Diabetes Metab Syndr Obes**, 2017. 419-434.

FONSECA, D. S. **Estudo da Causalidade entre a Variabilidade da Frequência Cardíaca e a Pressão Arterial Considerando-se a Influência Respiratória**. UFRJ. [S.l.]. 2012.

FOSS, M. et al.. estudo analítico de uma amostra populacional de diabéticos insulino-dependentes (tipo 1). **Arq Bras endocrinol Metabol**, 1986. 100-102.

FOSS-FREITAS, M. C.; JUNIOR, W. M.; FOSS, M. C. Neuropatia Autonômica: Uma Complicação de Alto Risco no Diabetes Mellito Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 2008.

FRATTOLA, A.; ET AL. Time and frequency domain estimates of spontaneous baroreflex sensitivity provide early detection of autonomic dysfunction in diabetes mellitus. **Diabetologia**, 1997. 1470–1475.

GARCIA, E. V. **Processamento de Sinais usando wavelets para caracterização da repolarização ventricular durante hipoglicemia**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2005.

GORSOLKE, M. et al. AnsAnalysis. **AnsAnalysis - Analysis of the Autonomic Nervous System**, 22 mar. 2018. Disponível em: <<https://www.ans-analysis.com/hrv/hrv-measuring-parameter.html>>.

GOUVEIA, S. et al. Time domain baroreflex sensitivity assessment by joint analysis of spontaneous SBP and RR series. **Biomedical Signal Processing and Control**, 2009. 254-261.

GROSSMAN, P.; TAYLOR, E. W. Toward understanding respiratory sinus arrhythmia: Relations to cardiac vagal tone, evolution and biobehavioral functions. **Biological Psychology**, 2007. 263-285.

HARKEL, A. D. J. T. et al. Assessment of Cardiovascular Reflexes: Influence of Posture and Period of Preceding Rest. **J Appl. Physiol.**, 1990. 147-153.

HATTORI, Y.; HATTORI, K.; SUZUKI, T. Differential Modulation of Cardiac Sympathetic Neural Control and beta-Adrenoceptor–G Protein Signaling Cascade in Rats With Type 1 and Type 2 Diabetes. **Diabetes**, 64, 2015.

HEESCH, C. M. Reflexes that control cardiovascular function. **Am J Physiol**, 277, 1999. S234-S240.

IMAM, H. et al. **Effect of using ECG derived respiration (EDR) signal in Linear Parametric QT-RR modeling**. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. Osaka, Japan: [s.n.]. 2013. p. 3 - 7.

IMAM, M. et al. Analyzing Systolic–Diastolic Interval Interaction Characteristics in Diabetic Cardiac Autonomic Neuropathy Progression. **IEEE Journal of Translational Engineering in Health and Medicine**, 29 Jul 2015.

INTERNATION DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**. 9th. ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2019. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/>>.

JELINEK, H. F.; KHANDOKER, A. H.; PALANISWAMI, M. Heart rate variability and QT dispersion in a cohort of diabetes patients. **Comput.Cardiol.**, 2010. 613–616.

JOHNSON, L. R. **Fundamentos de Fisiologia Médica**. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

KAHN, J. K.; SISSON, J. C.; VINIK, A. L. QT interval prolongation and sudden cardiac death in diabetic autonomic neuropathy. **J Clin Endocrinol Metab.**, 1987. 751-754.

KARDOS, A. et al. Determinants of Spontaneous Baroreflex Sensitivity in a Healthy Working Population. **Hypertension**, Mar 2001.

KAREMAKER, J. Heart rate variability: why do spectral analysis? **Heart**, 1997. 77-99.

KEMPLER, P. et al. Autonomic neuropathy is associated with increased cardiovascular risk factors: the EURODIAB IDDM complications study. **Diabet Med.**, 2002. 900-909.

KHANDOKE, A. H.; JELINEK, H. F.; PALANISWAMI, M. Identifying diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy by heart rate complexity analysis. **BioMedical Engineering OnLine**, 2009.

KHANDOKER, A. H. et al. Association of cardiac autonomic neuropathy with alteration of sympatho-vagal balance through heart rate variability analysis. **Med. Eng. Phys.**, 2010. 161–167.

KHANDOKER, A. H. et al. QT Variability Index Changes With Severity of Cardiovascular Autonomic Neuropathy. **IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine**, September 2012.

KUEHL, M.; STEVENS, M. J. Cardiovascular autonomic neuropathies as complications of diabetes mellitus. **NATURE REVIEWS - ENDOCRINOLOGY**, 8, 2012.

KUN LIN, M. et al. Combination of Ewing test, heart rate variability, and heart rate turbulence analysis for early diagnosis of diabetic cardiac autonomic neuropathy. **Medicine**, 2017.

LA ROVERE, M.; MAESTRI, R.; PINNA, G. Baroreflex sensitivity assessment: latest advances and strategies. **Euro Cardio**, 2011. 89-92.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, 33, n. 1, 1977. 159–174.

LAUDE, D.; BAUDRIE, V.; ELGHOZI, J. L. Tuning of the sequence technique. **IEEE Eng. Med. Biol. Mag.**, 28, n. 6, 2009. 30-34.

LERNER, A. et al. Type 2 diabetes and cardiac autonomic neuropathy screening using dynamic pupillometry. **Diabet Med.**, 2015. 1470-1478.

LOW, P. A. et al. Autonomic symptoms and diabetic neuropathy: a population-based study. **Diabetes Care**, 2004. 2942-2947.

LOZANO, T.; ENA, J. Cardiovascular autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. **Revista Clínica Española (English Edition)**., 217, n. 1, 2017. 46-54.

LYKKE, J. A. et al. A combined abnormality in heart rate variation and QT corrected interval is a strong predictor of cardiovascular death in type 1 diabetes. **The Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, 2008. 1-6.

MARTÍNEZ, M. M. Y. **neuropatias periféricas diabéticas numa população brasileira [tese de doutorado]**. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 1986.

MARTINEZ-GARCIA, P.; LERMA, C.; INFANTE, O. Baroreflex sensitivity estimation by the sequence method with delayed signals. **Clin Auton Res**, 277, 2012. 289-297.

MASER, R. . et al. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a metaanalysis. **Diabetes Care**, 2003. 1895–1901.

MATHUR, C. P.; GUPTA, D. QTc Prolongation in Diabetes Mellitus – An Indicator of Cardiac Autonomic Neuropathy. **JACM** , 2006. 130-132.

MAZZANTI, B.; LAMBERT, C.; BIE, J. D. Validation of an ECG-Derived Respiration Monitoring Method. **Computers in Cardiology**, 2003. 613-616.

MENDIVIL, C. et al. Neuropad for the detection of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. **J Diabetes Complications**, 2016. 93-98.

MENON, A. S. et al. Cardiac autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus at high risk for foot ulcers. **Indian J Endocrinol Metab**, 2017. 282-285.

MÉSANGEAU, D.; LAUDE, D.; ELGHOZI, J. L. Early detection of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetic pigs using blood pressure and heart rate variability. **Cardiovasc Res**, 2000. 889-899.

METELKA, R. et al. Heart rate variability evaluation in the assessment of cardiac autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. **cor et vasa**, 2018. 335-344.

MICHEL-CHÁVEZ, A. et al. Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial Sistólica em Diabéticos com Diagnóstico Recente. **Arq Bras Cardiol**, 2015.

MICHELINI, L. C. Regulação da pressão arterial: mecanismos neuro-hormonais. In: AIRES, M. M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 473-488.

MOODY, G. B. et al. Clinical Validation of the ECG-Derived Respiration (EDR) Technique. **Computers in Cardiology**, 1986. 507-510.

MORTOLA, J. P.; MARGHESCU, D.; SIEGRIST-JOHNSTONE, R. Respiratory sinus arrhythmia in the immediate post-exercise period: correlation with breathing-specific heart rate. **European journal of applied physiology**, 2018. 1397–1406.

MOŃȚĂIANU, A. et al. Cardiac autonomic neuropathy in type 1 and type 2 diabetes patients. **BMC Neurology**, 2018.

MSD. Controlar o diabetes, 2013. Disponível em: <<http://controlaradiabetes.pt/entender-a-diabetes/o-que-acontece-na-diabetes-tipo-2>>. Acesso em: 30 julho 2018.

NAKAZATO, K. C. et al. Análise de complexidade no estudo da variabilidade da frequência cardíaca por meio da entropia aproximada. In: NOGUEIRA, E. ; MARTINS, L. E. B.; BRENZIKOFER, R. **Modelos Matemáticos nas Ciências não Exatas**. São Paulo: Blucher, 2012. p. 52-70.

NAVARRO, X.; KENNEDY, W.; AEPPLI, D. Neuropathy and mortality in diabetes: influence of pancreas transplantation. **Muscle Nerve**, 1996. 1009-1016.

NESTO, R. W. Diabetes and heart disease. In: ZIPES, D. P., et al. **Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine**. Philadelphia: WB Saunders Co, 2005. p. 1355-1366.

NETO, J. E.; SEISDEDOS, C. V. Influence of High Pass Filtering on the T-wave End Estimation. In: BRAIDOT, A.; HADAD, VI **Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2014**. Paraná: IFMBE Proceedings, v. 49, 2015.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana. 2ed.** Porto Alegre: Artmed, 2000.

NO AUTHORS LISTED. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. **The Lancet**, 2000. 253-259.

O'BRIEN, I. A.; MCFADDEN, J. P.; CORRALL, R. J. The influence of autonomic neuropathy on mortality in insulin-dependent diabetes. **Q J Med.**, 1991. 495-502.

O'BRIEN, I. A. D.; O'HARE, P.; CORRALL, R. J. M. Heart rate variability in healthy subjects: effect of age and the derivation of normal ranges for tests of autonomic function. **Br Heart J.**, 55, 1986. 348-354.

ORCHARD, T. . et al. Why does diabetic autonomic neuropathy predict IDDM mortality? An analysis from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, 1996. S165–S171.

PACHECO, A. P.. **Diagnóstico precoce da neuropatia autonômica em indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 baseado na variabilidade da frequência cardíaca**. Universidade Federal de Santa Catarina (Tese de Doutorado). Florianópolis. 2018.

PARATI, G.; OCHOA, E.; LOMBARD,. Assessment and management of blood-pressure variability. **Nature Reviews Cardiology**, 2013. 143–155.

PEDROSA, H. C.; VILAR, L.; BOULTON, A. J. M. **Neuropatias e Pé Diabético**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.

PETRY, D. **Sistema para análise da variabilidade de sinais fisiológicos: aplicação em variabilidade da frequência cardíaca e intervalo QT**. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Florianópolis, p. 128. 2006.

PINCOS, S. M. Approximate entropy as a measure of system complexity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1991. 2297-2301.

- POP BUSUI, R. Association between cardiovascular autonomic neuropathy and left ventricular dysfunction: DCCT/EDIC study (Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications). **J. Amer. College Cardiol.**, 2013. 447-454.
- POP BUSUI, R.; AL, E. Association between cardiovascular autonomic neuropathy and left ventricular dysfunction: DCCT/EDIC study - Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. **J. Amer. College Cardiol.**, 2013. 447-454.
- POP-BUSUI, R. . E. A. Sympathetic dysfunction in type 1 diabetes: association with impaired myocardial blood flow reserve and diastolic dysfunction. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 44, 2004. 2368–2374.
- POP-BUSUI, R. Cardiac Autonomic Neuropathy in Diabetes. **Diabetes Care**, 2010.
- POP-BUSUI, R. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. **Diabetes Care**, 2010. 1578–1584.
- POP-BUSUI, R. et al. Effects of prior intensive insulin therapy on cardiac autonomic nervous system function in type 1 diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study (DCCT/EDIC). **Circulation**, 2009. 2886-2893.
- PORTA, A. et al. RT variability unrelated to heart period and respiration progressively increases during graded head-up tilt. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 2010.
- POURMOGHADDAS, A.; HEKMATNIA, A. The relationship between QTc interval and cardiac autonomic neuropathy in diabetes mellitus. **Mol Cell Biochem.**, 2003. 125-128.
- QU, Z. et al. Nonlinear and stochastic dynamics in the heart. **Physics Reports**, 543, 2014. 61–162.
- QUINTEIRO, R. A. et al. Can QT/RR Relationship Differentiate between Low and High-Risk Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy? **Ann Noninvasive Electrocardiol**, 2014. 1-8.
- RATHMANN, W. et al. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. **Diabet Med**, 1993. 820-824.
- RAUTAHARJU, P. M. et al. AHA/ACCF/HRS recommendations for the standardization and interpretation of the electrocardiogram: part IV: the ST segment, T and U waves, and the QT interval: a scientific statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias. **Circulation**, 2009. e241-50.
- RAZANSKAITE-VIRBICKIENE, D. et al. Can coefficient of variation of time-domain analysis be valuable for detecting cardiovascular autonomic neuropathy in young patients with type 1 diabetes: a case control study. **BMC Cardiovasc Disord**, 2017. 17:34.
- REN, Y. Analysis of Blood Pressure Variability Based on Frequency Spectrum. **Metallurgical and Mining Industry**, 2015.

- RICHMAN, J. S.; MOORMAN, R. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, 2000. H2039-H2049.
- ROLIM, L. C. D. S. P. et al. Neuropatia Autonômica Cardiovascular Diabética: Fatores de Risco, Impacto Clínico e Diagnóstico Precoce. **Arq Bras Cardiol**, 2008.
- ROY, B.; GHATAKI, S. Métodos não-lineares para avaliar mudanças na variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com diabetes tipo 2. **Arq. Bras. Cardiol.**, 2013.
- SAMPSON, M. J. et al. Progression of diabetic autonomic neuropathy over a decade in insulin-dependent diabetics. **Q J Med**, 1990. 635-646.
- SANTOS, M. R. D. et al. Resting spontaneous baroreflex sensitivity and cardiac autonomic control in anabolic androgenic steroid users. **Clinics**, 2018.
- SCHMID, H. Impacto Cardiovascular da Neuropatia Autonômica do Diabetes Mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 2007.
- SCHMID, H. e-book 2.0 - diabetes na prática clínica. **Capítulo 03 - Neuropatia diabética autonômica**, 01 junho 2018. Disponível em:
<<https://www.diabetes.org.br/ebook/component/k2/item/40-neuropatia-diabetica-autonomica>>.
- SERHIYENKO, V. A.; SERHIYENKO, A. A. Cardiac autonomic neuropathy: risk factors, diagnosis and treatment. **World J. Diabetes.**, 15, n. 9, 2018. 1-24.
- SILVA, G. V. D. Variabilidade da pressão arterial: mais uma peça do quebra-cabeça. **J Bras Nefrol**, 2017. 102-103.
- SILVA, V. A. R. P. **Alterações do intervalo QT no Eletrocardiograma: Síndrome do QT longo e Síndrome do QT curto**. Porto: Universidade do Porto, 2014.
- SILVA, V. A. R. P. **Alterações do intervalo QT no Eletrocardiograma: Síndrome do QT longo e Síndrome do QT curto**. Porto: Universidade do Porto, 2014.
- SILVERTHORN, D. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. [S.l.]: Artmed, 2010.
- SIMA, A. Does insulin play a role in cardiovascular autonomic regulation? **Diabetes Care**, 2000.
- SIVIERI, R. et al. Prevalence of QT prolongation in a type 1 diabetic population and its association with autonomic neuropathy. The Neuropathy Study Group of the Italian Society for the Study of Diabetes. **Diabetic Med.**, 1993. 920–924.
- SOEDAMAH-MUTHU, S. S. et al. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). **Diabetes Care**, 2008. 1360-1366.
- SOUZA E SILVA, R.; PAES, A. T. Teste de concordância Kappa. **Educ Contin Saúde Einstein**, 10, n. 4, 2012. 165-166.

SPALLONE, V. et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. **Diabetes Metab. Res. Rev**, 2011. 639-653.

SPALLONE, V.; ET AL. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. **Diabetes Metab. Res. Rev**, 2011. 639-653.

SUMEET, S. C. et al. Epidemiology of sudden cardiac death: Clinical and research implications. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, 2008. 213–228.

SVAČINOVÁ, J. et al. Diagnostic significance of a mild decrease of baroreflex sensitivity with respect to heart rate in type 1 diabetes mellitus. **Physiol Res**, 2013.

SVED, A. F.; GORDON, F. J. Amino acids as central neurotransmitters in the baroreceptor reflex pathway. **NIPS**, 1994. 243-246.

TAHRANI, A. A. et al. Cardiac autonomic neuropathy predicts renal function decline in patients with type 2 diabetes: a cohort study. **Diabetologia**, 2014. 1249–1256.

TAHRANI, A. A. et al. Peripheral and autonomic neuropathy in South Asians and white Caucasians with type 2 diabetes mellitus: possible explanations for epidemiological difference. **J Diabetes Res.**, 2017.

TANK, J. et al. Reference Values of Indices of Spontaneous Baroreceptor Reflex Sensitivity. **AJH**, 2000. 268–275.

TASKIRAN, M.; ET AL. Left ventricular dysfunction in normotensive type 1 diabetic patients: the impact of autonomic neuropathy. **Diabet. Med.**, 21, 2004. 524–530.

TESFAYE, S. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. **Diabetes Care**, 2010. 2285–2293.

THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 1997. 1183-1197.

TOYRY, J. P. et al. Occurrence, predictors, and clinical significance of autonomic neuropathy in NIDDM. Ten-year follow-up from the diagnosis. **Diabetes**, 1996. 308-315.

VARON, C.; VAN HUFFELI, S. ECG-Derived Respiration for Ambulatory Monitoring. **Computing in Cardiology**, 2015. 169-172.

VINIK, A. I. et al. Cardiac Autonomic Neuropathy in Diabetes: A Predictor of Cardiometabolic Events. **Front. Neurosci.**, 2018.

VINIK, A. I.; ERBAS, T. Diabetic autonomic neuropathy. **Handb Clin Neurol**, 2013. 279-294.

VINIK, A. I.; ZIEGLER, D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. **Circulation**, 2007. 387-397.

VOULGARI, C.; TENTOLOURIS, N.; STEFANADIS, C. The ECG Vertigo in Diabetes and Cardiac Autonomic Neuropathy. **Experimental Diabetes Research** , 2011.

WESTERHOF, B. E. et al. Time-domain cross-correlation baroreflex sensitivity: performance on the EUROBAVAR data set. **J Hypertens**, 22, 2004. 1371-1380.

WESTON, P. J. et al. Assessment of baroreceptor-cardiac reflex sensitivity using time domain analysis in patients with IDDM and the relation to left ventricular mass index. **Diabetologia**, 1996. 1385-1391.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation**. Geneva, p. 59. 1999.

YASUMA, F.; HAYANO, J.-I. Respiratory Sinus Arrhythmia: Why Does the Heartbeat Synchronize With Respiratory Rhythm? **Chest Journal**, 2004.

ZACCARDI, F.; KHAN, H.; LAUKKANEN, J. A. Diabetes mellitus and risk of sudden cardiac death: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Cardiology**, 2014. 535-537.

ZHOU, T. L. et al. Blood pressure variability in individuals with and without (pre)diabetes: The Maastricht Study. **Journal of Hypertension**, 2018. 259-267.

ZIEGLER, D. Cardiovascular autonomic neuropathy: clinical manifestations and measurement. **Diabetes Rev**, 1999.

ZIEGLER, D. Prediction of mortality using measures of cardiac autonomic dysfunction in the diabetic and nondiabetic population: the MONICA KORA Augsburg Cohort Study. **Diabetes Care**, 2008. 556-561.

ZIEGLER, D. et al. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy Multicenter Study Group: The epidemiology of diabetic neuropathy. **J Diabetes Complications**, 1992. 49–57.

APÊNDICE A – Índices implementados

Logo abaixo o Quadro 24 apresenta todos os índices implementados na Fase 1 deste trabalho, conforme explanado no decorrer dos capítulos.

Quadro 27: Idade e tempo de diabetes dos 72 pacientes analisados.

Série	Método/Domínio	Obs	Índice
RR	Tempo		RR(ms)
RR	Tempo		qtd média R
RR	Tempo		HR(bpm)
RR	Tempo		SDNN(ms)
RR	Tempo		RMSSD(ms)
RR	Tempo		pNN50(%)
Respiração	Tempo		RespRate(cpm)
QT	Tempo		QT(ms)
RR	Tempo		SDNN(ms)
RR	Tempo		RMSSD(ms)
RR	Tempo		pNN50(%)
QT, RR	Tempo		QTc(ms)
QT	Tempo		SDNNQTc(ms)
QT	Tempo		RMSSDQTc(ms)
QT	Tempo		pNN50QTc(%)
QT	Tempo		Dispersão QT(ms)
QT	Tempo		Dispersão QTc(ms)
T	Tempo		Tpe(ms)
T	Tempo		sd Tpe(ms)
T	Tempo		cTpe
T	Tempo		sd cTpe
T	Tempo		Tpe/QT
T	Tempo		sd Tpe/QT
QRS	Tempo		QRS Duration(ms)
QRS	Tempo		sd QRS Duration(ms)
QT/TQ	Tempo		mean QT/TQ
QT/TQ	Tempo		sd QT/TQ
QT/RR	Tempo		mean TQ/RR
QT/RR	Tempo		sd TQ/RR

RR, QT	Não Linear		QTVi
RR, QT	Não Linear		QTVi(QTc)
RR, QT	Não Linear		QTViBerger
RR	Não Linear		sd1RR
RR	Não Linear		sd2RR
RR	Não Linear		csiRR
RR	Não Linear		cviRR
RR	Não Linear		slopeRR
RR	Não Linear		interpeptionRR
RR	Não Linear		pearsonRR
RR	Não Linear		sd1up
RR	Não Linear		sd1down
RR	Não Linear		cuprelative
RR	Não Linear		cdownrelative
RR	Não Linear		stvRR
RR, QT	Não Linear		sd1RRQT
RR, QT	Não Linear		sd2RRQT
RR, QT	Não Linear		csiRRQT
RR, QT	Não Linear		cviRRQT
RR, QT	Não Linear		slopeRRQT
RR, QT	Não Linear		interpeptionRRQT
RR, QT	Não Linear		pearsonRRQT
RR, QT	Não Linear		sd1up
RR, QT	Não Linear		sd1down
RR, QT	Não Linear		cuprelative
RR, QT	Não Linear		cdownrelative
RR, QT	Não Linear		stvRRQT
QT	Não Linear		sd1QT
QT	Não Linear		sd2QT
QT	Não Linear		csiQT
QT	Não Linear		cviQT
QT	Não Linear		slopeQT
QT	Não Linear		interpeptionQT
QT	Não Linear		pearsonQT
QT	Não Linear		sd1up

QT	Não Linear		sd1down
QT	Não Linear		cuprelative
QT	Não Linear		cdownrelative
QT	Não Linear		stvQT
RR	Não Linear		entropia
RR	Não Linear		entropiamatlabs
RR	Não Linear		entropiamatlabl
RR	Não Linear		entropiaamostralRR
RR	Não Linear		entropiaamostralQT
RR	Não Linear		entropyJeffersonSD
RR	Não Linear		entropyJeffersonVAR
RR	Frequência		TP(ms2)
RR	Frequência		VLf(ms2)
RR	Frequência		LF(ms2)
RR	Frequência		HF(ms2)
RR	Frequência		LF/HF
RR	Frequência		LFnorm
RR	Frequência		HFnorm
QT	Frequência		TP(ms2)
QT	Frequência		VLf(ms2)
QT	Frequência		LF(ms2)
QT	Frequência		HF(ms2)
QT	Frequência		LF/HF
QT	Frequência		LFnorm
QT	Frequência		HFnorm
AmpT	Frequência		TP(ms2)
AmpT	Frequência		VLf(ms2)
AmpT	Frequência		LF(ms2)
AmpT	Frequência		HF(ms2)
AmpT	Frequência		LF/HF
AmpT	Frequência		LFnorm
AmpT	Frequência		HFnorm
RR	Não Linear	CZFRR	VLfv(ms2)
RR	Não Linear	CZFRR	LFv(ms2)
RR	Não Linear	CZFRR	HFv(ms2)

RR	Não Linear	CZFRR	VLV/LV
RR	Não Linear	CZFRR	VLV/HV
RR	Não Linear	CZFRR	LV/HV
QT	Não Linear	CZFQT	VLV(ms ²)
QT	Não Linear	CZFQT	LV(ms ²)
QT	Não Linear	CZFQT	HV(ms ²)
QT	Não Linear	CZFQT	VLV/LV
QT	Não Linear	CZFQT	VLV/HV
QT	Não Linear	CZFQT	LV/HV
RR, PAS	Não Linear		BRS
RR, PAS	Não Linear		numberseq
RR, PAS	Não Linear		averagelengthseq
RR, PAS	Não Linear		ganho
PAS	Tempo		mean(sbp1)
PAS	Tempo		std(sbp1)
PAS	Tempo		min(sbp1)
PAS	Tempo		max(sbp1)
PAS	Tempo		mean(dbp1)
PAS	Tempo		std(dbp1)
PAS	Tempo		min(dbp1)
PAS	Tempo		max(dbp1)
RR, PAS	Não Linear		brsstatus
RR, PAS	Não Linear		motivobrs
RR, PAS	Não Linear		seqstatus
RR, PAS	Não Linear		motivoseq
RR	Não Linear		++
RR	Não Linear		--
RR	Não Linear		%++
RR	Não Linear		%--

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

ANEXO A – Paper publicado

Artigo intitulado “*Baroreflex Sensitivity with Different Lags and Random Forests for Staging Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Subjects with Diabetes*”, publicado na revista *Computers in Biology and Medicine*, o qual pode ser encontrado no link <https://authors.elsevier.com/a/1c0Cj2OYcvYgf>.