

UFRGS

RUY SILVEIRA MORAES FILHO

MAPA DE RETORNO TRIDIMENSIONAL - UM METODO PARA  
QUANTIFICAÇÃO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDIACA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CURSO DE POS-GRADUAÇÃO EM  
CARDIOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL,  
COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSARIOS PARA A OBTENÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE EM CARDIOLOGIA.

ORIENTADOR: DR. JORGE PINTO RIBEIRO

PORTO ALEGRE

Dezembro, 1992.

Ofereço o resultado deste meu  
trabalho à Helena, ao Lucas e  
à Ana Carolina.

## Agradecimentos

Uma dissertação é acima de tudo um exercício de aprendizado e de trabalho de equipe. Quero agradecer a todos que me ensinaram e trabalharam comigo.

Agradeço ao amigo, colega e orientador Jorge Pinto Ribeiro por todo o incentivo que tem me dado nos últimos anos. A ele devo a grande satisfação de estar concluindo este trabalho.

Ao Dr. Décio Faraco de Azevedo pela forma eficiente como dirige a Unidade de Métodos Não Invasivos. Não fosse a excelência desta Unidade este trabalho não se concretizaria.

Ao físico e engenheiro eletrônico Elton A. Ferlin o meu sincero agradecimento pela sua grande capacidade criadora, paciência em me transmitir conceitos de física e de matemática e por viabilizar a criação do mapa de retorno tridimensional.

Ao engenheiro Ubirajara Maciel da Cunha, chefe do Grupo de Pesquisa em Engenharia Bio-Médica pelo incentivo a este trabalho e também pela maneira simpática como ele, a Ana, o

Alexandre, o André, o Elton, o Paulo, a Rosa, o Solon e o Tomé me receberam como membro temporário do Grupo.

As Dras. Lérica A. Zaslavsky, Mirela Azevedo e Helena Schmit, do Serviço de Endocrinologia, pelo encaminhamento de pacientes e pelos ensinamentos sobre neuropatia autônoma.

Aos estagiários Carísi, Gabriel e Marco pela ajuda prestada e pelo que me ensinaram sobre pesquisa. Desejo a eles muito sucesso na vida profissional e intelectual.

A Sra. Vera Regina Lopes Mariante Alves pela sua dedicação ao Hospital de Clínicas e pelo incentivo ao meu trabalho, sempre disposta a cooperar.

As técnicas Claudete, Docelina, Ilza, Madalena, Nara, Rosane e Vera Lúcia pela ajuda na instalação dos gravadores de Holter.

As minhas sócias Gabriela Simch e Márcia Simch e ao Dr. Gustavo Coelho Barão, por terem cuidado da Fisicor na minha ausência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior e à Fundação de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelos auxílios recebidos.

## Índice

Resumo.....	7
Abstract.....	9
Capítulo I - Introdução e Objetivos.....	11
Capítulo II - Revisão da Literatura.....	15
1. Controle autonômico da frequência cardíaca.....	15
1.1. Controle parassimpático da frequência cardíaca..	17
1.2. Controle simpático da frequência cardíaca.....	20
1.3. Integração dos estímulos simpático e parassimpático no nodo sino-atrial.....	21
2. Análise do sistema nervoso autônomo pelo eletrocardiograma.....	23
2.1. Análise espectral da frequência cardíaca.....	24
2.2. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo.....	30
3. Comprometimento do sistema nervoso autônomo no diabete mérito.....	33
4. Comportamento caótico dos sistemas não lineares...	36
Capítulo III - Material e Métodos.....	42
1. Pacientes e controles.....	42
2. Avaliação da função autonômica através dos testes padronizados por Ewing.....	46
3. Exame físico.....	48
4. Exames laboratoriais.....	48
5. Eletrocardiograma de 24 h.....	49
6. Análise espectral da frequência cardíaca.....	50
7. Índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo.....	51
8. Mapa de retorno.....	53

9. Análise estatística.....	60
<b>Capítulo IV - Resultados.....</b>	<b>62</b>
1. Características clínicas.....	62
2. Eletrocardiograma de 24 h.....	62
3. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e no domínio da frequência.....	63
3.1. Análise espectral.....	63
3.2. Domínio do tempo.....	64
4. Mapa de retorno tridimensional.....	66
5. Correlação entre os índices no domínio do tempo e da frequência com os índices do mapa de retorno..	70
 <b>Capítulo V - Discussão</b>	
1. Padrão-ouro.....	72
2. Análise espectral.....	73
2.1. Efeito da ventilação controlada.....	73
2.2. Eficácia da análise espectral.....	74
2.3. Limitações da análise espectral.....	75
3. Domínio do tempo.....	76
3.1. Limitações do domínio do tempo.....	79
4. Dinâmica não linear.....	80
4.1. Quantificação do cometa.....	89
4.2. Correlação do mapa de retorno tridimensional com os demais índices da variabilidade da frequência cardíaca.....	96
4.3. Limitações do mapa de retorno tridimensional...	98
5. Limitações da amostra.....	99

Capítulo VI - Conclusões.....	102
Referências bibliográficas.....	103
Anexo.....	126

## Resumo

O sistema nervoso autônomo pode ser estudado através da variabilidade da frequência cardíaca. Vários métodos quantificam as alterações autonômicas pela análise das flutuações dos intervalos RR, no eletrocardiograma de 24 horas (24 h), utilizando cálculos de dispersão em torno da média. O mapa de retorno já foi utilizado para analisar qualitativamente a variabilidade da frequência cardíaca de 24 h, em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva. Para quantificar a variabilidade da frequência cardíaca, expressa pelo mapa de retorno, desenvolvemos um mapa de retorno modificado, tridimensional, usando como eixos  $RR_n$  versus  $[(RR_{n+1}) - (RR_n)]$  versus contagens, obtidos do eletrocardiograma de 24 h. A capacidade do método em detectar disfunção autonômica foi testada pela comparação dos resultados do mapa de retorno tridimensional de 10 pacientes com neuropatia autônoma diabética, diagnosticada pelos testes padronizados por Ewing, 12 pacientes diabéticos sem neuropatia autônoma e 12 indivíduos normais, de mesma faixa etária. Foram desenvolvidos 5 índices normalizados para quantificar as imagens obtidas, denominados de P1, P2, P3, P4 e MN. O índice P1 detectou diferenças significativas nos 3 grupos estudados. O Índice P2 detectou diferenças significativas entre os neuropatas e normais e entre neuropatas e diabéticos sem neuropatia. O índice P3 detectou diferenças significativas entre neuropatas e normais. O



Índice P4 detectou diferenças significativas entre os neuropatas e normais e entre diabéticos sem neuropatia e normais. O índice MN detectou diferenças significativas nos 3 grupos estudados (ANOVA  $p < 0,05$ ). Os índices do mapa de retorno tridimensional apresentaram forte correlação com o logaritmo dos índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo, calculados a partir do eletrocardiograma de 24 h, e associação fraca com o logaritmo dos componentes de baixa e alta frequência e potência espectral total da análise espectral da frequência cardíaca realizada durante o repouso, com ventilação controlada ( $p < 0,001$ ). Portanto, o mapa de retorno tridimensional detectou diferenças entre indivíduos normais, diabéticos sem neuropatia autônoma e diabéticos com neuropatia autônoma e correlacionou-se com outros índices da variabilidade da frequência cardíaca nas 24 h do dia.

### Abstract

Autonomic nervous system can be studied with heart rate variability. Many methods quantify autonomic dysfunction analysing RR interval fluctuations in the 24-hour electrocardiogram and calculating the dispersion around the mean. Return map has been used for qualitative analysis of 24-hour heart rate variability of congestive heart failure patients. To quantify heart rate variability expressed by the return map we developed a modified three-dimensional return map using as axes  $RR_n$  versus  $[(RR_{n+1})-(RR_n)]$  versus counts obtained from 24-hour electrocardiograms. To evaluate the capacity of this method to detect autonomic dysfunction, three-dimensional return maps of 10 patients with diabetic autonomic neuropathy, defined by the tests standardized by Ewing, 12 diabetic patients without neuropathy, and 12 age- and sex-matched normals were compared. In order to quantify the images obtained five normalized indices were developed and denominated as P1, P2, P3, P4 and MN. P1 was significantly different among the 3 groups studied. P2 was significantly different among patients with neuropathy and normals and among patients with neuropathy and without neuropathy. P3 was significantly different among patients with neuropathy and normals. P4 was significantly different among patients with neuropathy and normals and among patients without neuropathy and normals. MN was significantly different among the 3 groups studied (ANOVA

$p < 0.05$ ). Three-dimensional return map indices correlated significantly with the logarithm of time domain indices of 24-hour heart rate variability, and showed weak association with the logarithm of the low and high components and total power of heart rate power spectrum analysis, during controlled respiration ( $p < 0.001$ ). Thus, three-dimensional return map detected differences among normal individuals, diabetics without autonomic neuropathy and diabetics with autonomic neuropathy and correlated with 24-hour heart rate variability indices.

## Capítulo I - Introdução e Objetivos

### Introdução

A participação do sistema nervoso autônomo tem sido considerado uma parte importante na evolução de diversas patologias que acometem o sistema cardiovascular, entre elas o infarto agudo do miocárdio (1), a insuficiência cardíaca congestiva (2), e a morte súbita por arritmias (3). Atualmente, muitos esforços têm sido feitos para entender melhor o papel das alterações autonômicas, no sentido de prevenir complicações e melhorar o prognóstico destes pacientes, através de medidas terapêuticas. Portanto, tem crescido a necessidade de desenvolver métodos de análise do sistema nervoso autônomo que sejam simples, não invasivos, seguros, precisos e que permitam boa reprodutibilidade.

A partir do conhecimento de que as flutuações da frequência cardíaca batimento a batimento são resultado da interação simpato-vagal, a variabilidade da frequência cardíaca tem sido considerada uma janela aberta para o estudo do sistema nervoso autônomo (4). Inúmeros métodos foram desenvolvidos com o objetivo de revelar e quantificar os distúrbios autonômicos de forma não invasiva, buscando viabilizar o seu uso nas mais diversas situações clínicas.

Em função da grande incidência de alterações autonômicas cardiovasculares nos portadores de diabete

mélito, esta é uma das áreas que utiliza rotineiramente testes baseados na variabilidade da frequência cardíaca. São na sua maioria, testes que analisam a flutuação batimento a batimento por curtos períodos de tempo, não ultrapassando poucos minutos (5). Como são testes realizados em repouso, pouco representativos do comportamento do sistema nervoso autônomo nas 24 h do dia, ultimamente, métodos utilizando o eletrocardiograma de 24 h têm obtido sucesso na avaliação da neuropatia autônoma diabética e também de outras patologias (6).

Recentemente, o estudo dos sistemas não lineares tem se estendido para diversas áreas da Medicina, em especial a Cardiologia e a Neurologia, trazendo resultados intrigantes. O comportamento das flutuações da frequência cardíaca nas 24 h do dia, no indivíduo normal, parece apresentar características compatíveis com um comportamento não linear. Algumas das metodologias empregadas no estudo da dinâmica não linear, em especial as que estudam o comportamento caótico dos sistemas não lineares, já foram utilizadas para estudar a variabilidade da frequência cardíaca (7). O mapa de retorno foi utilizado por Woo et al para analisar os padrões de variabilidade da frequência cardíaca nas 24 h, em pacientes portadores de insuficiência cardíaca severa (8). Utilizando um retardo temporal de 1, encontraram distintos padrões de variabilidade nos portadores de insuficiência cardíaca, quando comparados com controles normais. Os controles normais apresentaram uma imagem semelhante a um

cometa com cauda estreita e cabeça larga. Os doentes não apresentaram formato de cometa, em geral perdendo a porção referente à cabeça. Os autores ainda analisaram subjetivamente as imagens geradas comparando-as com hélices de ventilador, torpedos e aglomerados de pontos. A grande limitação deste método é o fato de não fornecer informação quantitativa da variabilidade da frequência cardíaca, ficando apenas numa avaliação qualitativa. Por outro lado, a sobreposição de pontos que ocorre ao plotar todos os batimentos das 24 h do dia, pode esconder padrões de variabilidade.

Como nenhum método de quantificação da variabilidade da frequência cardíaca disponível até o momento consegue responder a todas as perguntas sobre o funcionamento do sistema nervoso autônomo, nos parece importante buscar novas soluções para o estudo da variabilidade da frequência cardíaca, chegando o mais próximo possível da realidade, que parece ser muito complexa e cheia de nuances. Em função disto, estamos propondo neste trabalho uma nova metodologia para o estudo da variabilidade da frequência cardíaca, baseada em um método utilizado para estudar o comportamento caótico dos sistemas dinâmicos não lineares. A nossa metodologia consiste na utilização de um mapa de retorno modificado, projetado na terceira dimensão, que busca quantificar as imagens geradas pelo mapa de retorno convencional, quando a variabilidade da frequência cardíaca é analisada por longos períodos de tempo.

## Objetivos

### A. Geral

Estudar a variabilidade da frequência cardíaca, através do mapa de retorno tridimensional.

### B. Específico

I - Avaliar o comportamento do mapa de retorno tridimensional em indivíduos normais e em portadores de diabetes mérito, com e sem neuropatia autônoma, para testar a hipótese de que o mapa de retorno tridimensional seja capaz de detectar diferenças na variabilidade da frequência cardíaca de 24 h entre indivíduos normais, portadores de diabetes mérito sem neuropatia autônoma e portadores de diabetes mérito com neuropatia autônoma.

II - Correlacionar os índices do domínio do tempo e domínio da frequência com os dados do mapa de retorno tridimensional, para testar a hipótese de que os índices obtidos pelo mapa de retorno tridimensional se correlacionam com os índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e no domínio da frequência.

## Capítulo II - Revisão da Literatura

### 1. Controle autonômico da frequência cardíaca

A homeostase do sistema cardiovascular é realizada por eficientes mecanismos de controle e de retroalimentação que buscam manter a pressão arterial média e o volume venoso central dentro de uma faixa relativamente estreita de variação. Isto é conseguido pela regulação constante da frequência cardíaca e do tônus vascular, com grande modulação por parte do sistema nervoso autônomo.

O estudo das variações da frequência cardíaca, decorrentes da adaptação do sistema cardiovascular aos mais diversos desafios, abriu uma janela preciosa para o estudo das influências do sistema nervoso autônomo sobre o nodo sinusal. A frequência cardíaca é usualmente avaliada na prática clínica em ciclos por minuto. No entanto, o controle exercido pelo sistema nervoso autônomo sobre o nodo sinusal é feito batimento a batimento. Isto fica evidente se compararmos os intervalos RR do eletrocardiograma, medidos em milissegundos. Mesmo durante ritmo sinusal, aparentemente regular, a frequência cardíaca apresenta flutuações, batimento a batimento.

Em 1975, na busca de um método não invasivo de avaliação do tônus vagal, Katona et al (9) iniciaram o uso



do eletrocardiograma como ferramenta não invasiva capaz de penetrar no sistema nervoso autônomo. Katona et al analisaram o comportamento dos intervalos RR em cães antes, durante e depois de serem submetidos ao congelamento do vago. Consideraram o controle parassimpático da frequência cardíaca como sendo a diminuição na média dos intervalos RR que ocorria após o congelamento vagal, em relação à situação de controle. Analisando a variação dos intervalos RR batimento a batimento, encontraram um coeficiente de correlação significativo de 0,97 com o controle parassimpático. Esta forte correlação entre a variação dos intervalos RR e o controle parassimpático da frequência cardíaca indicava que a variação dos intervalos RR poderia ser utilizada no estudo do sistema nervoso autônomo, como um índice quantitativo não invasivo.

Fouad et al (4) repetiram em humanos o trabalho de Katona et al (9), utilizando em vez de congelamento do vago, o bloqueio farmacológico com atropina. A soma dos intervalos RR maiores, menos a soma dos intervalos RR menores, num período de 30 segundos, foi considerada como a Variação dos Períodos Cardíacos. E, da mesma forma que Katona et al, encontraram forte correlação entre este índice e o controle parassimpático da frequência cardíaca (diferença entre a frequência cardíaca média antes e depois do bloqueio farmacológico com atropina).

O estudo do comportamento dos intervalos RR no eletrocardiograma tem auxiliado sobremaneira no entendimento

do sistema nervoso autônomo. Além da simples variação da frequência cardíaca, outros aspectos têm sido observados. As flutuações nos intervalos RR batimento a batimento estudadas por Katona et al apresentam características especiais e o seu comportamento está vinculado diretamente aos ramos do sistema nervoso autônomo. Elas apresentam basicamente dois componentes distintos. Um de alta frequência, relacionado com os movimentos respiratórios, facilmente identificado como arritmia sinusal respiratória. O outro, de baixa frequência, apresenta ciclos que duram pelo menos 6 segundos e é mais difícil de ser identificado no eletrocardiograma convencional. A arritmia sinusal respiratória é mediada exclusivamente pelo sistema nervoso parassimpático. O componente de baixa frequência é mediado pelo sistema nervoso simpático e também, em parte, pelo parassimpático.

### 1.1. Controle parassimpático da frequência cardíaca

A oscilação da frequência cardíaca secundária à respiração, conhecida como arritmia sinusal respiratória, é um fenômeno mediado pelo vago, através de estímulos diretos dos centros respiratórios cerebrais, mas que depende também de reflexos cardiopulmonares.

O grau de influência que a respiração exerce sobre a frequência cardíaca depende, entre outras coisas, da fase da respiração, da frequência respiratória e do volume de ar corrente (10,11,12). As mudanças na frequência cardíaca

ocorrem de forma bifásica, sendo que tanto a inspiração como a expiração provocam aceleração e depois desaceleração da frequência cardíaca (13).

O prolongamento dos intervalos RR, relacionado com a respiração, ocorre no início da expiração, por descarga vagal neste momento. O aumento da frequência respiratória proporciona o aumento dos intervalos RR mais longos e o encurtamento dos intervalos RR mais curtos. Contudo, como o prolongamento dos intervalos é maior do que o encurtamento, o resultado final do aumento na frequência respiratória é o aumento da média dos intervalos RR.

O aumento do volume de ar corrente gera também aumento da arritmia sinusal respiratória, mas não de forma muito importante. Um aumento de 50% no volume de ar corrente provoca 15% de aumento na variabilidade dos intervalos RR. Em função disto, segundo Eckberg (10), para avaliar o tônus vagal através da variabilidade dos intervalos RR, não é necessário controlar o volume de ar corrente, desde que o indivíduo mantenha uma ventilação mais ou menos constante.

São propostos três mecanismos para explicar a modulação da frequência cardíaca pela respiração: 1) variações cíclicas da pressão intra-aórtica produzidas pela respiração alteram mecanicamente o retorno venoso e as circulações pulmonar e aórtica, que, por ação central, repercutem sobre a frequência cardíaca via barorreceptores arteriais ou receptores atriais; 2) receptores pulmonares e da parede torácica são sensíveis à frequência respiratória e

ao volume de ar corrente, sendo que o aumento da frequência respiratória diminui a amplitude das oscilações da frequência cardíaca e o aumento do volume de ar corrente aumenta a amplitude das oscilações da frequência cardíaca; 3) influência direta dos neurônios respiratórios medulares sobre os neurônios cardiomotores (14,15,16). Mesmo havendo grande participação respiratória e da atividade barorreflexa na modulação da frequência cardíaca, a eliminação experimental dos movimentos respiratórios e das flutuações da pressão arterial não elimina completamente a arritmia sinusal respiratória, enquanto houver atividade inspiratória central. A depressão do centro respiratório faz desaparecer a arritmia sinusal respiratória (15) sugerindo uma grande participação central.

A arritmia sinusal respiratória apresenta variação com a idade. É mais intensa aos 9 anos de idade e, segundo alguns autores, diminui até os 35 anos, não variando após isto (15,17).

Hellman e Stacy (18) estudaram um grupo de 24 indivíduos saudáveis e encontraram um coeficiente de correlação de  $-0.83$  entre o percentual de variação da frequência cardíaca em relação à frequência cardíaca média e a idade. A variação da arritmia sinusal respiratória com a idade é linear, ou seja, quanto mais velho, menos arritmia sinusal respiratória.

Hrushesky et al (19) também demonstraram que a amplitude da arritmia sinusal respiratória diminui na

proporção de 10% por década, estando presente mesmo em idades avançadas.

## 1.2. Controle simpático da frequência cardíaca

Como já mencionamos, a homeostase do sistema cardiovascular depende da regulação constante dos sistemas arterial e venoso. O sistema nervoso simpático modula a atividade vasomotora gerando oscilações de baixa frequência na pressão arterial, que não mantém nenhuma relação com os movimentos respiratórios.

Estas oscilações na pressão arterial sistêmica apresentam 6 a 9 ciclos por minuto e são conhecidas como ondas de Mayer. Estas mesmas oscilações podem também ser detectadas na frequência cardíaca. Para explicar a influência destas oscilações sobre a frequência cardíaca Akselrod et al (14) propuseram o seguinte mecanismo: os leitos vasculares locais regulam a resistência local para adequar o fluxo à demanda. O sistema renina-angiotensina participa do processo controlando a variabilidade na resistência periférica e a variabilidade residual é compensada pela variação da frequência cardíaca, através da atividade barorreflexa. O aumento crônico da atividade do sistema renina-angiotensina parece alterar o controle da frequência cardíaca, durante as oscilações da pressão arterial (20).

### 1.3. Integração dos estímulos simpático e parassimpático no nodo sino-atrial

Berger et al, (21) estudando cães com bloqueio autonômico completo, estimularam eletricamente os sistemas simpático e parassimpático e observaram a resposta sobre a frequência cardíaca. Constataram que a estimulação vagal em uma determinada frequência consegue produzir alterações na variabilidade da frequência cardíaca quase sem retardo, (Figura 1). A esquerda, na parte superior, vemos a estimulação vagal instântanea sobre o nodo sinusal e, na parte inferior, a frequência atrial correspondente. Nota-se que houve diminuição da frequência cardíaca e esta estimulação gerou grandes oscilações na frequência atrial. Por outro lado, a estimulação simpática, (Figura 1 à direita), apresentou um retardo na condução do estímulo. Na parte superior vemos a estimulação simpática instantânea e na parte inferior, a resposta da frequência atrial. Nota-se que houve aumento da frequência cardíaca, mas o nodo sinusal não foi capaz de transmitir todas as oscilações da estimulação neural para a frequência cardíaca, devido a um retardo importante na condução do estímulo. Funciona como se houvesse um filtro passa-baixo impedindo a transmissão do estímulo. Segundo os autores, as propriedades deste filtro refletem a cinética dos receptores adrenérgicos ou dos processos intracelulares associados ao receptor e não

necessariamente a fatores intrínsecos ao nodo sinusal ou ao tecido atrial associado.

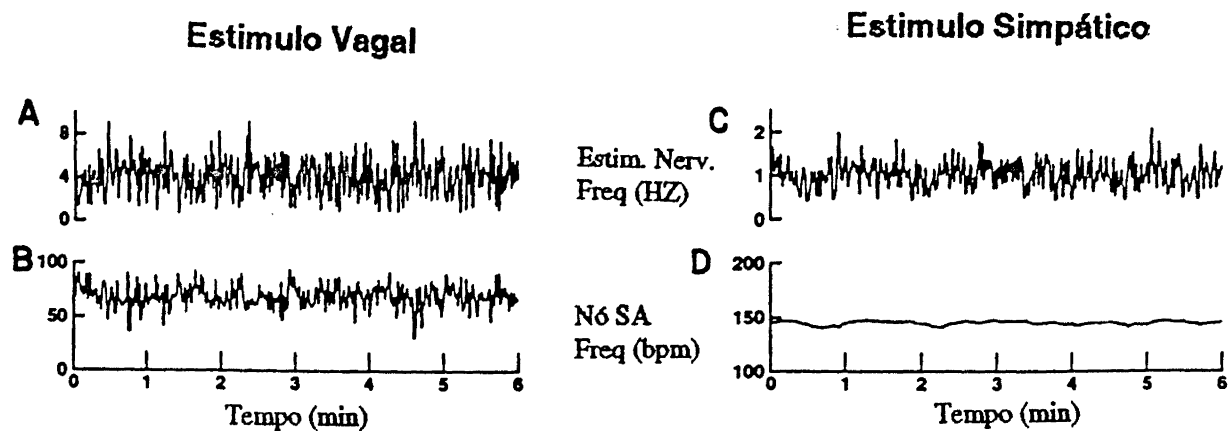


FIGURA 1. Representação da resposta da estimulação nervosa sobre o nodo sinusal. A- estimulação vagal instantânea sobre o nodo sinusal; B- frequência atrial correspondente; C- estimulação simpática instantânea sobre o nodo sinusal; D- frequência atrial correspondente.

A modulação da frequência cardíaca pelo sistema nervoso autônomo sofre a influência de uma série de estímulos que são integrados no sistema nervoso central e, através dos nervos eferentes vago e simpático, são transmitidos ao nodo sinusal. Entre eles estão os estímulos enviados pelo estresse emocional, pelos receptores do sistema respiratório, pelos receptores cardíacos e receptores carotídeos. Recentemente, estudos têm demonstrado que também o rim apresenta um papel importante na homeostase cardiovascular, atuando no controle barorreflexo da frequência cardíaca (22). O estímulo eferente parassimpático é transmitido quase sem retardo e o simpático sofre um retardo apreciável. A integração destes dois estímulos gera

a frequência cardíaca e a variabilidade da frequência cardíaca (23).

## 2. Análise do sistema nervoso autônomo pelo eletrocardiograma

Inúmeros pesquisadores têm estudado as relações entre estas variações e a modulação autonômica, buscando desenvolver métodos de análise confiáveis, experimentalmente validados, com utilidade para a pesquisa e para a prática clínica. Os métodos desenvolvidos, até o momento, utilizam períodos de tempo e níveis de sofisticação tecnológica e computacional distintos. Alguns deles utilizam o registro eletrocardiográfico por períodos tão curtos como apenas alguns segundos, enquanto outros utilizam todas as 24 horas do dia. Quanto à sofisticação, os métodos podem prescindir de qualquer equipamento além do eletrocardiógrafo, como podem utilizar computadores de última geração, com algoritmos muito complexos.

Para testar a integridade dos reflexos cardiovasculares podem ser usados diversos estímulos como ortostatismo (24), exposição ao frio (25), estresse mental (26), exercício estático (27, 28, 29), exercício dinâmico, exposição à drogas (30, 31, 32, 33), respiração, manobra de Valsalva, tosse e decúbito (16).



A variação entre os intervalos RR tem sido estudada basicamente por métodos no domínio da frequência (34) e métodos no domínio do tempo (35, 36).

A análise no domínio da frequência se refere ao estudo dos componentes de frequência que compõem a série temporal dos intervalos RR no período escolhido, através da análise espectral. No caso da análise espectral, a diferença entre os métodos está na escolha do tipo de algoritmo a ser utilizado para fazer a decomposição do espectro de frequência e no tamanho da série temporal.

A análise no domínio do tempo se refere ao estudo da dispersão dos intervalos RR em torno da média, calculada num período de tempo escolhido. A diferença entre os métodos está apenas na escolha da abordagem matemática para traduzir esta dispersão.

### 2.1. Análise espectral da frequência cardíaca

O estudo dos componentes de alta e baixa frequência no eletrocardiograma pode ser feito adequadamente pela análise espectral da frequência cardíaca. Este método utiliza recursos matemáticos que possibilitam a identificação e a quantificação de cada um destes componentes. Ele representa um sinal no domínio da frequência, no qual a variabilidade no sinal aparece como um conjunto de oscilações individuais, cada uma com frequência e amplitude específicas. De uma forma esquemática, podemos explicar a transposição de um

fenômeno no domínio do tempo para o domínio da frequência da seguinte forma (37): na Figura 2A (Figura 2A à esquerda) estão representadas no domínio do tempo diversas oscilações de mesma amplitude, mas com frequências distintas. Se considerarmos este intervalo de tempo como sendo 1 segundo, estas oscilações variam de 1 a 6 ciclos por segundo. A direita vemos a sua representação no domínio da frequência. Se expressamos as frequências em Hz (1Hz=1 ciclo/segundo), diremos que estas oscilações variam de 1 a 6 Hz. Se somarmos várias destas oscilações simples, com frequências distintas, obteremos uma oscilação com características mais complexas. Na figura 2B temos um exemplo da soma de oscilações de baixa e alta frequência e a sua decomposição nos diversos componentes de frequência .

A análise espectral da frequência cardíaca baseia-se na análise computadorizada da variação dos intervalos RR batimento a batimento. A partir disto é montada uma série temporal da frequência cardíaca (Figura 3 parte superior), sobre a qual se aplica um procedimento matemático chamado Transformação Rápida de Fourier, que separa os diferentes componentes de frequência da série temporal (Figura 3 parte inferior). Como agora estamos trabalhando com dados contínuos, a representação no domínio da frequência aparece como uma curva, e não como barras, e a amplitude é expressa como Densidade da Potência Espectral (PSD). O valor da Potência Espectral numa dada frequência representa a contribuição daquela frequência em particular para a energia

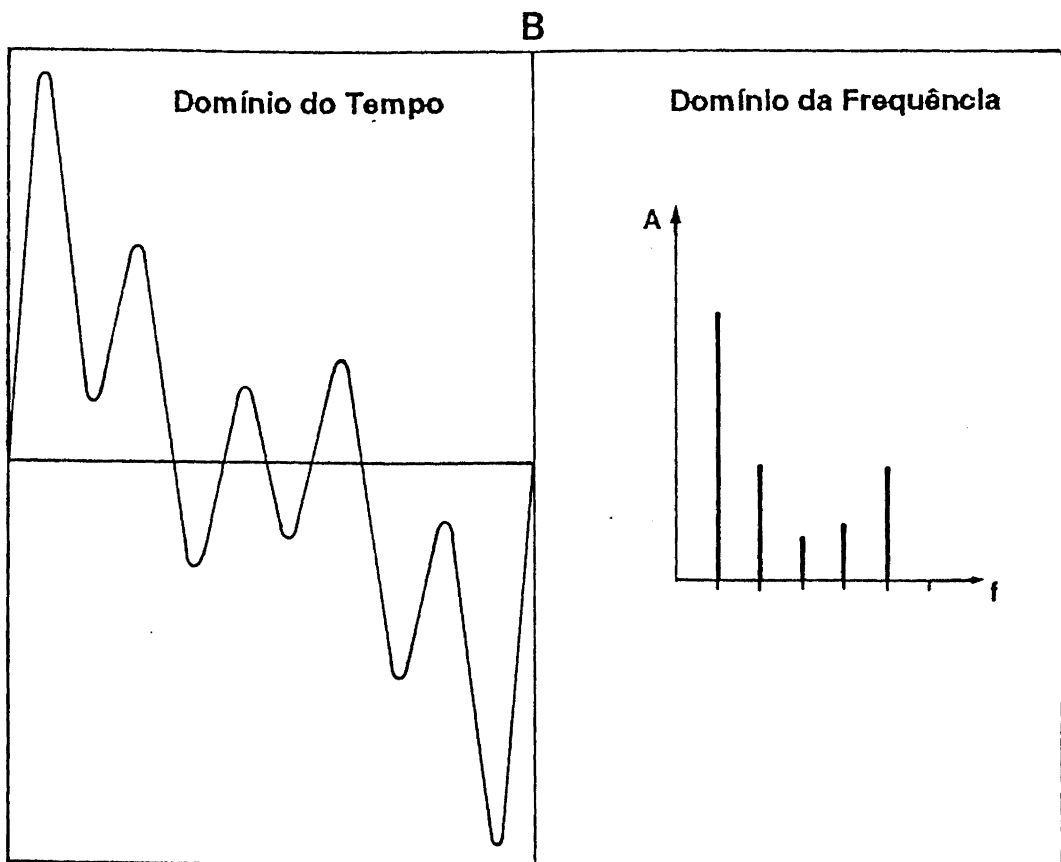
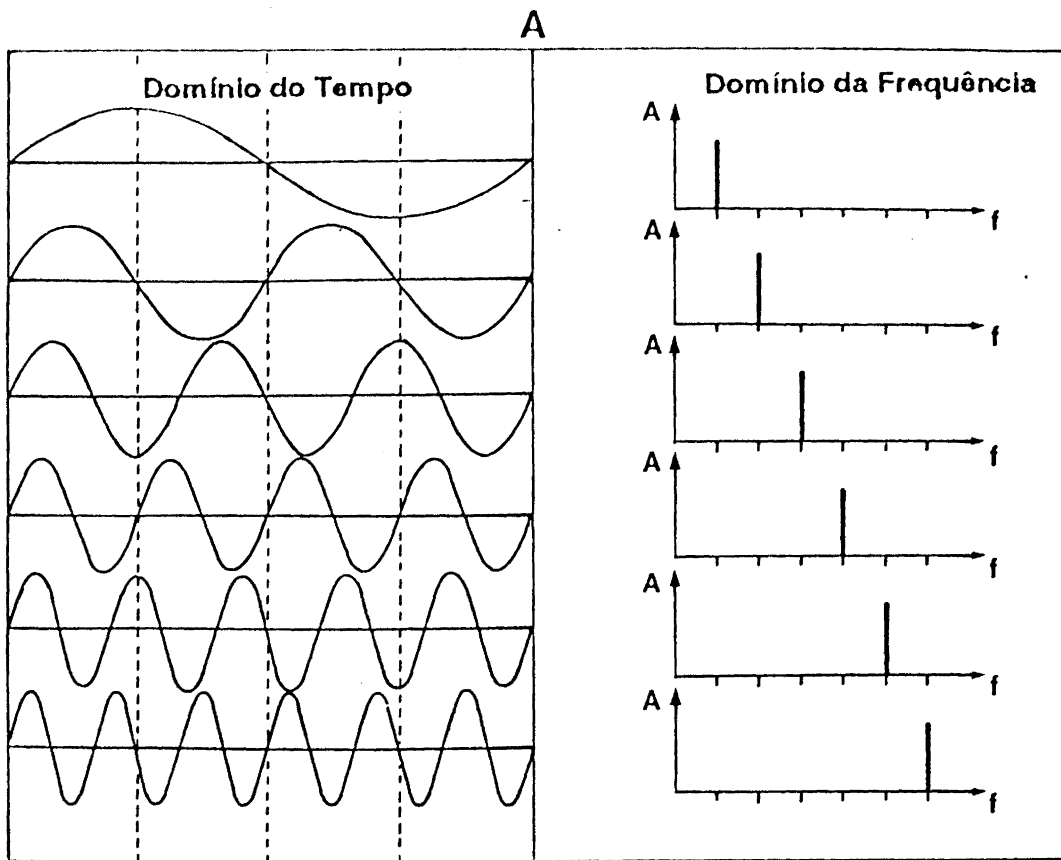


FIGURA 2. A - Transposição do domínio do tempo para o domínio da frequência; B - Somatório de várias oscilações de frequências distintas representadas no domínio do tempo e da frequência.

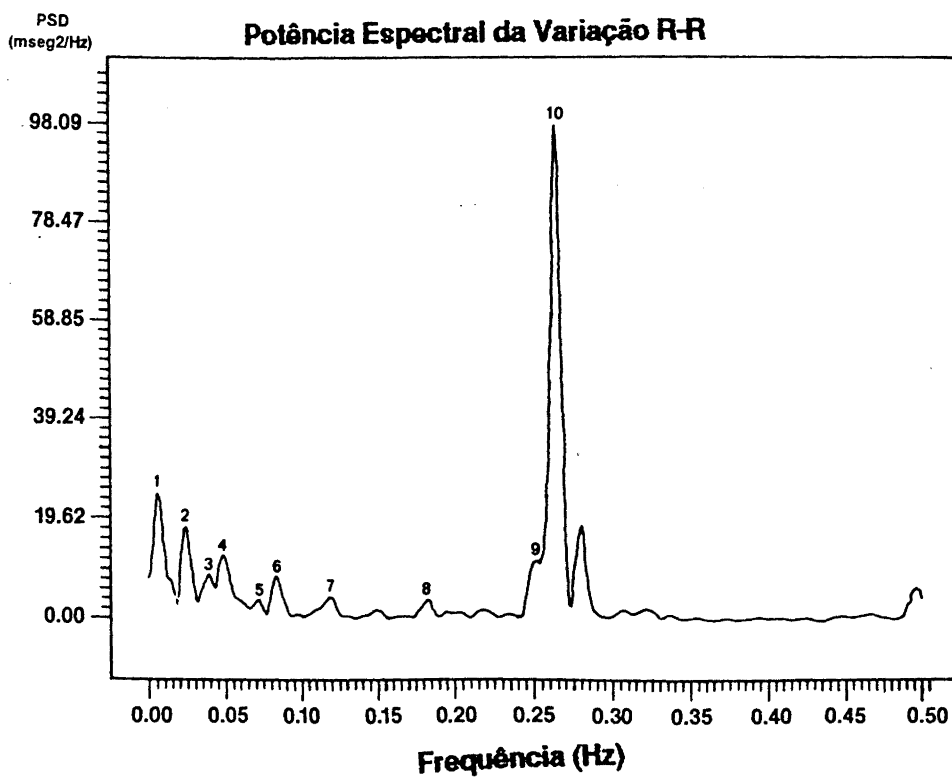
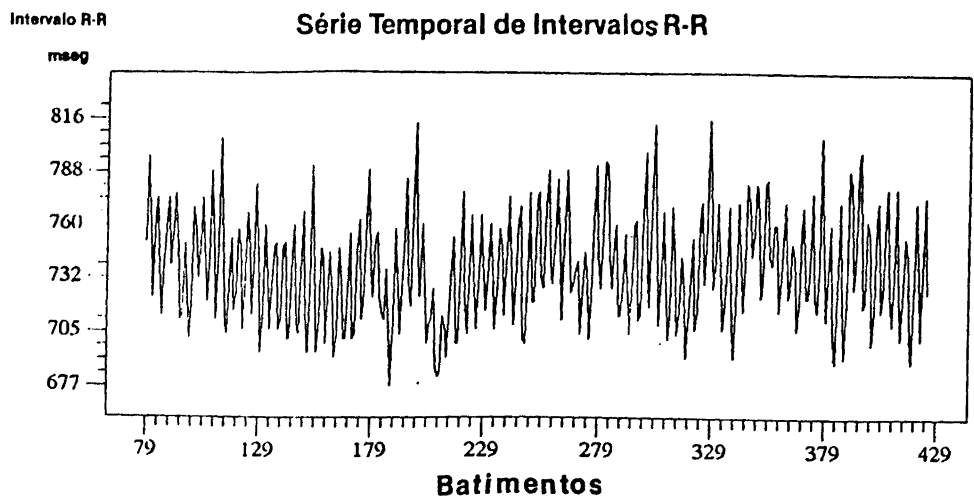


FIGURA 3. Parte superior - série temporal de intervalos RR em batimentos por milissegundos. Parte inferior - análise espectral da frequência cardíaca.

total do sinal. A área total desta curva representa a variabilidade da frequência cardíaca, no período estudado.

Este método já foi devidamente validado, pela sua aplicação em animais e em humanos, por diversos autores. Akselrod et al (38) estudaram cães em situação basal e submetidos a bloqueio farmacológico. Randall et al (39) estudaram cães submetidos à parassimpatectomia seletiva, somente do nodo sinusal. Pagani et al (40) estudaram humanos em repouso; na posição supina; durante ventilação controlada em posição supina e em ortostatismo; com estimulação simpática, através do ortostatismo e sob bloqueio farmacológico com betabloqueador. Estudaram ainda cães submetidos à estelectomia bilateral, para eliminar o estímulo simpático.

Em humanos foram definidas duas faixas de frequência onde a variabilidade da frequência cardíaca pode ser estudada. Uma faixa de Baixa Frequência (BF), com oscilações entre 0,03 e 0,15 Hz e outra de Alta Frequência (AF), com oscilações entre 0,15 e 0,35 Hz (Figura 4A). As oscilações de AF estão relacionadas aos movimentos respiratórios, são mediadas quase que exclusivamente pelo vago e desaparecem com o bloqueio farmacológico do parassimpático com atropina ou hioscina (Figura 4B) (38,41). O bloqueio vagal também produz uma discreta diminuição das oscilações de BF, indicando que o vago é responsável, em parte, pela modulação da frequência cardíaca, nesta faixa de frequência. O bloqueio farmacológico com propranolol faz

desaparecer as oscilações de BF, indicando a origem simpática destas oscilações. E o bloqueio autonômico completo faz desaparecer, praticamente, toda e qualquer oscilação dos intervalos RR, ou seja, a análise espectral mostra ausência de potência espectral em todas as faixas de frequência, como vemos na linha pontilhada da figura 4B. A desnervação que ocorre como consequência do transplante cardíaco também elimina os componentes da análise espectral (42).

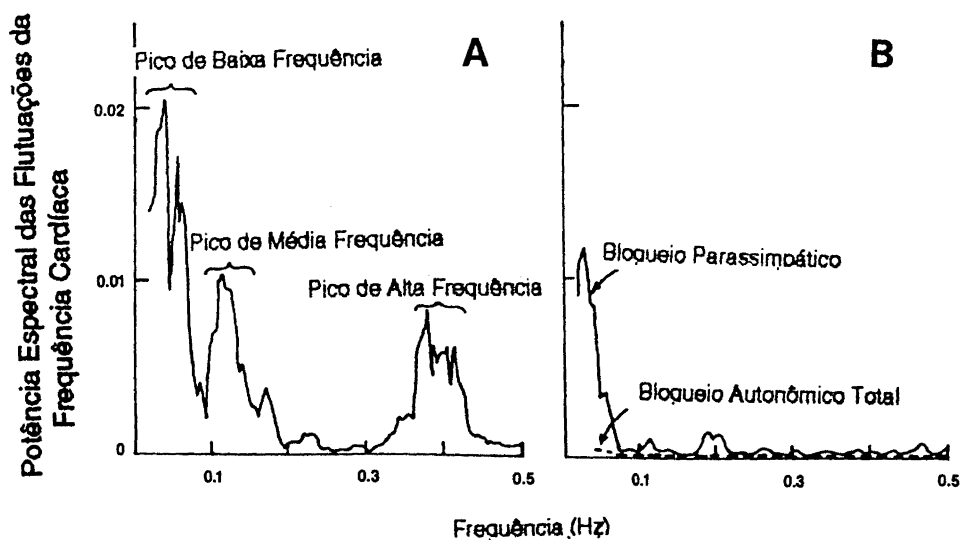


FIGURA 4. A - Representação dos picos de baixa, média e alta frequência da análise espectral da frequência cardíaca; B - Ilustra o resultado do bloqueio farmacológico.

A resposta da análise espectral ao ortostatismo passivo pode ser utilizada para demonstrar a integridade do sistema nervoso simpático, produzindo aumento dos componentes de baixa frequência e diminuição dos componentes de alta frequência. A incapacidade de aumentar a potência dos componentes de baixa frequência sugere excesso de tônus

simpático em repouso ou ausência de modulação simpática, como nos diabéticos com neuropatia autônoma avançada (43). As drogas com efeito betabloqueador também diminuem a resposta ao ortostatismo passivo (44).

As medidas obtidas através da análise espectral são estáveis, tendo sido demonstrado que existe pequena variação no tempo, tanto para estudos envolvendo apenas alguns minutos (40), como para os que utilizam as 24 horas do dia (45).

Em relação à idade, ocorre diminuição da variabilidade da frequência com o envelhecimento, em todas as faixas de frequência. Após os 60 anos de idade esta diminuição pode ser mais abrupta (46).

## 2.2. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo consiste na análise da dispersão em torno da média dos intervalos RR normais.

Com o advento do eletrocardiograma de 24h, a variabilidade da frequência cardíaca passou a ser avaliada nas 24h do dia, englobando não só as situações de repouso mas também as influências do ritmo circadiano e das atividades diárias habituais.

Inúmeros métodos têm sido utilizados, por diferentes pesquisadores, com resultados na maioria concordantes (1,47,48,49,50,51,52,53,54,55).

Os métodos de cálculo da variabilidade baseados no eletrocardiograma de 24h sempre utilizam apenas os intervalos RR normais, desprezando os artefatos e as ectopias. O resultado destes cálculos geram um índice que representa toda a variabilidade das 24h. Os índices mais popularizados até o momento, com as suas abreviações conhecidas internacionalmente, são os seguintes:

- . desvio padrão de todos intervalos RR normais (SDNN);
- . média dos desvios padrão dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos (SDNNi);
- . desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculadas em intervalos de 5 minutos (SDANNi);
- . raiz quadrada da média das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes, também chamada de raiz quadrada média das diferenças sucessivas (RMSSD);
- . percentagem das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes que excedem a 50 milissegundos (PNN50).

O significado fisiológico destes índices tem sido estudado através da análise espectral em indivíduos normais (56), em pacientes pós-infarto do miocárdio (57,58) e em pacientes com risco de morte súbita (48). Cada um destes índices parece estar associado com um ou com ambos os ramos do SNA.



O SDNN e o SDANNi se correlacionam bem com os componentes do espectro de frequência abaixo de 0,0033 Hertz (Hz), que seriam responsáveis pelo controle da frequência cardíaca durante as flutuações muito lentas, ligadas ao ritmo circadiano durante os períodos de atividade e nas mudanças de postura (56).

O SDNNi se correlaciona com os componentes entre 0,0033 e 0,04 Hz do espectro de frequência e é menos afetado pela atividade e por mudanças de postura (48).

O RMSSD e o PNN50 se correlacionam com os componentes entre 0,15 e 0,4 Hz do espectro de frequência, sendo índices que expressam a atividade vagal (6,57,59).

Os índices obtidos a partir do ECG de 24h, tanto no domínio do tempo, como no domínio da frequência, traduzem adequadamente a atividade vagal, mas não se correlacionam de forma isolada com a atividade simpática (60,57,61). Trabalhando com animais em laboratório, é possível fazer a medida direta da atividade nervosa simpática de forma invasiva com bons resultados, através de várias técnicas (62). Em humanos, no entanto, métodos não invasivos têm sido buscados, entre eles o estudo da atividade simpática através da análise espectral da frequência cardíaca. Este parece ser um método bastante adequado, mas necessita que sejam analisados períodos curtos de tempo e que sejam utilizadas manobras de estímulo simpático (40). Até o momento, parece não haver nenhum método de análise da variabilidade da

frequência cardíaca das 24 horas, capaz de estudar a atividade simpática isoladamente.

Do ponto de vista clínico, o estudo da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo obteve grande impulso a partir do trabalho publicado por Kleiger et al (63), demonstrando que pacientes pós-infarto do miocárdio, com diminuição da variabilidade da frequência cardíaca nas 24h do dia, medida pelo SDNN, tinham risco aumentado para morte súbita.

A variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo também tem sido estudada na Insuficiência Cardíaca (2); no diabetes mérito (6); na dependência crônica ao álcool (52); no efeito de drogas cardiovasculares (60,64) na avaliação do ritmo circadiano (65) e nos transplantados cardíacos (66).

### 3. Comprometimento do sistema nervoso autônomo no diabetes mérito

A neuropatia autônoma é uma complicação freqüente do diabetes mérito que acomete diversos sistemas do organismo. Provoca distúrbios da função motora, sensorial e reflexa, em especial nos sistemas cardiovascular e gastrointestinal, incluindo alterações na dinâmica da vesícula biliar (67,68) e urogenital. Altera os mecanismos de termorregulação, o controle autonômico da secreção endócrina e o funcionamento

do reflexo pupilar. Possivelmente também interfere com o controle da respiração.

Além da sintomatologia secundária a alguns destes distúrbios acima descritos, a neuropatia autônoma do diabete apresenta ainda associação definida com aumento da mortalidade, com uma incidência aproximada de 50% de mortalidade em 3 anos e episódios de morte súbita inesperada (68,69).

A prevalência exata da neuropatia autônoma em diabéticos é difícil de ser estabelecida uma vez que os sintomas nem sempre são floridos e os testes mais específicos nem sempre são realizados. Ela tem sido descrita como podendo variar de 5 a 60% (43).

O desenvolvimento da neuropatia autônoma é um processo contínuo, mas que nem sempre segue a mesma sequência. As manifestações mais precoces, em geral, são as alterações termorregulatórias e de sudorese dos membros inferiores, seguidas por impotência e alterações de bexiga vesical. Surgem então o comprometimento dos reflexos cardiovasculares, insensibilidade à hipoglicemia, hipotensão postural e gastroparesia (70).

O comprometimento do sistema nervoso autônomo a nível cardiovascular é uma complicação já bem conhecida e estudada na literatura, promovendo, entre outras alterações, diminuição na variabilidade da frequência cardíaca (71,72) e perda dos reflexos circulatórios envolvidos na resposta a manobras de estimulação simpática (73) por acometimento dos

nervos eferentes cardíacos (74). Ambos os ramos do sistema nervoso autônomo podem ser afetados. Acredita-se que o parassimpático seja afetado mais precocemente do que o simpático, mas não está descartada a possibilidade do acometimento ser simultâneo (75). Em função da gravidade destas complicações, existe grande interesse no desenvolvimento de métodos capazes de fazer o diagnóstico precoce da neuropatia autônoma. Entre os métodos disponíveis, a avaliação do comprometimento dos reflexos cardiovasculares tem sido utilizada de forma ampla na prática clínica, pela estruturação de testes autonômicos simples realizáveis à beira do leito, que dispensam a necessidade de equipamentos sofisticados. Os testes mais usados são os descritos e padronizados por Ewing (76). Eles utilizam as respostas da frequência cardíaca e da pressão arterial a estímulos padronizados. Os testes que avaliam a variação dos batimentos cardíacos avaliam a integridade do sistema nervoso parassimpático e os que avaliam a variação da pressão arterial avaliam o sistema nervoso simpático. Os testes autonômicos, em geral, são mais alterados nos idosos (66,77) e a presença de testes alterados se correlaciona com a presença de outras complicações do diabetes melito (78,79). O seu uso auxilia na análise da prevalência e da severidade das complicações da doença.

Numa tentativa de estabelecer metodologias mais sensíveis e mais confiáveis para o diagnóstico da neuropatia autônoma, a variabilidade da frequência cardíaca em

pacientes diabéticos tem sido avaliada através do ECG de 24h (6,80) e da análise espectral da frequência cardíaca (43,81,82,83,84,).

Estas metodologias conseguem detectar diferenças entre diabéticos portadores de neuropatia autônoma e indivíduos normais e a sua execução independe da cooperação dos pacientes. A análise espectral mostra forte correlação com os testes autonômicos tradicionais (43,82,83) e parece ser mais sensível do que eles, detectando as alterações mais precocemente.

#### 4. Comportamento caótico dos sistemas não lineares

O comportamento do coração pode parecer muito simples e regular, ou pode parecer extremamente complexo e irregular, dependendo da forma que o observamos. O comportamento do coração analisado batimento a batimento certamente é muito complexo, mas não necessariamente é resultado de fenômenos muito complexos. Ao contrário do que usualmente somos levados a raciocinar, certos fenômenos aparentemente complexos podem ser gerados por sistemas simples, como tem sido demonstrado pelos recentes avanços no estudo da dinâmica não linear. Os novos conceitos da dinâmica não linear, entre eles o do comportamento caótico de certos sistemas, recentemente têm sido aplicados no estudo do comportamento cardíaco com relativo sucesso.

Os sistemas dinâmicos, dependendo das suas características, podem ser definidos como lineares ou não lineares. Os sistemas lineares se caracterizam por variarem de forma constante e, se observados por tempo suficiente, sempre tendem ao infinito ou a um valor constante determinado. Acoplando dois ou mais sistemas dinâmicos lineares obtemos oscilações que podem ser regulares, podem apresentar crescimento contínuo ou decréscimo contínuo, também tendendo ao infinito ou a um valor constante qualquer (85). Ao contrário dos sistemas dinâmicos lineares, os sistemas não lineares se caracterizam, entre outras coisas, por oscilações que podem variar desde um estado de equilíbrio, até apresentar comportamento periódico e comportamento aperiódico, ou caótico. A transição de um estado de equilíbrio para o de oscilações periódicas, ou a transição de oscilações periódicas para aperiódicas é chamado de bifurcação. As bifurcações acontecem de forma abrupta e a identificação desta transição reforça a presença de comportamento caótico.

O comportamento caótico pode ser definido de forma objetiva e concisa, desde que se entenda o significado do que é um comportamento estocástico e como se comporta um sistema determinístico. Um comportamento é estocástico quando a probabilidade de ocupação do próximo estado independe do estado anterior. Já um sistema é dito determinístico, quando a sua evolução temporal for governada por uma equação ou conjunto de equações, ou seja, apresenta

uma lei de formação. A partir disto, podemos definir que o comportamento caótico é um comportamento estocástico que ocorre num sistema determinístico. Um exemplo explicativo disto é o chamado Mapa de Kaplan (86), onde um sistema aparentemente aleatório, se analisado através de um mapa de retorno com retardo temporal de 1, apresenta uma lei de formação bem definida. Em geral, os sistemas que apresentam comportamento caótico podem ser definidos por equações matemáticas simples.

Recentemente, o crescente interesse pelo comportamento dos sistemas não lineares em diversas áreas da ciência começou a influenciar também o estudo da variabilidade da frequência cardíaca. Uma série temporal de intervalos RR, nitidamente apresenta comportamento não linear (87), provavelmente pelo fato de que os mecanismos que controlam o nodo sinusal, como o tônus simpático, o tônus parassimpático, a atividade hormonal, a pré-carga e a pós-carga, também são não lineares (7). Goldberger sugere que o comportamento de uma série temporal de intervalos RR, quando analisada por períodos de tempo gradativamente menores, mantém sempre as suas características básicas, o que considera como sendo um comportamento fractal deste sistema. E, da mesma forma, considera a estrutura do Sistema His-Purkinje um fractal, o que também influenciaria o comportamento da frequência cardíaca (88).

O termo fractal foi criado por Mandelbrot (89) e significa um objeto com uma estrutura detalhada que fica

evidente mesmo que sejam utilizadas diversas escalas. Um fractal apresenta a qualidade da autossimilaridade, ou seja, independente da escala utilizada, o objeto ainda é reconhecido como tal. A estrutura detalhada de um fractal impede que ele seja mensurado por qualquer escala de comprimento. No caso do comportamento dos batimentos cardíacos através do tempo, também não é possível a caracterização do sistema por uma única escala temporal (90), sugerindo comportamento fractal.

A complexidade de uma figura pode ser mensurada pela sua dimensão fractal, através de algoritmos específicos. Quanto mais irregular, quanto mais complexa, quanto mais espaço ela ocupa, maior é a sua dimensão fractal. Os sistemas caóticos também podem ser identificados e quantificados de acordo com a sua dimensão fractal. A dimensão fractal é baixa no comportamento periódico e aumenta à medida que ocorre comportamento caótico.

Ao contrário da sugestão do senso comum de que o coração normal funciona com a regularidade de um relógio, o comportamento dos intervalos RR nas 24 h do dia é não linear e provavelmente caótico. Um indício disto é o comportamento da análise espectral da frequência cardíaca onde o padrão encontrado em indivíduos normais é de um espectro de banda ampla (91) e com comportamento  $1/f$  (92), ou seja, com oscilações da frequência cardíaca em diversas faixas de frequência e com diminuição da potência espectral à medida que aumenta a frequência. A perda da variabilidade da



frequência cardíaca secundária a doenças, como insuficiência cardíaca e diabetes melito, (93) ou devido ao envelhecimento (46), torna o sistema mais periódico, menos caótico. A análise do comportamento  $1/f$  da frequência cardíaca para diferentes níveis de variabilidade mostra que ele mantém as mesmas características, reforçando o conceito de comportamento fractal do sistema. A presença do caos está provavelmente associada à saúde e não à doença.

O estudo do comportamento caótico dos sistemas permite analisar fenômenos complexos através de equações matemáticas simples que identificam a estrutura do sistema em questão. No caso da frequência cardíaca, várias ferramentas têm sido utilizadas com o objetivo de detectar comportamento caótico (7) e entre elas o mapa de retorno, que consiste em plotar um evento com o seu próximo, usando um retardo temporal definido.

Recentemente, Woo et al (8) aplicaram o mapa de retorno no estudo da variabilidade da frequência cardíaca, plotando um intervalo RR com o intervalo RR subsequente, durante as 24 h do dia, usando retardo temporal de 1.

Foram estudados 24 indivíduos normais e 24 pacientes com insuficiência cardíaca. Em todos os normais, foi encontrado no mapa de retorno um formato semelhante ao de um cometa. Em nenhum dos pacientes com insuficiência cardíaca foi encontrado este formato e sim 3 formatos distintos: 1) formato de torpedo; 2) formato de hélice e 3) padrões

complexos com aglomerados de pontos. O método conseguiu separar os 2 grupos de indivíduos de forma adequada.

Apesar do ineditismo desta abordagem e da significância estatística alcançada, o emprego do mapa de retorno num sistema como os batimentos cardíacos das 24h parece ser um método limitado. Pelo grande número de batimentos encontrados em 24h, inúmeros pontos são plotados uns sobre os outros, impedindo uma idéia exata da concentração de pontos nas diversas regiões do sistema. Desta forma, os diversos padrões encontrados por Woo podem representar eventos envolvendo um número muito pequeno de batimentos, com pouca ou nenhuma contribuição para a variabilidade das 24h do dia.

## Capítulo III - Material e Métodos

### 1. Pacientes e controles

Critérios de seleção: pacientes atendidos no ambulatório de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, portadores de diabetes mérito tipo II (não insulino-dependente) de acordo com os critérios do National Diabetes Data Group (93).

Foram selecionados 22 pacientes, todos de cor branca, com idade entre 47 e 73 anos. A descrição dos dados clínicos de todos indivíduos selecionados está apresentada nas Tabelas 1 e 2.

Após a seleção, os pacientes foram divididos em dois grupos: 10 pacientes que apresentavam evidências de neuropatia autônoma definida pela presença de mais de um teste autonômico cardiovascular alterado, de acordo com a padronização de Ewing (76), e 12 pacientes que não apresentavam tais evidências. O grupo com neuropatia autônoma foi chamado de neuropatas e o grupo sem neuropatia autônoma foi chamado de diabéticos. Do grupo de neuropatas 5 apresentavam evidências de retinopatia de base no exame de fundo de olho. Do grupo de diabéticos, apenas 1 apresentava esta alteração. Neuropatia periférica esteve presente em 6 neuropatas e 4 diabéticos e 2 neuropatas apresentavam dosagens da proteinúria de 24 h compatíveis com o diagnóstico de nefropatia e 2 neuropatas também tiveram

macroangiopatia. Três neuropatas apresentavam diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, sendo que dois estavam fazendo uso de medicação anti-hipertensiva em doses baixas na ocasião do estudo. Uma paciente com neuropatia autônoma, com diagnóstico de diabetes há 10 anos, portadora de retinopatia e neuropatia periférica, também tinha diagnóstico de miocardiopatia dilatada por ecocardiograma bidimensional, sem evidências de cardiopatia isquêmica avaliada por cintilografia miocárdica de esforço com Thallium-201. Estava bem compensada com digoxina e captopril, encontrando-se, por ocasião do estudo, em classe funcional II da NYHA (New York Heart Association).

Como grupo controle foram selecionados 12 indivíduos de ambos os sexos, de cor branca, com idade entre 45-76 anos, sabidamente não portadores de nenhum tipo de cardiopatia, diabetes melito ou outra doença causadora de neuropatia autônoma e que concordaram em participar do estudo. O grupo controle foi chamado de normais. Tanto os normais, como os diabéticos e neuropatas assinaram termo de consentimento, (modelo no Anexo I).

TABELA 1. Características clínicas da amostra.

NOME	IDADE	SEXO	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	IMC (kg/ m <sup>2</sup> )
<u>Normais</u>					
I.P.V.	53 a.	fem	120	70	26,17
Z.S.P.	60 a.	fem	140	80	24,50
T.M.S.	51 a.	masc	130	80	25,42
D.P.M.	63 a.	fem	110	70	26,45
L.K.D.	52 a.	fem	110	70	22,30
D.W.	56 a.	masc	140	90	33,56
A.S.	64 a.	masc	120	70	26,89
C.A.F.P.	68 a.	masc	120	70	25,30
E.A.	69 a.	fem	110	70	23,73
H.G.	50 a.	masc	130	80	24,33
D.A.	62 a.	masc	130	80	25,46
V.S.	76 a.	fem	130	80	27,50
Média	60,3		124,1	75,8	25,91
<u>Diabéticos</u>					
J.P.	63 a.	fem	130	85	29,39
Z.Z.S.	69 a.	fem	120	70	24,73
N.G.S.	61 a.	masc	140	85	27,28
M.C.S.	53 a.	fem	120	75	25,46
N.R.	52 a.	fem	120	70	26,30
I.V.N.	71 a.	masc	135	80	27,03
O.P.	61 a.	fem	150	90	28,12
S.R.R.	47 a.	fem	130	80	33,10
M.R.M.	65 a.	fem	150	80	24,90
C.L.R.	70 a.	masc	145	70	27,90
L.A.W.S.	48 a.	masc	130	90	28,89
N.R.	64 a.	masc	130	70	27,60
Média	60,3		133,1	78,7	28,0
<u>Neuropatas</u>					
I.T.S.	59 a.	fem	120	85	25,70
I.N.	65 a.	masc	130	80	23,25
M.E.	58 a.	masc	130	90	30,70
M.M.	70 a.	fem	110	60	26,15
G.S.	74 a.	masc	140	70	26,74
S.B.S.	61 a.	masc	140	90	27,87
A.G.F.	57 a.	fem	150	70	24,77
O.H.S.	51 a.	masc	135	70	28,20
T.T.	60 a.	masc	140	85	26,47
P.M.	69 a.	masc	130	70	21,76
Média	62,4		132,5	77	25,89

PAS=pressão arterial sistólica; PAD=pressão arterial diastólica; IMC= índice de mass corporal

TABELA 2. Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos com diabete.

NOME	GLICEMIA (mg/dl)	HEMOGLOBINA GLICOSILADA (%)	FRUTOSAMINA (nmol/l)
<u>Diabéticos</u>			
J.P.	142	5,60	-
Z.Z.S.	171	10,20	3,59
N.G.S.	111	6,70	-
M.C.S.	230	12,00	-
N.R.	187	10,20	3,34
I.V.N.	214	7,60	3,20
O.P.	214	7,60	3,20
S.R.R.	335	9,20	4,03
M.R.M.	168	8,90	-
C.L.R.	149	5,80	3,71
L.A.W.S.	-	-	-
N.R.	118	10,30	3,50
Média	185,3	8,5	3,5
<u>Neuropatas</u>			
I.T.S.	109	6.80	2.37
I.N.	186	-	-
M.E.	303	9.80	4.12
M.M.	165	-	4.58
G.S.	236	-	4.91
S.B.S.	145	-	-
A.G.F.	72	7.50	4.36
O.H.S.	-	-	-
T.T.	477	10.10	-
P.M.	255	9.80	4.04
Média	216,4	8,8	4,01

## 2. Avaliação da função autonômica através dos testes padronizados por Ewing

Foram utilizados 5 testes padronizados por Ewing et al (76), para avaliar a presença de neuropatia autônoma nos pacientes portadores de diabetes melito. Três testes para avaliar a resposta da frequência cardíaca e dois testes para avaliar a resposta da pressão arterial a estímulos padronizados. Os testes da frequência cardíaca avaliam a integridade do sistema nervoso parassimpático. São: o teste de Valsalva, o teste da respiração profunda e o teste do ortostatismo. Os testes da pressão arterial avaliam a integridade do sistema nervoso simpático. São: o teste da hipotensão postural e o da preensão manual.

O teste de Valsalva avalia a variação da frequência à respiração forçada. Foi realizado através da respiração em um cânula plástica conectada a um manômetro, sustentada por 15 segundos a 40 mmHg, com registro eletrocardiográfico simultâneo durante e 15 segundos após a manobra. O resultado foi expresso como a razão entre o maior RR após a manobra e o menor RR durante, sendo considerados normais valores maiores ou iguais a 1,2.

O teste da respiração profunda baseia-se na variação da frequência cardíaca que ocorre normalmente com a respiração. Foi utilizada a respiração profunda a 6 ciclos/min durante 1 minuto, com registro eletrocardiográfico simultâneo e marcação de cada inspiração e expiração. Calculou-se a

diferença entre a frequência cardíaca média na inspiração e expiração. Foi considerado normal um variação maior do que 6 batimentos.

O teste do ortostatismo baseia-se na variação da frequência cardíaca que ocorre normalmente quando o indivíduo muda da posição supina para ortostática, que usualmente é máxima em torno do décimo quinto batimento e mínima em torno do trigésimo. O registro eletrocardiográfico foi feito durante a mudança de posição e foi determinada a razão entre o maior RR no ou em torno do trigésimo batimento e o menor RR no ou em torno do décimo quinto batimento, sendo normal um valor igual ou maior que 1,06.

O teste da hipotensão postural baseia-se na vasoconstricção que ocorre normalmente quando o indivíduo assume a posição ortostática, o que lhe permite corrigir rapidamente a diminuição da pressão arterial. Mediu-se a pressão arterial na posição supina e após um minuto em posição ortostática e calculou-se a diferença na pressão sistólica, que normalmente não deve exceder a 25 mmHg.

O teste da preensão manual baseia-se no aumento da pressão arterial que ocorre normalmente no exercício isométrico, devido ao aumento da frequência cardíaca e do aumento do débito cardíaco, sem alteração da resistência vascular periférica. Determinou-se a força voluntária máxima em um dinamômetro normal e foi solicitado ao paciente sustentar um terço desta força por 3 minutos, com medidas da pressão arterial a cada minuto. O resultado foi expresso



como a diferença da pressão arterial diastólica máxima durante a manobra e a pressão arterial diastólica anterior à manobra, sendo considerado normal uma variação maior ou igual a 10 mmHg. Um paciente foi considerado como portador de neuropatia autonôma quando mais de 1 dos testes autonômicos foram alterados.

### 3. Exame físico

A pressão arterial foi medida com o paciente sentado, utilizando esfigmomanômetro aneróide, considerando a I e V fases dos sons de Korotkoff. O índice de massa foi calculado pela seguinte fórmula: Índice de Massa =  $\text{Peso}/h^2$ , onde h representa a altura do paciente. São considerados obesos os indivíduos com índice de massa maior do que 30 kg/m<sup>2</sup>. O diagnóstico de neuropatia periférica foi feito através da pesquisa da sensibilidade vibratória por diapazão de 128 ciclos/segundo, junto ao maléolo externo. A macroangiopatia foi diagnosticada pela ausência de pulsos nos membros inferiores. O fundo de olho foi realizado sob midriase, pelo mesmo examinador, sendo caracterizado como retinopatia presente (retinopatia de base ou proliferativa) ou ausente (fundo de olho normal).

### 4. Exames laboratoriais

O diagnóstico de nefropatia foi feito através da análise da proteinúria de 24 h pelo método turbidométrico (94), sendo considerados nefropatas os pacientes que apresentaram proteinúria maior do que 500 mg nas 24h. A hemoglobina glicosilada foi determinada por sistema de micro-cromatografia (Labtest; faixa normal: 5,3-8%) (95), a frutossamina sérica foi medida por método colorimétrico - (Labtest; faixa normal: 1,87-2,87 nmol/l) (96) e a glicemia foi determinada pelo método da glicose-oxidase (97).

##### 5. Eletrocardiograma de 24 h

Foi realizada a monitorização e gravação contínua em fita cassete do ECG, durante 24 horas do dia, com o paciente mantendo suas atividades habituais. Durante o período de gravação o paciente preencheu um diário, descrevendo as principais atividades do seu dia, inclusive o horário de sono e de despertar. Nos primeiros 20 minutos de gravação foi realizado um período de ventilação controlada, com o paciente em repouso em decúbito, com a ajuda de um metrônomo. O paciente era estimulado a manter a frequência respiratória de 12 ciclos respiratórios por minuto.

Após o final da gravação a fita foi analisada em um analisador de Holter marca Del Mar Avionics, modelo 750A Innovator, pela técnica semiautomática. Este aparelho, montado em um computador IBMPC AT 286, permite separar os

batimentos normais dos artefatos e ectopias, montando uma série temporal, somente de intervalos RR normais. Foram excluídos os pacientes que não apresentaram ritmo sinusal nas 24 h do dia.

#### 6. Análise espectral da frequência cardíaca

A partir da série temporal montada pelo analisador de Holter, foi realizada a análise espectral da frequência cardíaca, aplicando a Transformação Rápida de Fourier em períodos de 256 segundos da série temporal, durante o período de ventilação controlada. De todos os períodos de 256 segundos, foram escolhidos aqueles que apresentavam maior potência espectral na faixa entre 0,15 e 0,35 Hz. Na eventualidade de haver artefatos ou ectopias no período escolhido, o algoritmo elimina estas alterações e interpola um batimento, utilizando um intervalo RR semelhante à média dos 3 RR anteriores. Neste estudo, foram escolhidos apenas períodos sem batimentos interpolados.

O analisador de Holter permite analisar a potência espectral na faixa de frequência compreendida entre 0,017 e 0,5 Hertz. Consideramos o componente de baixa frequência como sendo a potência espectral encontrada na faixa de 0,05 a 0,15 Hz, o componente de alta frequência a potência espectral encontrada na faixa de 0,15 a 0,35 Hz e a potência espectral total a potência espectral encontrada na faixa de 0,017 a 0,5 Hz.

Neste estudo, para avaliar a variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência, foram utilizados os componentes de baixa e alta frequência e potência espectral total, como definidos na Tabela 3.

## 7. Índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo

Uma vez obtida a série temporal de intervalos RR normais das 24 h, montada pelo analisador de Holter, ela foi decodificada do formato binário para formato hexadecimal, e filtrada em relação às ectopias, sendo eliminados os intervalos com diferenças sucessivas superiores a  $\pm 20\%$ . A série temporal obtida apresenta resolução de 2,4 milissegundos. Tendo acesso a esta informação, foi construído um programa, no Serviço de Pesquisa em Engenharia Biomédica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, utilizando como ferramentas os compiladores Borland Turbo Pascal versão 5,5 e Microsoft QuickBasic, para executar a análise dos dados, em um computador PC AT 286, com tela padrão CGA.

Inicialmente, foram calculados 6 índices que medem a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo, descritos na Tabela 3.

TABELA 3  
DEFINIÇÃO DOS INDICES DE VARIABILIDADE DA FREQUENCIA  
CARDIACA NO TEMPO E NA FREQUENCIA

Indice	Domínio	Definição
RRMED	tempo	Média de todos os intervalos RR normais do ECG de 24 h
SDANNi	tempo	Desvio padrão da média dos intervalos RR normais, medida em segmentos de 5 min do ECG de 24 h
SDNNi	tempo	Média dos desvios padrão dos intervalos RR normais, medidos em segmentos de 5 min do ECG de 24 h
SDNN	tempo	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais do ECG de 24 h
RMSSD	tempo	Raiz quadrada da média das diferenças sucessivas ao quadrado, entre os intervalos RR adjacentes normais do ECG de 24 h
PNN50	tempo	Porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR adjacentes normais que são > 50 ms, computada no ECG de 24 h
BF	frequência	Energia na potência espectral entre 0,05 e 0,15 Hz
AF	frequência	Energia na potência espectral entre 0,15 e 0,35 Hz
PT	frequência	Energia na potência espectral entre 0,017 e 0,5 Hz

ECG = eletrocardiograma; BF = baixa frequência; AF = alta frequência; PT = potência total; Hz = hertz.

## 8. Mapa de retorno

Simultaneamente ao cálculo dos índices no domínio do tempo, os intervalos RR normais foram representados através de uma mapa de retorno, com retardo temporal de 1, plotando  $RR_n \times RR_{n+1}$ , onde  $RR_n$  é um intervalo RR normal qualquer, medido em milissegundos. Neste estudo, o mapa de retorno foi chamado de mapa de retorno bidimensional, para diferenciar do mapa de retorno tridimensional.

A análise da série temporal dos intervalos RR normais das 24 h revela a existência de inúmeros intervalos RR de mesma duração, gerando superposição de pontos no mapa de retorno bidimensional (Figura 5).

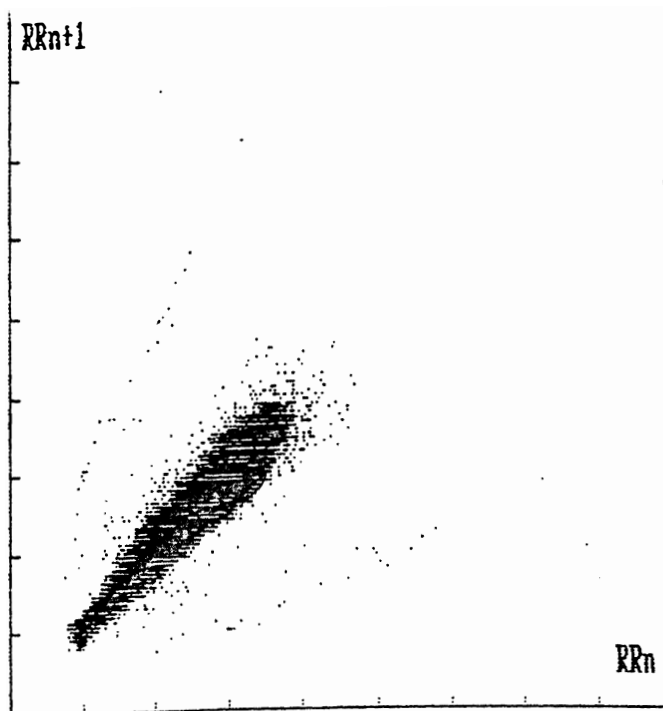


FIGURA 5. Mapa de retorno bidimensional.

Para evitar perda de informação quanto ao comportamento da variabilidade das 24 h do dia e para identificar a estrutura fina do interior do mapa de retorno bidimensional, foram feitas duas modificações no mapa de retorno bidimensional. Primeiramente, os intervalos RR normais foram plotados como  $(RR_n) \times (RR_{n+1} - RR_n)$ , onde  $(RR_{n+1} - RR_n)$  representa a diferença sucessiva entre intervalos RR adjacentes, isto é, com retardo temporal de 1 evento. Além disto, para cada faixa de 7,2 milissegundos em RR, foi calculado um número de ocupação, que reflete a quantidade de intervalos RR ocorridos com esta duração, sendo o número de ocupação representado na terceira dimensão. Este mapa de retorno modificado foi chamado de mapa de retorno tridimensional, sendo representado de forma normalizada pelo pico do número de contagens de cada indivíduo (Figura 6 parte superior).

Em função da grande dispersão encontrada na porção mais externa da imagem resultante do mapa de retorno tridimensional, optamos por delimitá-la considerando como válidos apenas os valores com número de contagens maior ou igual a 10 contagens. Para avaliar o efeito deste critério de exclusão, foi calculado o número total de intervalos RR normais incluídos no mapa de retorno tridimensional. Além da representação na terceira dimensão, a superfície da distribuição dos números de ocupação foi representada em 10 curvas de nível. A mais externa representa número de contagens igual a 10, sendo as demais igualmente espaçadas,

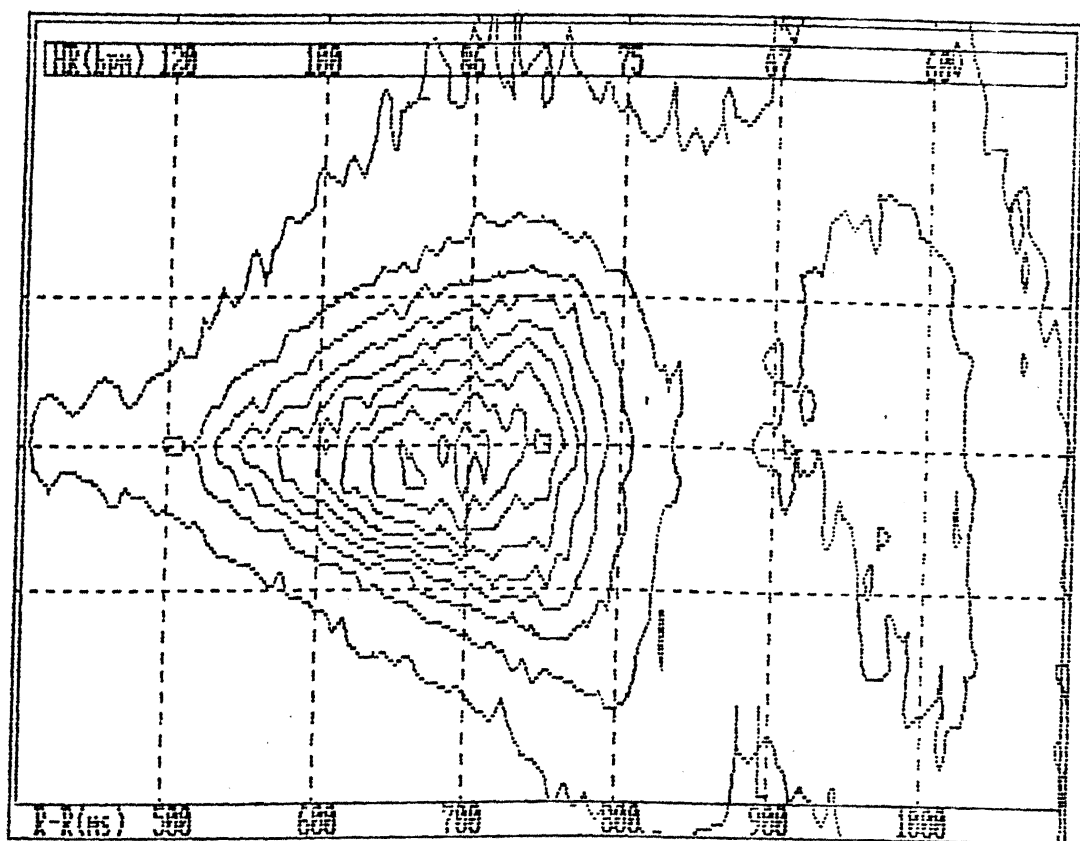
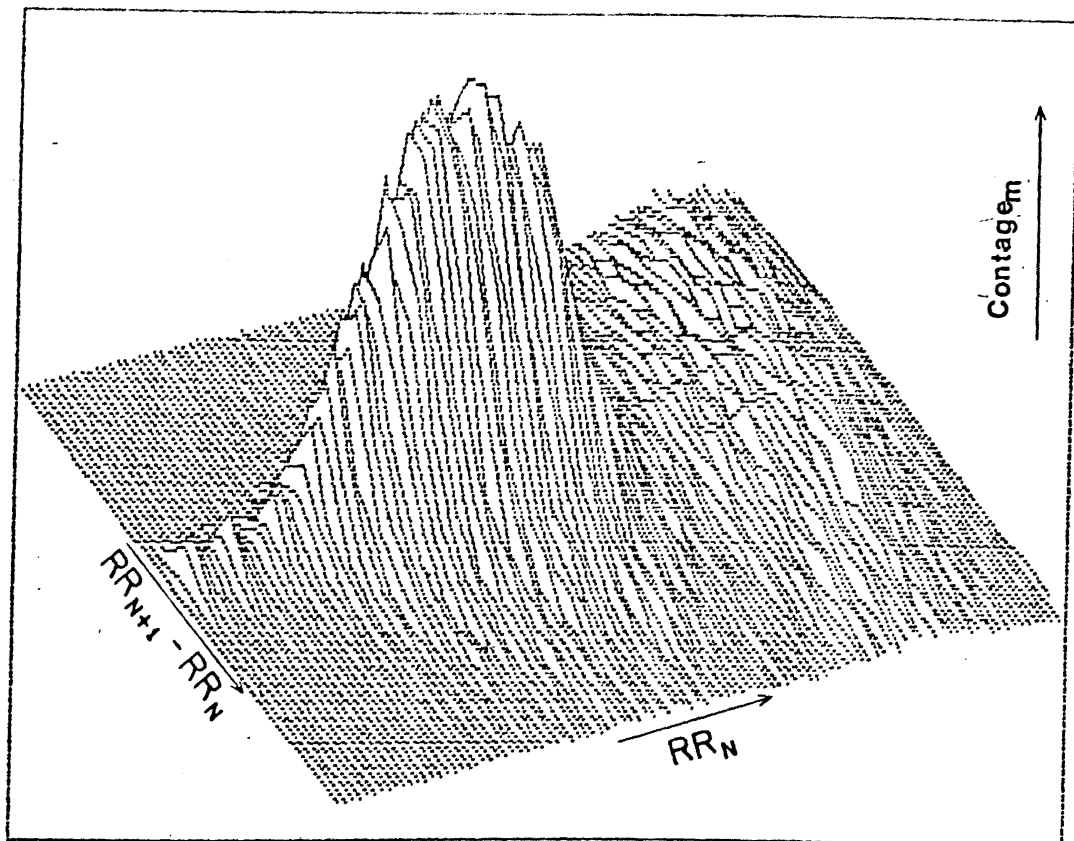


Figura 6. Exemplo de um mapa de retorno tridimensional em um indivíduo normal.



entre este valor e o pico do número de contagens, em 9 níveis equidistantes (Figura 6 parte inferior).

Com o objetivo de quantificar o mapa de retorno tridimensional, foram criados índices baseados na análise das imagens obtidas, que chamamos de P1, P2, P3, P4 e MN, descritos na Tabela 4.

TABELA 4  
DEFINIÇÃO DOS ÍNDICES DO MAPA DE RETORNO TRIDIMENSIONAL

Índice	definição
P1	inclinação do pico de maior concentração de pontos
P2	comprimento do eixo longitudinal
P3	largura no pico de maior concentração de pontos
P4	maior largura do cometa
MN	produto de $P1 \times P2 \times P3 \times P4 \times 10^{-3}$

O índice P1 está associado com a inclinação média da superfície do mapa de retorno tridimensional, calculada na intersecção do plano perpendicular à  $RR_n$ , no pico de maior concentração de pontos. Os valores do índice P1 foram expressos como o dobro de 1 menos a inclinação média

$\{(1-\text{inclinação média}) \times 2\}$ , calculada entre 10 e 90% do pico de contagens, de forma que os maiores valores representam a menor inclinação e os menores valores a maior inclinação (Figura 7).

O índice P2 está associado com o comprimento da imagem obtida através do mapa de retorno tridimensional, medido no plano paralelo à  $RR_n$ , que intercepta o zero em  $(RR_{n+1}) - RR_n$ . P2 é igual a razão entre o comprimento da distribuição e um comprimento padrão de 720 milissegundos (Figura 8).

O índice P3 representa a largura transversa medida no pico de máxima concentração, sendo calculado pela razão entre esta largura (medida na curva de nível mais externa) e a largura padrão de 144 milissegundos (Figura 8).

O índice P4 expressa a máxima largura transversal da distribuição. P4 é igual a razão entre a largura transversal máxima do primeiro contorno e a largura padrão de 144 milissegundos (Figura 8).

O índice MN engloba todos os índices descritos anteriormente, sendo igual a milésima parte do produto entre P1, P2, P3 e P4.

Neste estudo, para quantificar a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo, foram utilizados os índices RRMED, SDNN, SDANNi, SDNNi, PNN50 e RMSSD. E do mapa de retorno tridimensional foram estudados os índices parciais P1, P2, P3 e P4 e o índice global MN.

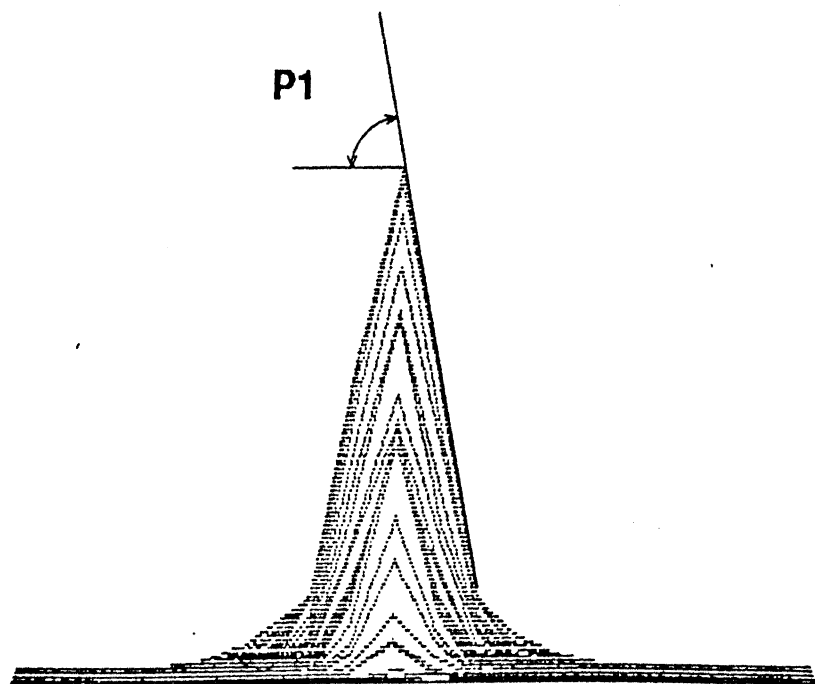
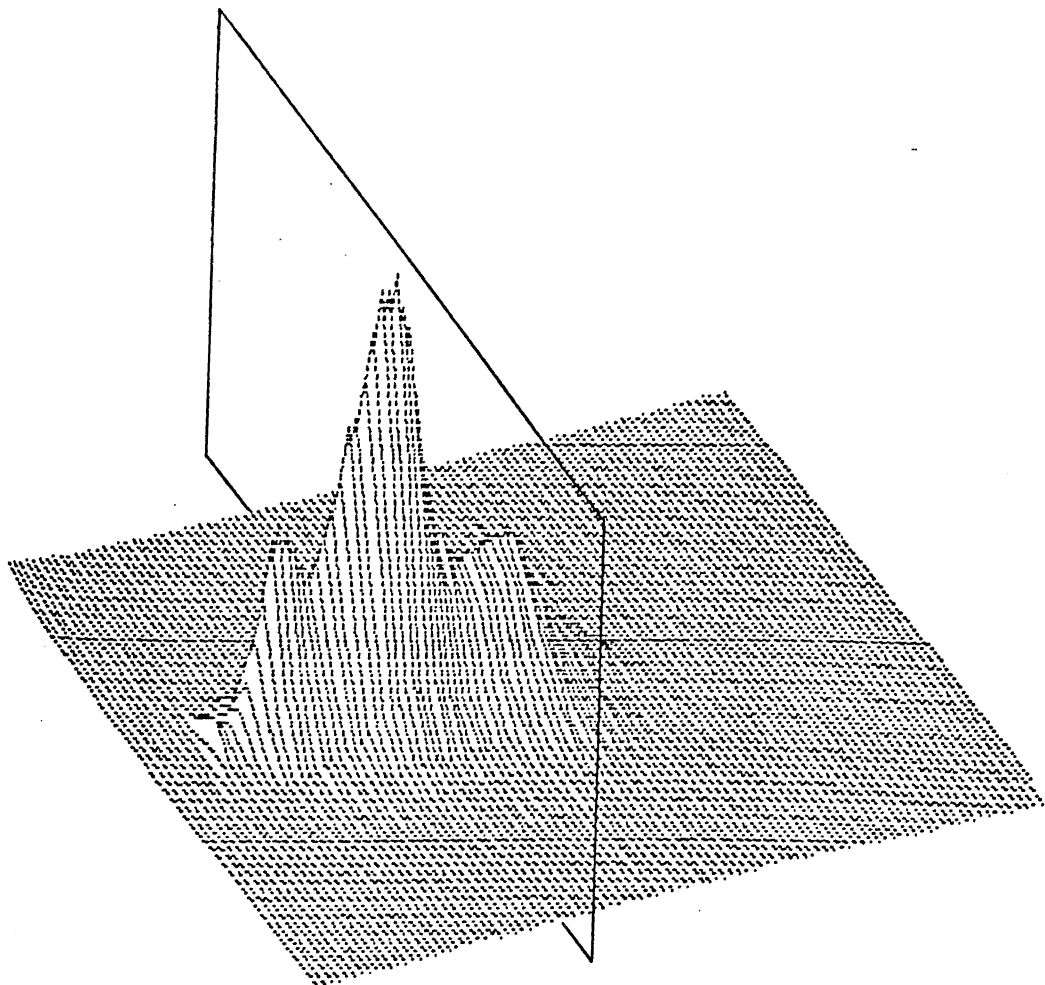


Figura 7. Parte superior: mapa de retorno tridimensional com a representação do plano perpendicular ao eixo  $RR_n$  seccionando a distribuição no seu pico máximo. Parte inferior: mapa de retorno tridimensional apresentado na vista perpendicular ao plano representado na figura acima ilustrando o ângulo de inclinação do pico máximo ( $P1$ ).

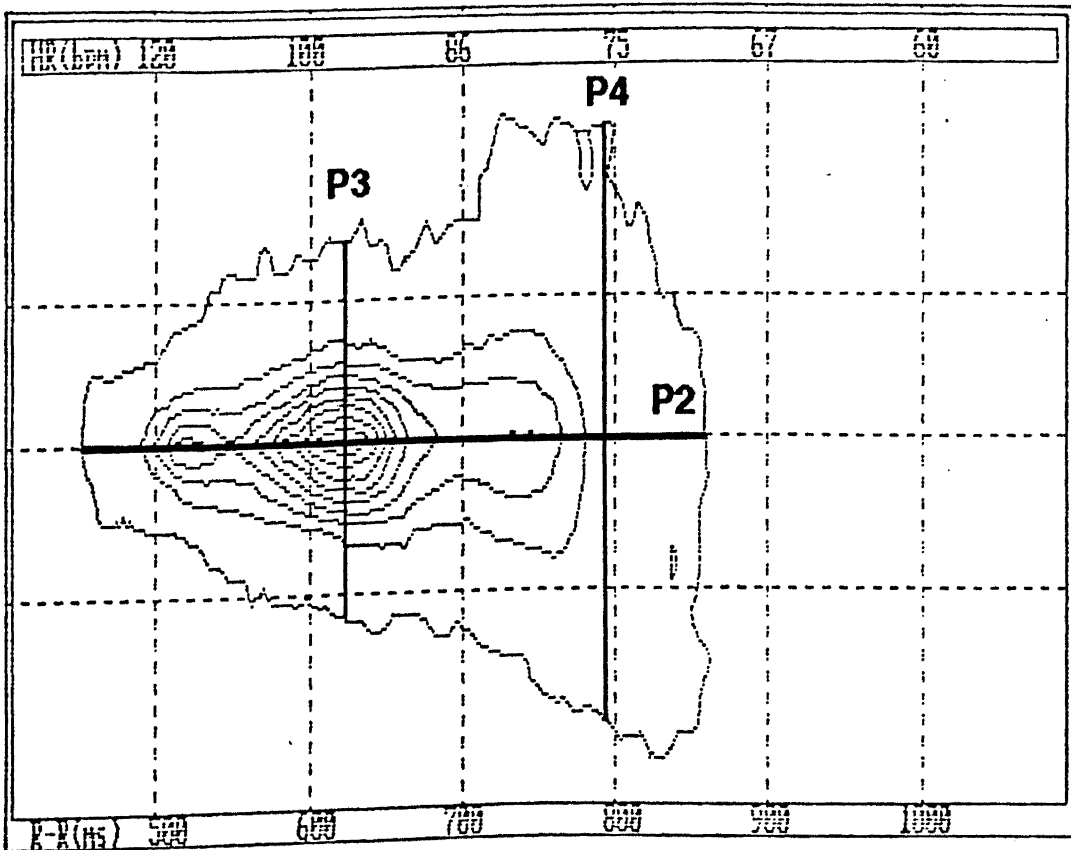


FIGURA 8. Representação dos índices P2, P3 e P4 do mapa de retorno tridimensional.

## 9. Análise estatística

Os dados foram tabulados em banco de dados DBase III-plus e analisados no programa estatístico SPSS-PC plus, compatível com computador IBM/PC. Os dados com distribuição normal foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e os dados que não demonstraram distribuição normal estão expressos como média geométrica e os intervalos de confiança de 95% (98).

As características clínicas dos pacientes portadores de diabetes mérito foram comparadas utilizando o teste exato de Fischer e qui-quadrado.

Em relação aos índices que medem a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo, no domínio da frequência e em relação aos índices obtidos a partir do mapa de retorno tridimensional, para determinar diferenças entre os grupos foi feita Análise de Variância (ANOVA). As comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Student-Newman-Keuls. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando a hipótese nula podia ser rejeitada a um  $p < 0,05$ . Tanto os índices no domínio do tempo como os no domínio da frequência não apresentaram distribuição normal. Para possibilitar a análise estatística paramétrica, que exige distribuição próxima da normal, foi feita transformação logarítmica das medidas, utilizando-se o logaritmo natural do valor, que produziu uma distribuição aproximadamente simétrica, permitindo a análise.

Foram feitas correlações entre os índices obtidos pelo mapa de retorno tridimensional e o logaritmo natural dos índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e no domínio da frequência, através do coeficiente de correlação de Pearson. Uma vez que foram calculados 45 coeficientes de correlação, foi utilizada a correção de Bonferroni para avaliar a significância estatística das correlações, exigindo uma probabilidade mínima de 0,001.

## Capítulo IV - Resultados

### 1. Características clínicas

Os 3 grupos estudados não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto ao sexo e a idade. As complicações do diabetes mérito foram mais frequentes nos neuropatas do que nos diabéticos, como pode ser observado pela Tabela 2. Do grupo de neuropatas, 6 apresentaram retinopatia de base enquanto do grupo de diabéticos apenas 2 (teste exato de Fischer  $p=0,06$ ). Dos neuropatas 6 apresentaram neuropatia periférica e dos diabéticos 4 ( $p>0,05$ ). Apenas 2 neuropatas apresentaram nefropatia e 2 neuropatas também apresentaram macroangiopatia.

### 2. Eletrocardiograma de 24 h

A análise do eletrocardiograma de 24 h revelou um número baixo de ectopias na nossa amostra. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao número de ectopias apresentadas, sendo que elas não excederam a 1% do total de batimentos analisados. Os normais apresentaram nas 24 horas  $148 \pm 263$  ectopias, os diabéticos  $414 \pm 785$  ectopias, neuropatas  $181 \pm 372$  ectopias.

### 3. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e no domínio da frequência

As variáveis estudadas em relação à variabilidade da frequência cardíaca estão descritas em detalhe na Tabela 3. Da análise espectral da frequência cardíaca foram estudadas a potência espectral total, a potência espectral em baixas frequências e a potência espectral em altas frequências. No do domínio do tempo foram estudados os índices RRMED, SDNN, SDANNi, SDNNi, RMSSD e PNN50.

#### 3.1. Análise espectral

Os resultados da análise espectral, após transformação logarítmica, estão descritos na Tabela 5 Encontramos menor potência espectral dos componentes de baixa frequência, alta frequência e menor potência espectral total, nos neuropatas, quando comparados com os diabéticos e normais. Houve diferença significativa do logaritmo da potência espectral dos neuropatas, quando comparado com os diabéticos e normais. Os diabéticos apresentaram potência espectral em todas as faixas de frequência menor do que os normais, mas a diferença não foi estatisticamente significativa.



### 3.2. Domínio do tempo

Os resultados do domínio do tempo, após transformação logarítmica, estão descritos na Tabela 5. Nota-se que não houve diferença significativa na média dos intervalos RR das 24 h (RRMED), nos 3 grupos estudados, sugerindo que qualquer diferença encontrada na variabilidade da frequência cardíaca não depende da frequência cardíaca média de cada grupo.

De uma forma geral, todos os índices no domínio do tempo apresentaram valores maiores para os normais, intermediários para os diabéticos e reduzidos nos neuropatas.

O SDANNi foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparado com os normais, não sendo encontrada diferença significativa na comparação entre neuropatas e diabéticos, nem na comparação entre diabéticos e normais. O SDNN, o SDNNi e o RMSSD foram significativamente menores nos neuropatas, quando comparados com os diabéticos e com os normais. Contudo, não foi encontrada diferença significativa na comparação entre normais e diabéticos. O PNN50 foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparado com os diabéticos e os normais. E foi significativamente menor nos diabéticos quando comparados com os normais.

TABELA 5. Resultados da variabilidade da frequência cardíaca nos índices do domínio do tempo e da frequência em indivíduos normais, diabéticos e neuropatas.

Índices	Normais n = 12 X (IC 95%)	Diabéticos n = 12 X (IC 95%)	Neuropatas n = 10 X (IC 95%)
Baixa Frequência	216.8 (133.1-353.3)	140.7 (82.4-240.3)	18.9 (8.7-40.9) ##
Alta Frequência	337.9 (143.4-796.4)	227.6 (101.7-509.2)	34.3 (18.3-64.3) ##
Potência Total	842.8 (481.0-1476.8)	677.0 (392.5-1167.5)	10.7 (61.7-171.1) ##
RRMED	766.4 (717.0-819.3)	720.6 (672.9-771.7)	693.9 (652.3-815.9)
SDNNi	44.8 (39.6-50.6)	38.6 (33.4-44.6)	21.6 (16.6-28.3) †
SDANNi	112.6 (90.0-140.8)	104.9 (82.8-132.8)	78.8 (66.3-93.7) ##
SDNN	120.2 (98.1-147.3)	111.3 (89.9-137.8)	81.7 (67.9-98.2) ##
RMSSD	13.6 (12.0-15.5)	11.0 (8.6-14.0)	6.7 (5.3-8.4) ##
PNN50	3.0 (2.1-4.2)	1.2 (0.5-2.7)	0.2 (0.1-0.7) ##

Dados apresentados em média geométrica. ANOVA realizada a partir da transformação logarítmica dos dados.

\* p < 0,05 em relação aos indivíduos normais

# p < 0,05 em relação os indivíduos diabéticos

#### 4. Mapa de retorno tridimensional

Do total de intervalos RR normais analisados nas 24 h, em função da metodologia empregada, alguns foram excluídos. Contudo, não houve diferença significativa entre os 3 grupos estudados. Os normais apresentaram um total de  $97,2\% \pm 1,0\%$ , os diabéticos  $97,5\% \pm 1,3\%$  e os neuropatas  $98,7\% \pm 1\%$  de intervalos RR normais incluídos no mapa de retorno tridimensional.

As variáveis estudadas em relação ao mapa de retorno tridimensional estão descritas em detalhe na Tabela 4. Foram estudados os índices parciais P1, P2, P3 e P4 e o índice global MN. A média dos 4 índices parciais e do MN, de uma forma geral, apresentou valores menores no grupo de neuropatas, valores intermediários no grupo de diabéticos e valores maiores no grupo de normais. O índice P1, que representa a inclinação do pico de maior concentração de pontos, foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparado com os diabéticos e com os normais. Foi também significativamente menor nos diabéticos, quando comparado com os dos normais. Portanto, foi menor nos neuropatas, intermediário nos diabéticos e maior nos normais (Figura 9).

O índice P2, que representa o comprimento longitudinal do cometa, foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparado com os diabéticos e com os normais, não havendo diferença entre diabéticos e normais (Figura 9).

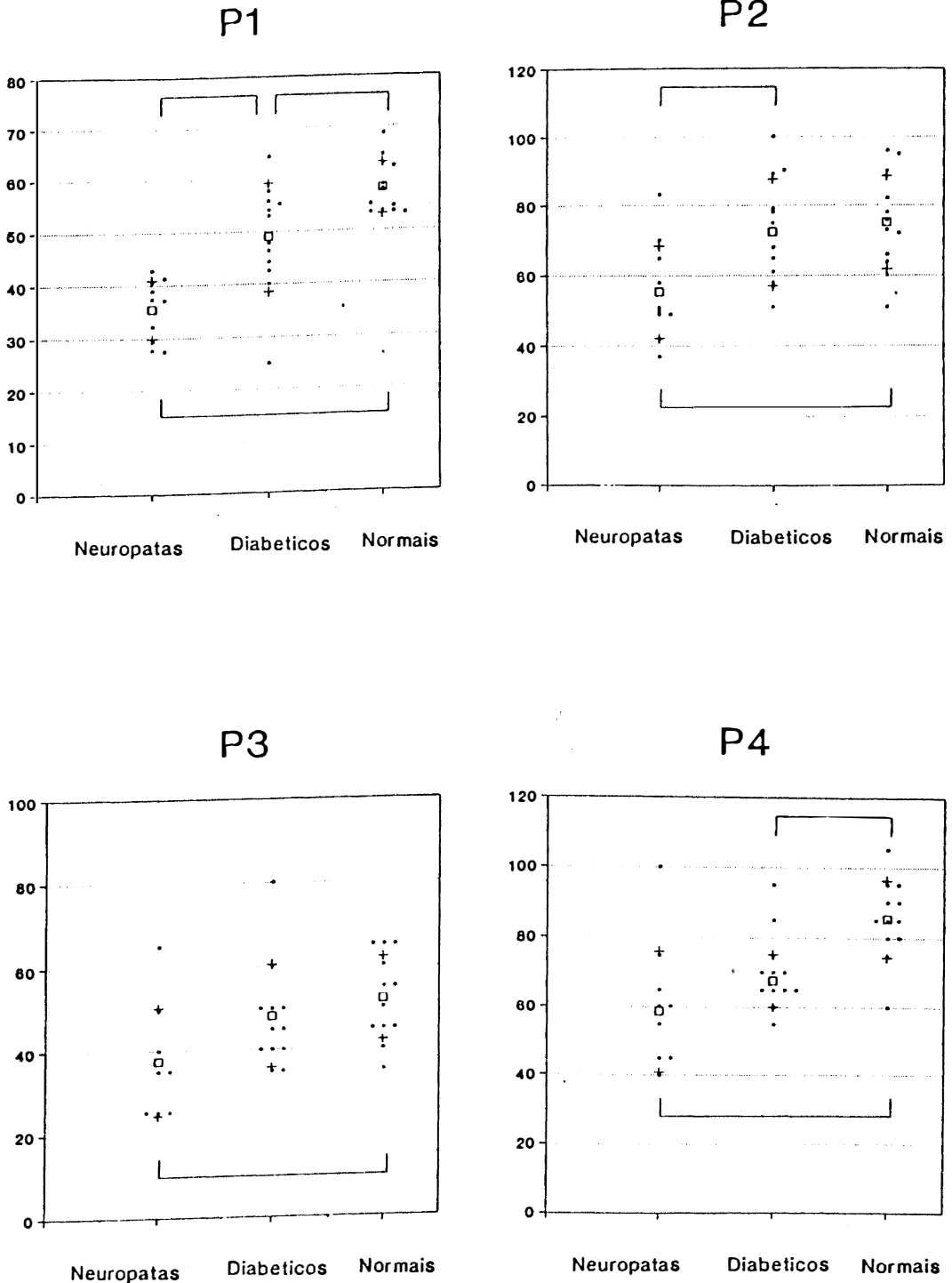


FIGURA 9. Dados individuais (·), média (■) e desvio padrão (+) dos índices do mapa de retorno tridimensional. Grupos conectados apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA,  $p < 0.05$ ).

O índice P3, que representa a largura do cometa no pico de maior concentração de pontos, foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparado com os normais, não havendo diferença significativa entre os demais grupos (Figura 9).

O índice P4, que representa a maior largura do cometa, foi significativamente maior nos normais, quando comparado com os diabéticos e neuropatas, não havendo diferença entre os diabéticos e os neuropatas (Figura 9).

O índice MN, que representa o produto do 4 índices parciais, foi significativamente menor nos neuropatas, quando comparados com os diabéticos e com os normais e menor nos diabéticos, quando comparados com os normais. Portanto o MN foi maior nos normais, intermediário nos diabéticos e reduzido nos neuropatas (Figura 10).

## MN

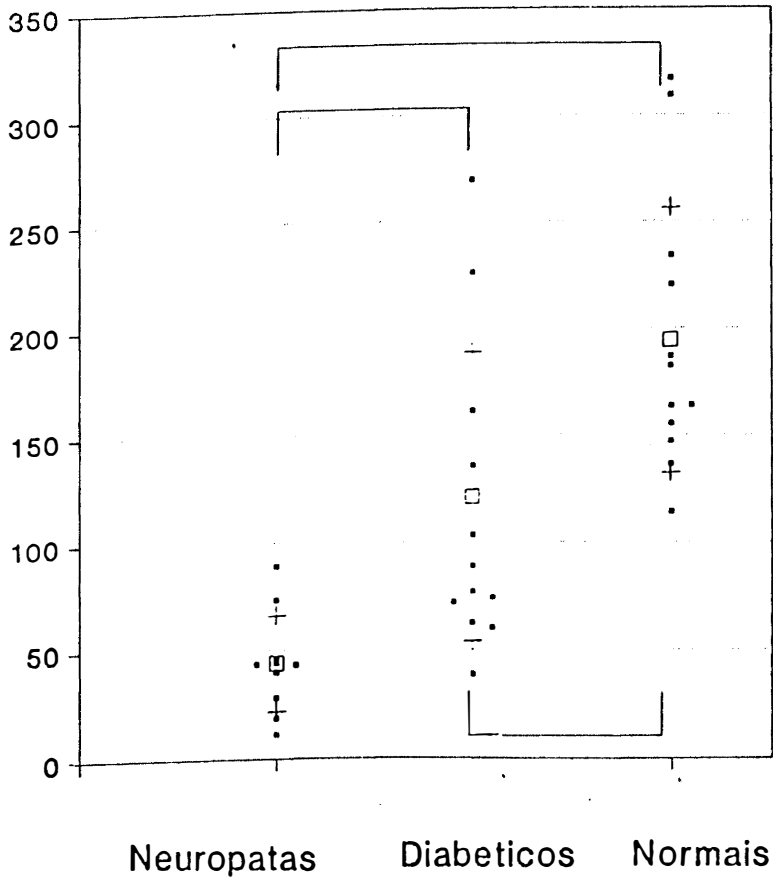


FIGURA 10. Dados individuais ( $\cdot$ ), média ( $\blacksquare$ ) e desvio padrão ( $+$ ) do índice MN do mapa de retorno tridimensional. Grupos conectados apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA,  $p < 0.05$ ).

5. Correlação entre os índices no domínio do tempo e da frequência com os índices do mapa de retorno

A correlação entre o logaritmo dos índices no domínio do tempo e da frequência com os índices do mapa de retorno tridimensional estão representados na Tabela 6. Entre as várias correlações realizadas, nota-se que de uma forma geral os índices do mapa de retorno tridimensional se correlacionaram melhor com o logaritmo dos índices do domínio do tempo do que com o logaritmo dos índices do domínio da frequência, com os quais apresentaram apenas uma associação fraca.

O índice P1 correlacionou-se significativamente somente com o logaritmo do SDNNi, apresentando uma associação com o logaritmo do RMSSD e com o logaritmo do componente de baixa frequência da análise espectral. O índice P2 correlacionou-se significativamente com o logaritmo de todos os índices do domínio do tempo e da frequência, sendo que com os do domínio da frequência o nível de correlação não ultrapassou a 0,65 e com os do domínio do tempo chegou a apresentar correlação de até 0,94. O índice P3 não correlacionou-se fortemente com nenhum dos índices testados, tendo apresentado alguma associação com o logaritmo do PNN50 e do RMSSD. O índice P4 correlacionou-se significativamente com o logaritmo dos índices SDNNi, PNN50 e RMSSD sem apresentar qualquer associação com os índices do domínio da frequência. O índice MN correlacionou-se apenas com o logaritmo dos

índices no domínio do tempo, em especial com o do PNN50 e o do RMSSD, e apresentou alguma associação com o logaritmo do RRMED e com o logaritmo do componente de baixa frequência da análise espectral.

TABELA 6  
CORRELAÇÃO ENTRE O LOGARITMO DOS ÍNDICES DE VARIABILIDADE DA FREQUENCIA CARDIACA E OS ÍNDICES DO MAPA DE RETORNO TRIDIMENSIONAL

	P1	P2	P3	P4	MN
logPT	0.44	0.65*	0.13	0.40	0.47
logAF	0.33	0.59*	0.09	0.42	0.39
logBF	0.52	0.59*	0.17	0.38	0.51
logSDANNi	0.18	0.90*	0.00	0.39	0.38
logSDNN	0.23	0.94*	0.07	0.48	0.47
logRRMED	0.42	0.66*	0.17	0.36	0.55
logSDNNi	0.62*	0.84*	0.31	0.57*	0.69*
logPNN50	0.45	0.72*	0.52	0.77*	0.73*
logRMSSD	0.52	0.76*	0.51	0.71*	0.77*

log = logaritmo natural; demais abreviações como na Tabela 3.

\* para  $p < 0,001$



## Capítulo V - Discussão

### 1. Padrão-ouro

Com o objetivo de testar uma nova metodologia de análise da variabilidade da frequência cardíaca, estudamos um grupo de pacientes com alta probabilidade de apresentar distúrbios na modulação da frequência cardíaca, composto por diabéticos com e sem neuropatia autônoma, diagnosticada pelos testes autonômicos padronizados por Ewing et al (76). Estes testes têm sido amplamente utilizados por inúmeros autores, mas ainda há muito debate na escolha do melhor teste (99,100,101). Existem críticas quanto à sua standardização (102), eles parecem apresentar baixa sensibilidade (103), baixa reprodutibilidade, necessidade de cooperação por parte do paciente (82) e de fornecerem informação exclusivamente sobre um período restrito de tempo (104). Para superar a carência de um padrão-ouro confiável, classificamos também os nossos pacientes através de outros 7 índices da variabilidade da frequência cardíaca, já amplamente utilizados na literatura para avaliação de comprometimento autonômico. Em repouso utilizamos a análise espectral, na vigília, com ventilação controlada. E no eletrocardiograma de 24 h utilizamos os índices SDNN, SDNNi, SDANNi, RRMED, RMSSD e PNN50.

Este é o primeiro trabalho que avalia o comportamento da frequência cardíaca em diabéticos, utilizando os

conceitos da dinâmica não linear. E o primeiro que avalia a variabilidade da frequência cardíaca, em pacientes diabéticos utilizando, simultaneamente, estes 7 índices no domínio do tempo.

## 2. Análise espectral

Dentre os métodos que analisam a variabilidade da frequência cardíaca com o paciente em repouso, a análise espectral parece ser o que mais informações mostra sobre o funcionamento do sistema nervoso autônomo. Nos pacientes diabéticos, este método tem se mostrado eficiente na identificação de neuropatia autônoma (43,81,82,83,84).

Nos trabalhos que estudaram o sistema nervoso autônomo em diabéticos através da análise espectral em repouso, os pacientes sempre foram estudados na vigília, com ou sem ventilação controlada.

### 2.1. Efeito da ventilação controlada

Quando usamos a análise espectral, o emprego da ventilação controlada para facilitar a detecção do pico respiratório (34,105) tem sido recomendada por muitos pesquisadores. Contudo, não se pode descartar que este recurso possa gerar um certo nível de estimulação simpática, devido ao desconforto dos pacientes (81) em obedecer o comando sonoro do metrônomo, com conseqüente diminuição dos

componentes de alta frequência. Uma maior adaptação do paciente à esta técnica poderia diminuir o nível de estresse por ela gerado, diminuindo o tônus simpático.

## 2.2. Eficácia da análise espectral

Os resultados da análise espectral por nós encontrados, de uma forma geral, estão de acordo com os resultados de outros autores (81,83). A análise espectral mostrou redução significativa dos valores da potência espectral em baixa e alta frequência nos neuropatas, quando comparado com os diabéticos e normais, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os diabéticos e os normais, de acordo com os dados da Tabela 3. Portanto, o método discriminou bem os neuropatas dos demais, mas não detectou nenhuma alteração autonômica nos diabéticos.

Por falta de padronização na classificação dos pacientes, quanto aos níveis de comprometimento do sistema nervoso autônomo, torna-se mais difícil a comparação dos nossos resultados com os da literatura, no que se refere à capacidade da análise espectral de detectar diferenças entre os grupos estudados. Lishner et al (81) classificaram os diabéticos em neuropatas e não neuropatas, apenas utilizando o teste da respiração profunda e nós utilizamos os 5 testes padronizados por Ewing. E Bellavere et al (83) classificaram os diabéticos baseados nos 5 testes padronizados por Ewing, mas criaram um índice de comprometimento autonômico. Com

este índice classificaram os diabéticos nos seguintes grupos: sem neuropatia, com neuropatia leve e com neuropatia severa. No nosso caso, os diabéticos foram divididos apenas em neuropatas e em não neuropatas.

Os nossos dados não coincidem com os de Pagani et al (43), que estudaram diabéticos com e sem neuropatia autônoma, através da análise espectral da frequência cardíaca, em decúbito e após ortostatismo passivo, e não encontraram nenhuma diferença em repouso. Apenas encontraram alterações na resposta dos diabéticos ao ortostatismo passivo, com menor aumento dos componentes de baixa frequência, da relação baixa/alta frequência e menor redução dos componentes de alta frequência. Os autores não usaram o recurso da ventilação controlada, para melhor individualizar o pico respiratório, o que pode ter diminuído a sensibilidade do método em detectar diminuição da atividade vagal nos diabéticos.

### 2.3. Limitações da análise espectral

Teoricamente, a aplicação da análise espectral exige estacionaridade, simetria das flutuações da frequência cardíaca e total ausência de artefatos (55) condições quase nunca encontradas no ser humano. A grande crítica que é feita à análise espectral está relacionada à dificuldade que este método encontra quando a série temporal apresenta batimentos ectópicos e artefatos. Os batimentos ectópicos

obscurecem a atividade normal do nodo sinusal fazendo com que os batimentos imediatamente antes e imediatamente depois da ectopia sejam evitados pela análise espectral (106). A presença de um único batimento ectópico pode contaminar o espectro de frequência, dificultando a interpretação (92). Este batimento é usualmente retirado da série temporal e é feita a interpolação de um novo batimento, baseada nos batimentos anteriores. Quando o número de ectopias ou de artefatos é excessivo, não é possível obter uma análise confiável da série temporal.

Quando a análise espectral é feita durante as 24 h do dia, com um algoritmo que faz a identificação automática dos artefatos e arritmias, existe muito mais probabilidade de contaminação do espectro de frequência e perda de estacionaridade, sendo mais difícil a interpretação dos dados (107). Estas limitações da análise espectral para as 24h do dia podem ser, em parte, superadas por metodologias no domínio do tempo.

### 3. Domínio do tempo

Na avaliação de pacientes portadores de neuropatia autônoma, os métodos no domínio do tempo que utilizam as 24 h do dia têm se mostrado adequados para diferenciar os diferentes graus de comprometimento do sistema nervoso autônomo, sendo considerados mais sensíveis e reproduzíveis (106) do que os testes tradicionais.

Os 5 índices utilizados no presente trabalho, de uma forma homogênea, estiveram diminuídos nos pacientes com neuropatia autônoma e apresentaram 3 comportamentos distintos, como está descrito na Tabela 5. O logaritmo do SDANNi foi o índice menos sensível, tendo sido capaz de detectar diferenças somente entre os neuropatas e os normais, não detectando diferenças entre os neuropatas e diabéticos, nem entre os diabéticos e normais. O logaritmo do SDNN, do SDNNi e do RMSSD foram capazes de detectar diferenças entre os neuropatas e diabéticos e entre os neuropatas e os normais. E o PNN50 foi o índice mais sensível, detectando diferenças entre os 3 grupos de pacientes.

O SDNNi, o RMSSD e o PNN50 são considerados índices representativos do tônus vagal (48,50), apresentando grande correlação com o componente de alta frequência na análise espectral. De acordo com os resultados apresentados por Bigger et al, o RMSSD e o PNN50 podem ser usados indistintamente, para avaliar tônus vagal, com resultados semelhantes. No entanto, no presente estudo, o desempenho do PNN50 foi superior aos demais índices, confirmando o seu bom desempenho na avaliação de pacientes diabéticos (104).

O melhor desempenho atribuído aos índices vagais pode estar associado às características da neuropatia autônoma do diabetes, que talvez acometa mais precocemente o ramo parassimpático e mais tardiamente o simpático (75). Existem evidências, no entanto, sugerindo que o processo de

comprometimento do sistema nervoso autônomo, numa fase inicial, não fique restrito somente ao vago, mas já desde o início possa haver alteração simpática (83).

No nosso caso, um método capaz de avaliar tônus vagal, como o PNN50, identificou diminuição da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes diabéticos que ainda apresentavam os testes autonômicos tradicionais dentro da normalidade. Ao contrário dos demais índices do domínio do tempo, que apenas conseguiram identificar diferenças entre o grupo com neuropatia autônoma e os demais, sugerindo que o comprometimento parassimpático, com ou sem alteração simpática, parece ser uma característica marcante do processo de neuropatia autônoma diabética.

O efeito da diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, sobre o desencadeamento de arritmias graves e morte súbita, está associado à diminuição do tônus vagal (3,35). Os diabéticos apresentam de 50% a 300% mais morte súbita pós-infarto do miocárdio do que os não-diabéticos e independente da presença de cardiopatia isquêmica, a neuropatia autônoma parece ser responsável pela incidência de morte súbita em diabéticos, devido à diminuição do tônus vagal nestes pacientes (108). Dentre os índices no domínio do tempo utilizados para avaliar risco de morte súbita pós-infarto do miocárdio, o mais estudado até o momento é o SDNN (63), que é um índice misto, considerado tanto vagal como simpático, e que nunca foi utilizado para prever morte súbita em diabéticos (48). A incidência aumentada de morte

súbita entre diabéticos (69) talvez possa ser melhor avaliada pelo PNN50 do que pelo SDNN, já que esse índice parece ser mais sensível para avaliar tónus vagal nestes pacientes, permitindo identificar aqueles com comprometimento precoce.

### 3.1. Limitações do domínio do tempo

Os inúmeros métodos para cálculo da variabilidade da frequência cardíaca das 24 h, baseados na dispersão em torno da média, ainda não foram totalmente estudados no que se refere ao seu significado, nas diferentes patologias que afetam o sistema nervoso autônomo. Ainda não existe padronização suficiente na execução e na interpretação dos resultados, nem certeza na escolha do melhor método. Apenas o SDNN e a média das diferenças sucessivas entre os intervalos RR foram validados como índices que avaliam a atividade vagal, através de bloqueio farmacológico (61). O modelo de pesquisa utilizado para explicar os mecanismos responsáveis pelos demais índices costuma se basear em análises indiretas da atividade autonômica, como a comparação dos resultados durante o sono, em relação à vigília, assumindo que o período do sono representaria um predomínio de atividade vagal, ou então comparando pacientes com e sem infarto do miocárdio, assumindo que os infartados apresentariam diminuição do tónus vagal (109). A correlação dos índices do domínio do tempo com a análise espectral



também tem sido utilizada, com bons resultados, no que se refere à determinação do tônus vagal (57). Porém, a avaliação da atividade simpática fica prejudicada, uma vez que os componentes de baixa frequência também são fortemente influenciados pelo tônus vagal, dificultando a interpretação dos dados. Na verdade, nenhum dos índices, até agora estudados, mostrou-se adequado como indicador da atividade simpática, nas 24 h do dia.

Os métodos no domínio do tempo traduzem o comportamento das 24h na forma de apenas um número. Isto faz com que um sistema cheio de nuances, como é a modulação da frequência cardíaca, fique resumido a um único valor, que pode não traduzir adequadamente a realidade e esconder muita informação. Uma forma de minimizar isto tem sido a divisão das 24 h em períodos de sono e de vigília, gerando 2 números parciais e 1 número relativo a todas às 24 h (104).

#### 4. Dinâmica não linear

Em função das limitações existentes nos métodos atualmente aceitos e pela possibilidade de analisar a questão da variabilidade da frequência cardíaca por um novo ângulo, as metodologias que estudam a dinâmica não linear têm seduzido a Cardiologia. Atualmente, junto com a Neurologia, ela é uma das áreas da Medicina onde a dinâmica não linear mais tem sido aplicada, com resultados estimulantes (110). A linha mais desenvolvida, até o momento,

tem sido a de buscar modelos matemáticos para as arritmias cardíacas, utilizando estes novos conceitos (88,111,112,113,114,115,116,117,118,119,120,121,122,123).

Também a variabilidade da frequência cardíaca tem sido investigada por estas metodologias. Skinner et al utilizaram a dimensão de correlação, que é uma forma de avaliar variações em uma série temporal e está relacionada à presença ou ausência de comportamento caótico, com o intuito de prever o desencadeamento de fibrilação ventricular em porcos, através da indução de isquemia miocárdica (124). Encontraram diminuição importante na dimensão de correlação, minutos antes da ocorrência de fibrilação ventricular, sem que o desvio padrão dos intervalos RR se alterasse significativamente, sugerindo que esta metodologia seria mais sensível para prever morte súbita do que o desvio padrão. Isto quer dizer que a diminuição do comportamento caótico seria precursora da fibrilação ventricular.

A base do nosso método de avaliação da variabilidade da frequência cardíaca é o mapa de retorno, que em Cardiologia já foi utilizado por Tsuyoshi et al (125) para estudar extrassistolia ventricular e fibrilação atrial. O método desloca os batimentos ectópicos para longe dos batimentos sinusais, bilateralmente e de forma quase simétrica (Figura 11), que mostra o mapa de retorno em 2 dimensões de um paciente com longos períodos de bigeminismo ventricular e alguns períodos de ritmo sinusal, que foi excluído da nossa amostra. As concentrações de pontos paralelas aos eixos do X

e do Y, com distribuição quase simétrica, são consequência do batimento ectópico, logo seguido por pausa compensatória.

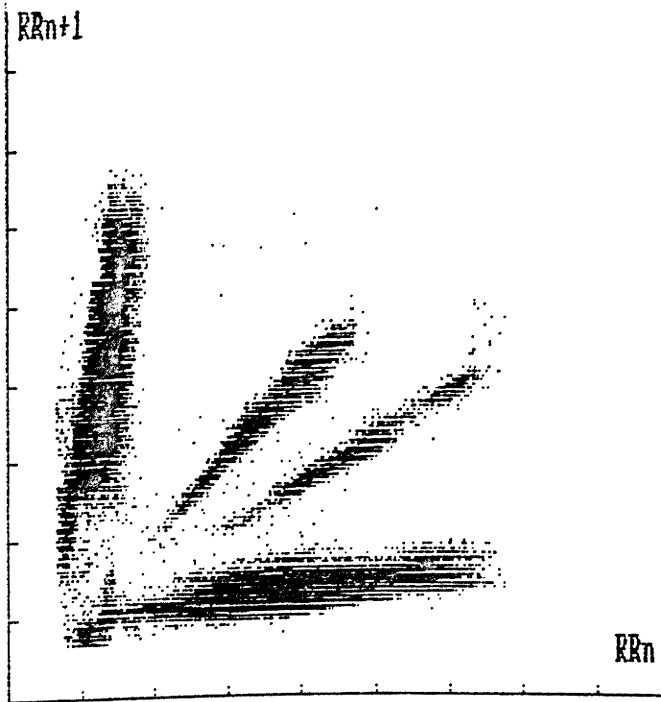


FIGURA 11. Exemplo de um mapa de retorno bidimensional de um paciente com bigeminismo ventricular.

As concentrações na parte mais central, provavelmente se devem aos poucos períodos de ritmo sinusal, apresentados nas 24 h. No eletrocardiograma de 24 h, a detecção de arritmias é um fator crítico, quando se deseja analisar a variabilidade da frequência cardíaca. Com o mapa de retorno, como mostra o exemplo acima, mesmo que ocorra alguma falha na identificação das arritmias, se houve prematuridade ou retardo, o método separa estes batimentos. Na nossa amostra, o número de ectopias e artefatos não foi grande o suficiente para alterar a morfologia do cometa, já que o primeiro contorno do cometa exige um mínimo de 10 contagens e os

pacientes apresentaram pouca arritmia. Mesmo assim, foi utilizado um filtro que eliminou da série temporal todos os batimentos com 20% de prematuridade ou de retardo, que porventura tenham escapado da análise inicial, pelo analisador de Holter. A escolha desta percentagem foi baseada no trabalho de Kleiger et al (63), que é o único trabalho que estudou a variabilidade da frequência cardíaca das 24h do dia, através do domínio do tempo, em uma grande população, para prever morte súbita. Provavelmente, se a população estudada for mais jovem do que a da nossa amostra e com variabilidade muito alta, um filtro de 20% poderá excluir muitos batimentos sinusais, podendo ser usado um filtro mais amplo.

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca, através do mapa de retorno em 2 dimensões, dá uma forma característica às variações entre os intervalos RR. Ele gera imagens que se assemelham a um cometa, com uma cauda mais estreita e uma cabeça mais larga que no indivíduo normal se torna mais evidente. O mecanismo responsável pela formação desta imagem, segundo Woo et al (8), parece ser que a cabeça do cometa é gerada pelo vago e a parte longitudinal central do cometa pelo simpático.

A maior limitação desta metodologia é que ela não revela o número de batimentos contidos no interior do cometa, impedindo que se tire conclusões quanto à relevância das diferentes morfologias possíveis de serem obtidas. Para

superar esta dificuldade é que optamos por expandir a informação para a terceira dimensão.

Este tipo de abordagem já foi utilizada por Zimmerman et al (126) para estudar o efeito convulsivante da penicilina, em cérebro de ratos. Foi usada uma série temporal de potenciais de ação cerebrais, com um total de 1000 intervalos, que foram plotados em um mapa de retorno com eixos  $N$  versus  $N+1$  e expandido para a terceira dimensão. Os autores não usaram nenhum tipo de quantificação das imagens obtidas, analisando somente a mudança na distribuição dos pontos, antes e depois de aplicar penicilina intracerebral. O método mostrou que a penicilina provoca uma grande diferença morfológica nas imagens em terceira dimensão, sem apresentar diferença significativa na média dos intervalos da série temporal.

A metodologia por nós desenvolvida, apesar de ser baseada nos mesmos princípios básicos de tratamento de série temporal empregados por Zimmerman et al (126), avança em dois aspectos fundamentais, que são a possibilidade de quantificar as imagens em terceira dimensão e a montagem do mapa de retorno utilizando  $N$  versus  $(N+1)-N$ , que analisa um evento não somente em relação ao próximo, mas também em relação à diferença entre ele e o próximo evento. Significa ter em um eixo a frequência cardíaca e no outro eixo a variação batimento a batimento. Isto permite visualizar a variabilidade da frequência cardíaca para cada uma das frequências apresentadas durante as 24 h.

Mesmo sendo as imagens por nós obtidas bastante eloquentes e elucidativas, a impossibilidade de quantificação objetiva dificultaria o emprego da metodologia de forma mais ampla, abrindo espaço para a subjetividade. Os índices por nós criados foram eficientes para separar os 3 grupos de indivíduos, com grande significância estatística, apesar da pequena amostra estudada.

O fato do nosso método ter discriminado os 3 grupos não pressupõe que ele esteja avaliando o funcionamento do sistema nervoso autônomo. Este trabalho não foi delineado para responder a esta pergunta. Contudo, a análise morfológica das imagens geradas, em conjunto com os índices, permite que se levante algumas hipóteses que, posteriormente poderão ser melhor investigadas por delineamento mais apropriado.

O do mapa de retorno tri-dimensional permite visualizar a parte interna do cometa, quantificando o número de batimentos contidos no seu interior. O que ficava oculto em 2 dimensões é revelado em 3 dimensões. Na região de maior frequência cardíaca, a cauda, é onde se observa o maior número de batimentos, com maior concentração de pontos e na região de menor frequência cardíaca, a cabeça, se observa menor número de batimentos e mais dispersão. Considerando que na modulação da frequência cardíaca pelo sistema nervoso autônomo, o simpático aumenta a frequência cardíaca e diminui a variabilidade e o parassimpático diminui a frequência cardíaca e aumenta a variabilidade, as imagens

geradas pelo nosso método parecem guardar estreita relação com o sistema nervoso autônomo.

A presença de uma distribuição nas imagens em terceira dimensão, com batimentos com frequência mais alta e baixa variabilidade e batimentos com frequência cardíaca mais baixa e alta variabilidade, sugere uma escala  $1/f$ , que assemelha-se à distribuição da variabilidade da frequência cardíaca das 24 horas, avaliada através da Análise Espectral (127,128) que também apresenta escala  $1/f$ . Na análise espectral encontra-se grande predominância dos componentes de baixa frequência, durante todo o período, com a presença de picos de alta frequência à noite, durante o período de sono. Ou seja, quanto menor a frequência das oscilações dos intervalos RR, maior a potência espectral.

Apesar do nosso método não expor a informação organizada do ponto de vista temporal, durante o processamento das imagens, os batimentos cardíacos são processados em blocos de 4000 batimentos, respeitando a sequência em que o ECG foi gravado. Assim, de forma aproximada, é possível separar o período do dia e o período da noite, durante o processamento do mapa de retorno em 2 dimensões, contando o número de blocos já processados. A observação da construção do cometa permite identificar que a cauda do cometa é formada principalmente durante o dia, quando a frequência cardíaca é mais alta e a variabilidade mais baixa. A cabeça do cometa é formada principalmente durante a noite, quando a frequência cardíaca diminui e a

variabilidade é mais alta. Para ilustrar melhor a participação do dia e da noite, analisamos um dos indivíduos normais da nossa amostra de forma a montar um cometa só do período correspondente ao dia, um cometa só do período correspondente à noite e um cometa das 24 h completas. Na Figura 12, à esquerda, estão representados os cometas das 24 h (A), só do dia (B) e só da noite (C), em duas dimensões. O cometa da noite apresenta uma cabeça maior, mais dispersa, enquanto o do dia é mais estreito, contudo, as diferenças não são visualmente marcantes. Quando a informação é passada para o mapa de retorno tridimensional (Figura 12 centro), fica eloquente a estrutura interna do cometa, com maior concentração de pontos na cauda do cometa (A), com poucos pontos na cabeça, mas com grande dispersão. O cometa do dia (B) em relação ao da noite (C), claramente, ocupam faixas distintas de frequência cardíaca e nas curvas de nível, à direita, fica evidente que durante o dia ocorre mais concentração de pontos, enquanto que à noite a dispersão é maior. Isto sugere que a cabeça seja dependente da atividade vagal, como sugeriram Woo et al (8), e a cauda seja mais dependente da atividade simpática.



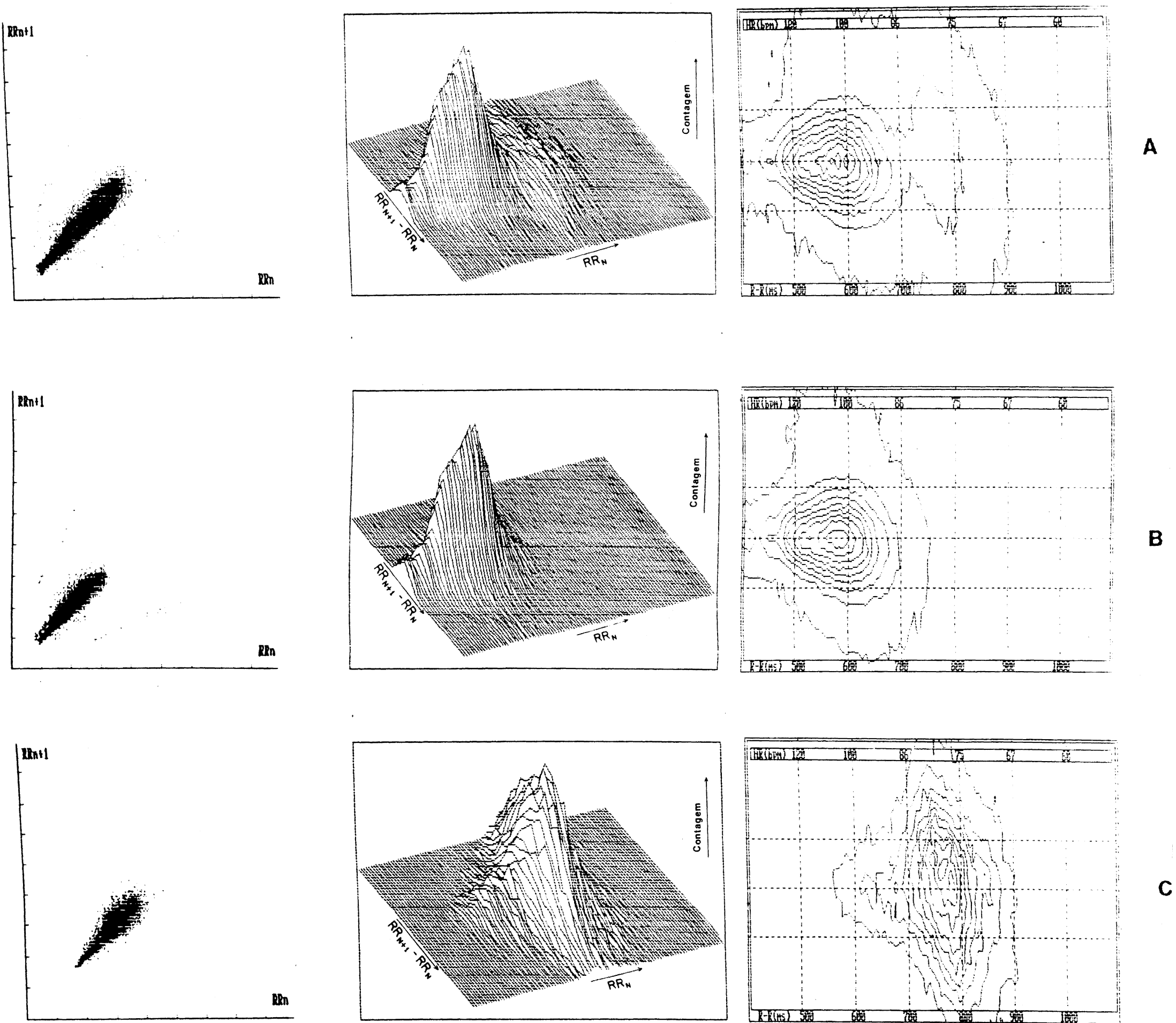


FIGURA 12. Comparação entre mapa de retorno bidimensional e mapa de retorno tridimensional durante as 24 horas do dia. A, durante as 24 horas do dia; B, durante o período do dia; C, durante o período da noite.

#### 4.1. Quantificação do cometa

Os índices criados para quantificação das imagens obtidas pelo mapa de retorno tridimensional foram elaborados a partir do conjunto de imagens obtidas nos 3 grupos estudados. Cada um dos grupos apresentou características próprias no comportamento da variabilidade da frequência cardíaca, que motivaram o desenvolvimento dos 4 índices parciais (P1, P2, P3, P4) e do índice global (MN).

Os indivíduos normais mostraram um cometa muito amplo, com grande dispersão a nível da cabeça, evidenciada pela grande amplitude do primeiro contorno e com baixa concentração de pontos, no interior do cometa (Figura 6). Os contornos internos não mostraram grande separação entre si, predominando, contudo, alguma concentração na faixa de frequência cardíaca mais alta, gerando um pico com baixas contagens e pequeno ângulo de inclinação.

Alguns diabéticos também apresentaram um cometa amplo, com relativa amplitude do primeiro contorno, porém, com maior separação entre o primeiro e o segundo contorno, tendendo a uma maior concentração de pontos na faixa de frequência cardíaca mais alta (Figura 13). Isto gera um pico com muitas contagens e um ângulo de inclinação elevado.

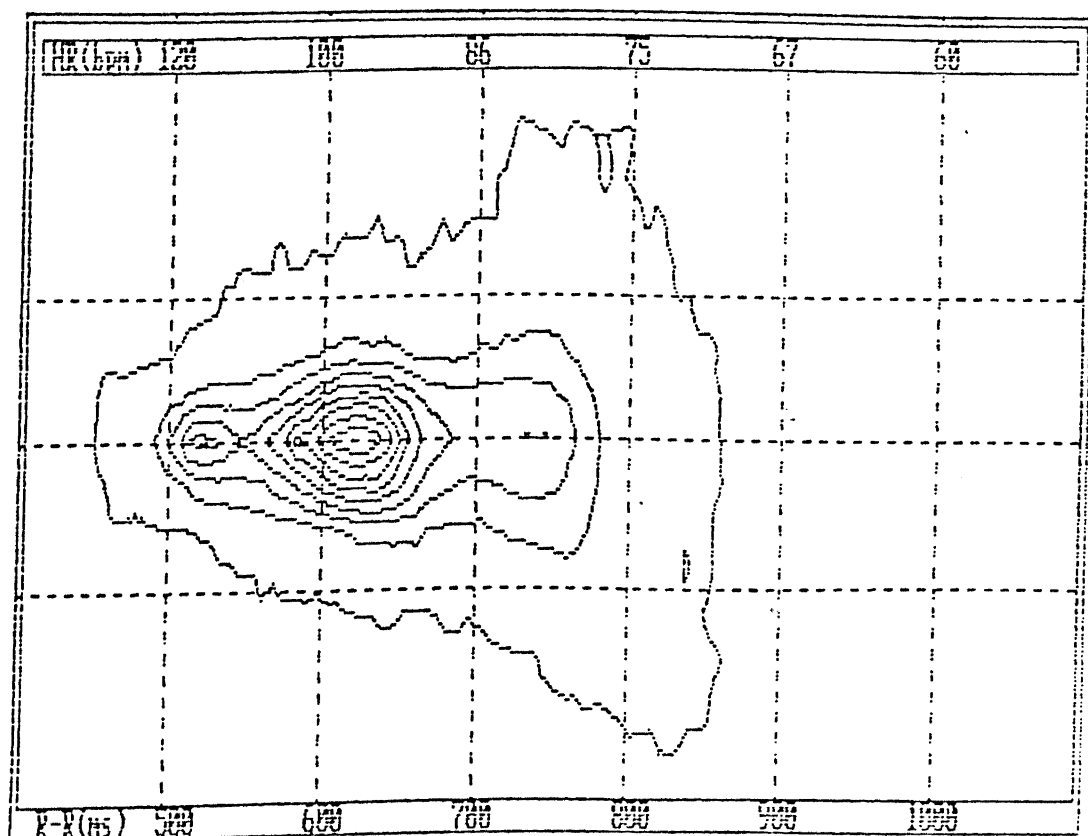
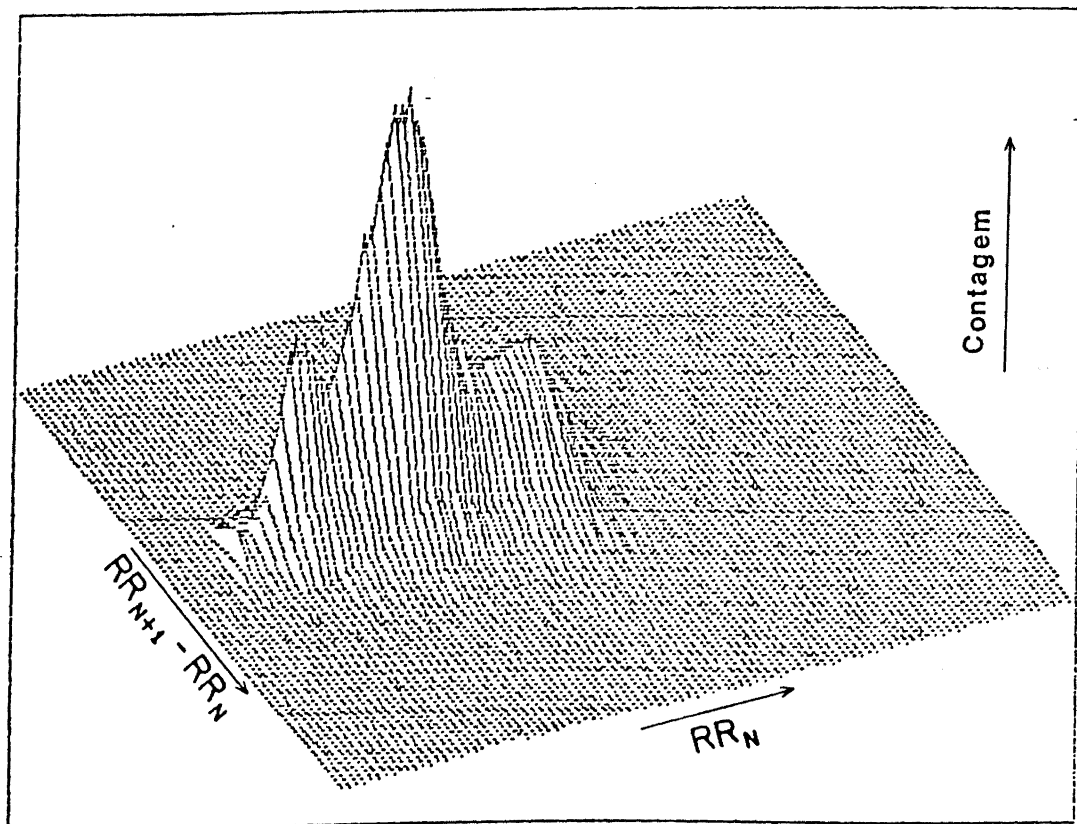


Figura 13. Mapa de retorno tridimensional em um individuo diabético.

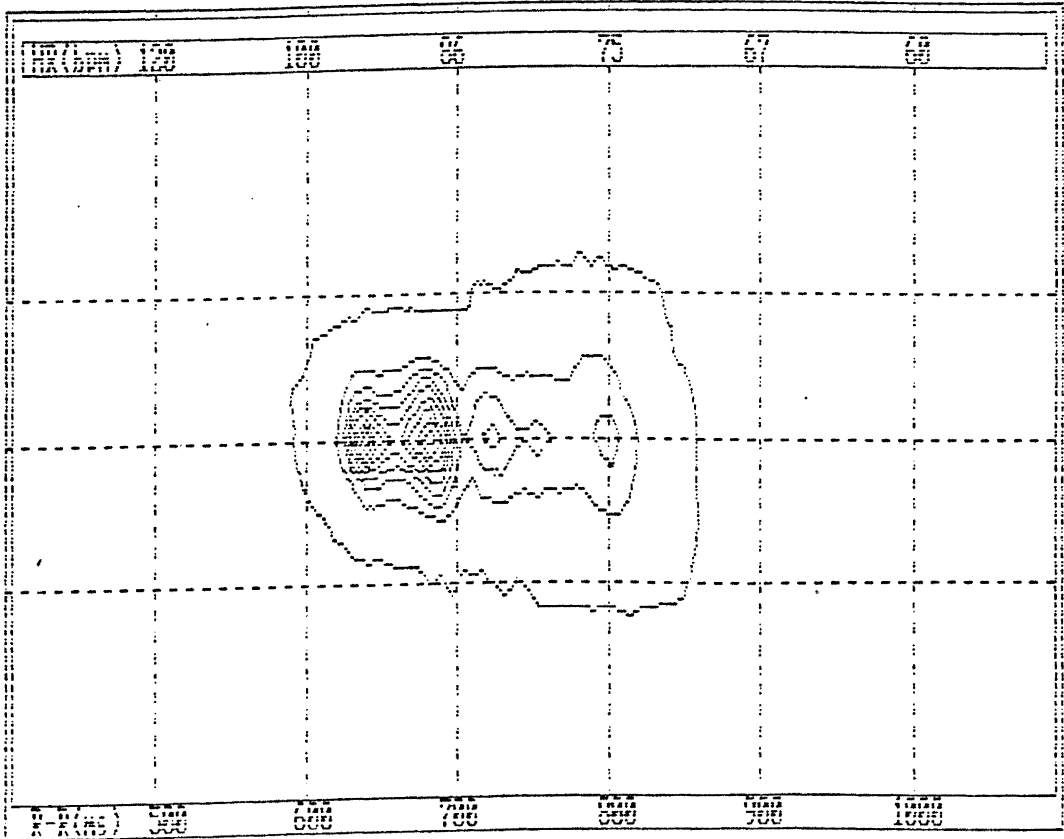
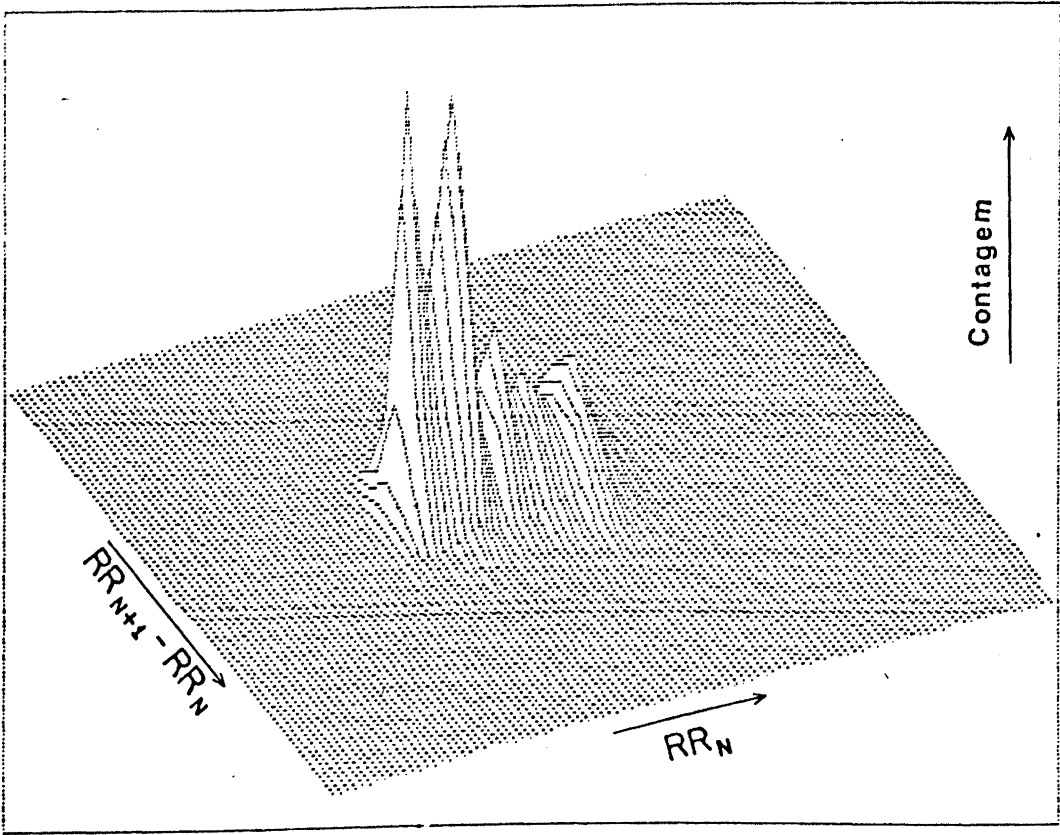


Figura 14. Mapa de retorno tridimensional em um indivíduo neuropata.

Os neuropatas e alguns diabéticos apresentaram um cometa pequeno, com o primeiro contorno de baixa amplitude, pequena separação entre os diversos contornos, grande concentração de pontos nas frequências cardíacas mais altas, com a presença de um grande pico, com um número grande de contagens e um ângulo de inclinação muito elevado (Figura 14).

O índice P1 representa o pico de maior concentração de pontos e a menor variabilidade das 24 h. Este pico sempre esteve localizado em algum ponto da cauda do cometa. A concentração de pontos foi diretamente proporcional à frequência cardíaca e inversamente proporcional à variabilidade, sugerindo ser um indicador da atividade simpática. Este índice, surpreendentemente, foi capaz de separar os 3 grupos de pacientes, da mesma forma que a composição dos 4 índices parciais (MN) (Figura 9). Ele foi baixo nos neuropatas, intermediário nos diabéticos sem neuropatia e alto nos normais.

O comportamento do P1, em alguns diabéticos sem neuropatia autônoma, reforça a hipótese que ele possa ser um índice simpático. Nestes pacientes P1 apresentou-se reduzido, mostrando grande concentração de pontos e baixa variabilidade nas frequências cardíacas mais altas, mas com grande variabilidade nas frequências baixas, só que com baixas contagens (Figura 15).

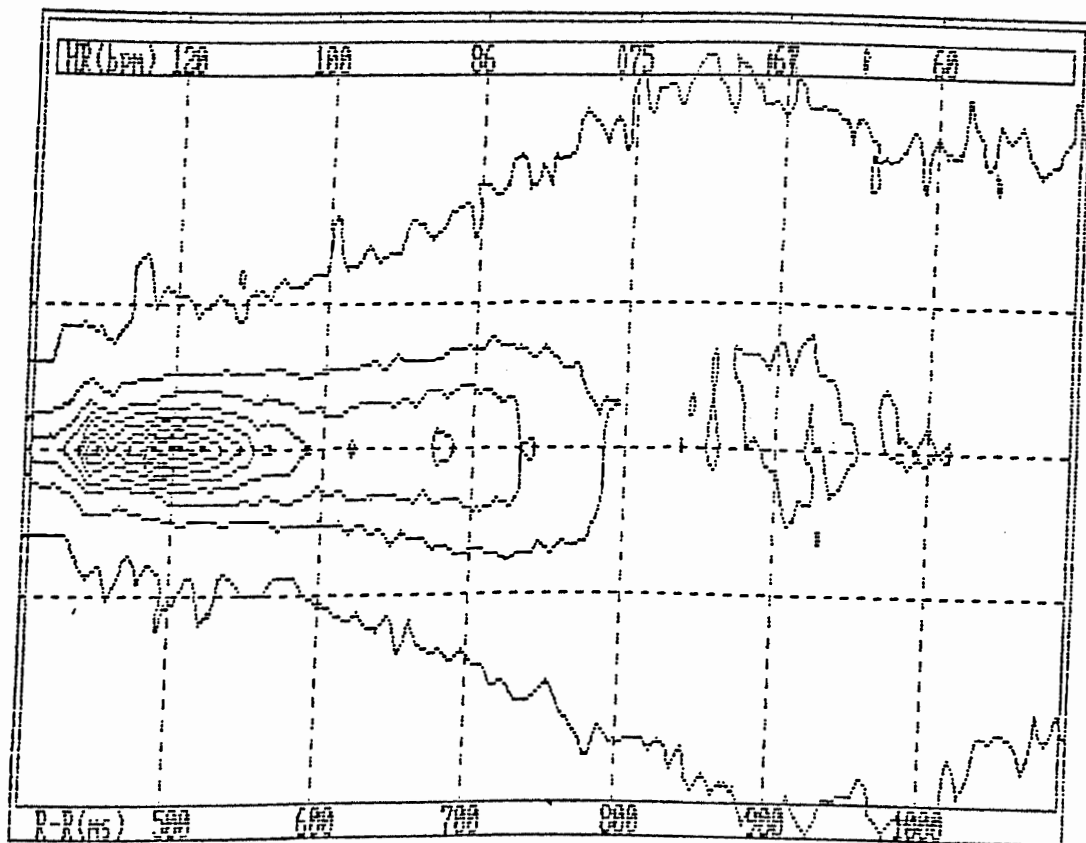
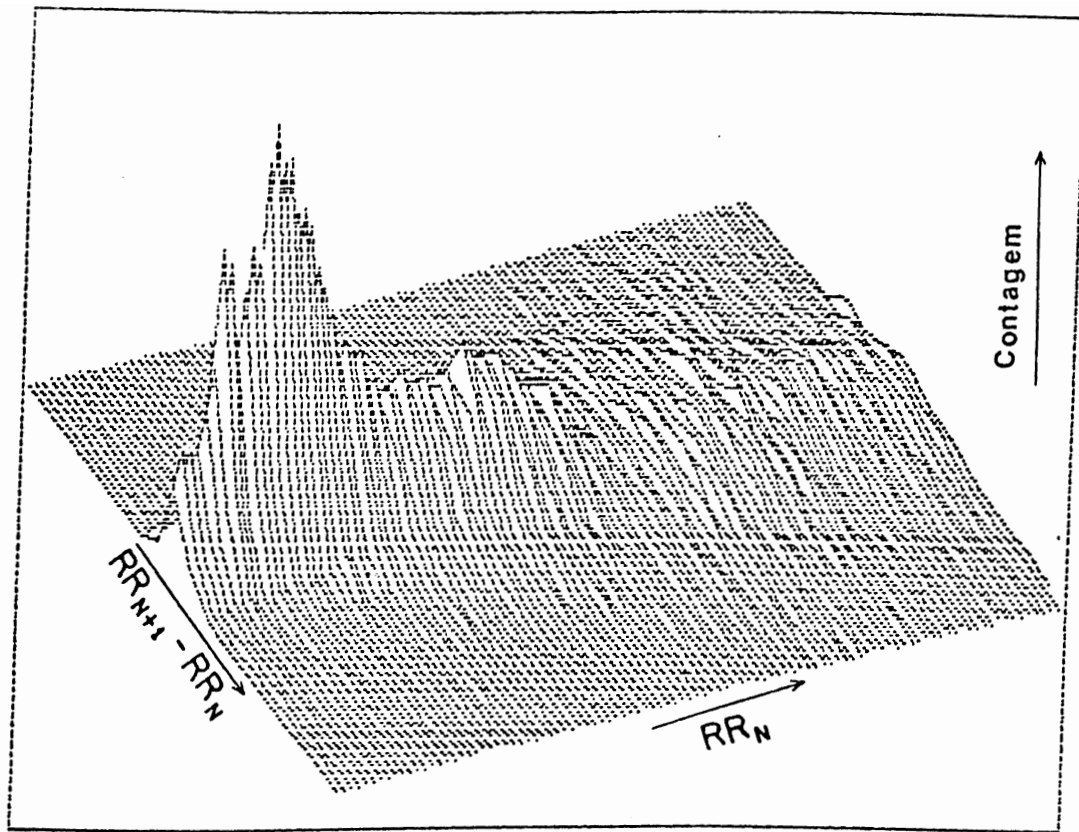


Figura 15. Mapa de retorno tridimensional de um individuo diabético com o primeiro contorno amplo e uma grande concentração no pico de contagens.

Sugerindo que estes pacientes apresentam integridade do sistema nervoso autônomo, o que permitiu ampla modulação da frequência cardíaca em determinados momentos (cabeça do cometa), mas o comportamento preferencial, nas 24 h do dia, é de baixa variabilidade da frequência cardíaca e frequência cardíaca mais alta, compatível com excesso de atividade simpática. Este comportamento se assemelha ao encontrado por Rubler et al, estudando diabéticos com pressão arterial normal em repouso e sem neuropatia autônoma, que encontrou níveis de pressão arterial de 24 h mais altos do que em indivíduos normais, devido à falta de oposição vagal (129).

O índice P2 nada mais é do que a diferença entre o maior e o menor intervalo RR das 24h, sendo que cada um destes valores extremos foram aqueles que ocorreram pelo menos 10 vezes, visto que o primeiro contorno do cometa é formado por no mínimo 10 contagens. Ele é dependente da capacidade do nodo sinusal de responder aos inúmeros estímulos do dia-a-dia como atividade física, mudanças de postura, estresse emocional, fases do sono. Este índice detectou diferenças significativas entre os neuropatas e os outros 2 grupos (Figura 9).

P3 é um índice que traduz a menor variabilidade das 24 h, contudo, apesar dele ser medido no pico de maior concentração de pontos, não oferece informação quanto à relevância desta baixa variabilidade, para o conjunto das 24 h. Por exemplo, quando o P3 foi baixo mas o P1 foi elevado, isto significa que mesmo tendo ocorrido baixa variabilidade,

a quantidade de intervalos RR com este comportamento foi pouco importante em relação ao total. Ou seja, a variabilidade foi pequena, para um determinada frequência cardíaca, mas ocorreu grande oscilação da frequência cardíaca nas 24 h, com o P1 muito elevado e a formação de vários picos secundários, tornando o pico principal pouco proeminente e portanto com menos inclinação. O oposto não ocorreu em nossa amostra, ou seja, P3 elevado e P1 baixo, que representaria variabilidade alta com grande concentração de pontos. Este índice apresentou um desempenho modesto, detectando diferenças somente entre os neuropatas e os normais (Figura 9).

O índice P4 representa a maior variabilidade apresentada nas 24 h, mostrando a capacidade máxima, de modulação do sistema nervoso autônomo para frequências cardíacas baixas. Da mesma forma que o P3, não oferece informação sobre a relevância deste comportamento para o conjunto das 24 h. Na verdade, este índice mede a dimensão da cabeça do cometa, visualizado no mapa de retorno em 2 dimensões. Como em 2 dimensões ocorre muita dispersão de pontos, seria difícil determinar qual o ponto ideal para avaliação. No nosso caso, por delimitarmos o primeiro contorno a partir de no mínimo 10 contagens, diminuimos o grau de dispersão, tornando possível efetuar esta medida.

Este índice detectou diferenças significativas entre os normais e os demais grupos (Figura 9), ou seja, os diabéticos ainda sem sinais de neuropatia autônoma pelos



testes tradicionais apresentaram comportamento diferente dos normais. Isto talvez se deva ao fato do P4 ser um índice representativo do tônus vagal e, portanto, precocemente alterado nos diabéticos.

MN é um índice composto, que busca unificar toda a informação oferecida pelo mapa de retorno tridimensional, sendo que cada um dos índices parciais contribuem com peso igual. Ele detectou diferenças entre os 3 grupos estudados, (Figura 10), mostrando ser um índice sensível para avaliar o comprometimento do sistema nervoso autônomo em diabéticos.

#### 4.2. Correlação do mapa de retorno tridimensional com os demais índices da variabilidade da frequência cardíaca

..

A correlação dos índices do mapa de retorno tridimensional com os índices no domínio da frequência e do tempo foi feita com o objetivo de evidenciar os prováveis mecanismos responsáveis pelas imagens obtidas. Como foram feitas várias comparações, a probabilidade de que encontraríamos algum tipo de associação era muito alta, mesmo que não houvesse associação alguma entre as variáveis. Para minimizar isto, optamos por utilizar a correção de Bonferroni. Cabe ainda ressaltar que os resultados por nós obtidos não estão livres de acoplamento matemático entre as variáveis independentes e as variáveis dependentes, que ocorre quando parte da relação que existe entre as variáveis pode ser explicada por uma relação matemática direta ou

indireta (130). Apesar destas considerações, em função da consistência de algumas das correlações encontradas, este tipo de análise nos permitiu levantar algumas hipóteses quanto aos mecanismos subjacentes.

O resultado das correlações realizadas está descrito na Tabela 4, onde encontramos um aglomerado muito evidente, que é a correlação entre o índice P2 com todos os demais índices estudados, variando de um coeficiente de 0,59 a 0,94. As mais fortes foram com o log do SDANNi e o log do SDNN (0,90 e 0,94). O SDANNi e o SDNN são considerados índices mistos, simpático e parassimpático, fortemente afetados pelas mudanças de postura e pela atividade física. Provavelmente o índice P2 também seja dependente deste mesmo mecanismo, já que é o resultado da maior variação da frequência cardíaca, nas 24 h. Nos chamou a atenção que um índice como P2, que apenas depende das frequências cardíacas extremas que tenham ocorrido pelo menos 10 vezes, apresente um desempenho semelhante a índices que dependem de cálculos matemáticos mais complexos e que englobam informação das 24 h do dia, como o SDANNi e o SDNN.

O índice P4 apresentou correlação com o log do SDNNi, o log do RMSSD e o log do PNN50 (0,57, 0,71 e 0,77 respectivamente), que são índices que dependem, preferencialmente, do tônus vagal. A correlação mais forte com PNN50, sabidamente um índice vagal robusto, somado ao fato do P4 estar baseado na maior variabilidade da

frequência cardíaca apresentada nas 24 h, que é mediada pelo vago, sugere que ele também possa ser um índice vagal.

Os índices P1 e P3, que medem a menor variabilidade das 24 h, de todos os índices do cometa, foram os que apresentaram menor correlação com o logaritmo dos índices considerados vagais (PNN50 e RMSSD). O índice P2 foi o único índice parcial que se correlacionou com o logaritmo do componente de baixa frequência da análise espectral, que é fortemente dependente do tônus simpático, sendo que os índices P1 e MN mostraram alguma associação com o componente de baixa frequência da análise espectral. O P1 detectou diferenças nos 3 grupos estudados, mas não parece ser um índice vagal puro, à semelhança do PNN50. Talvez ele venha a oferecer informação adicional sobre a modulação da frequência cardíaca nas 24 h do dia, possivelmente de origem simpática.

O índice MN é um índice composto que se correlacionou fortemente com o logaritmo do PNN50 e do RMSSD, sugerindo ser dependente do tônus vagal. Contudo, também apresentou alguma correlação com o logaritmo do componente de baixa frequência da análise espectral, sugerindo alguma participação simpática.

#### 4.3. Limitações do mapa de retorno tridimensional

A opção de trabalhar com um mínimo de 10 contagens para o primeiro contorno exclui um número pequeno de batimentos

nas 24 horas. Na nossa amostra o método utilizou entre 95 e 99,5% do total de batimentos válidos de cada paciente. Nos indivíduos normais foram aproveitados em média 97,2% dos batimentos válidos e nos diabéticos com neuropatia em média 98,7%. Quanto maior a concentração do cometa, menor a perda e vice-versa. Esta perda de batimentos pode ter provocado diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, quando da mensuração do cometa. Contudo, isto afetaria mais os indivíduos normais do que os diabéticos, tornando o método menos sensível. Apesar disto, o método detectou diferenças nos 3 grupos estudados.

A resolução do método, ao construir o mapa de retorno tridimensional, foi de 7,2 milissegundos. Esta resolução pode ser melhorada até 2,4 milissegundos, com a utilização de um monitor de mais resolução, do tipo SVGA, não disponível neste estudo.

##### 5. Limitações da amostra

O diabetes melito é um fator de risco independente para o desenvolvimento de cardiopatia isquêmica. Numa população diabética adulta pode haver até 55% de prevalência de cardiopatia isquêmica, diagnosticada por vários métodos, sendo que na população geral esta prevalência cai numa faixa entre 2% e 4%. Em um estudo de autópsia, 91% dos diabéticos da maturidade sem diagnóstico de cardiopatia isquêmica

apresentaram estenose severa de pelo menos um vaso coronariano importante e 83% apresentaram lesões de dois e três vasos (108). Portanto, ao detectarmos diminuição da variabilidade da frequência cardíaca nos diabéticos com e sem neuropatia autônoma, devido à grande prevalência de cardiopatia isquêmica nestes pacientes, não podemos afirmar que as alterações encontradas se devam exclusivamente ao diabetes mérito. Parte destas alterações podem estar relacionadas à cardiopatia isquêmica subjacente (131), uma vez que os pacientes não foram investigados quanto à presença desta patologia.

A presença em nossa amostra de 3 pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica pode ter afetado a variabilidade da frequência cardíaca nestes pacientes. Pelo aumento de tônus simpático, pacientes hipertensos tendem a ter menor variabilidade da frequência cardíaca (34,132).

Em relação às drogas utilizadas por alguns dos nossos pacientes, que foram enalapril, captopril, nifedipina e digoxina, nenhuma delas sabidamente diminui a variabilidade da frequência cardíaca. No caso do enalapril, foi demonstrado que esta droga não produz nenhuma alteração nos componentes da análise espectral de indivíduos sadios. No caso da digoxina, foi demonstrado que ela produz aumento do tônus vagal, aumentando o componente de alta frequência na análise espectral, portanto, aumentando a variabilidade da frequência cardíaca (133). E a nifedipina, uma droga

bloqueadora dos canais de cálcio, ainda não foi estudada quanto ao seu efeito sobre a variabilidade da frequência cardíaca porém, o diltiazem, outra droga do mesmo grupo, mostrou não gerar nenhum tipo de alteração na variabilidade da frequência cardíaca (60).

O fato da nossa amostra não ser totalmente homogênea não invalida o objetivo principal deste trabalho, que é a aplicação de uma nova metodologia de análise da variabilidade da frequência cardíaca. A escolha de estudar pacientes com diabetes mérito foi no sentido de dispor de um modelo clínico de comprometimento do sistema nervoso autônomo para testar a nova metodologia e não para testar a capacidade da metodologia em diagnosticar especificamente neuropatia autônoma diabética. »

## Capítulo VI - Conclusões

1 - O mapa de retorno tridimensional foi capaz de detectar diferenças entre indivíduos normais, diabéticos sem neuropatia autônoma e diabéticos com neuropatia autônoma.

2 - O mapa de retorno tridimensional se correlacionou com outros índices que avaliam a variabilidade da frequência cardíaca nas 24 h do dia.

Os dados por nós obtidos também sugerem que o índice P1 possa ser um marcador da atividade simpática e que o índice P4 possa ser um marcador da atividade vagal.

### Referências bibliográficas

1. McAreavy D, Neilson JMM, Ewing DJ, Russel DC. Cardiac parasympathetic activity during the early hours of acute myocardial infarction. Br H Journal 1989;62:165-70.
2. Kienzle MG; Ferguson DW, Birkett CL, Myers GA, Berg WJ, Mariano DJ. Clinical, hemodynamic and sympathetic neural correlates of heart rate variability in congestive heart failure. Am J Cardiol 1992;69:761-767.
3. Hull SS Jr, Evans AR, Vanoli E, Adamson PB, Stramba-Badiale M, Albert DE, Foreman RD, Schwartz PJ. Heart rate variability before and after myocardial infarction in conscious dogs at high and low risk of sudden death. J Am Coll Cardiol 1990;16:978-985.
4. Fouad FM, Tarazi RC, Ferrario CM, Fighaly S, Alicandri C. Assessment of parasympathetic control of heart rate by a noninvasive method. Am J Physiol 1984; 246:838-842.
5. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. Diabetes Care 1985;8:491-498.



6. Ewing DJ, Neilson JMM, Travis P. New method for assessing cardiac parasympathetic activity using 24 hour electrocardiograms. *Br Heart J* 1984;52:396-402.
7. Denton TA, Diamond GA, Helfant RH, Khan S, Karagueuzian H. Fascinating rhythm: A primer on chaos theory and its application to cardiology. *Am Heart J* 1990; 120:1419-1440.
8. Woo MA, Stevenson WG, Moser DK, Trelease RB, Harper RM. Patterns of beat-to-beat heart rate variability in advanced heart failure. *Am Heart J* 1992;123:704-710.
9. Katona PG, Jih F. Respiratory sinus arrhythmia: noninvasive measure of parasympathetic cardiac control. *J Appl Physiol* 1975; 39: 801-805.
10. Eckberg DL. Human sinus arrhythmia as an index of vagal cardiac outflow. *J Appl Physiol* 1983;54: 961-966.
11. Bernardi L, Keller F, Sanders M, Reddy PS, Griffith B, Meno F, Pinsky MR. Respiratory sinus arrhythmia in the denervated human heart. *J Appl Physiol* 1989; 67: 1447-1455.
12. Hirsh JA, Bishop B. Respiratory sinus arrhythmia in humans: how breathing pattern modulates heart rate. *Am J Physiol* 1981; 241:620-629.

13. Clynes M. Science 1960;131:300-302.
14. Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NV, Shannon DC, Cohen RJ. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. Am J Physiol 1985; 249:867-875.
15. Hirsh JA, Bishop B. Respiratory sinus arrhythmia in humans: how breathing pattern modulates heart rate. Am J Physiol 1981; 241:620-629.
16. Castro CLB, Nóbrega ACL, Araújo CGS. Testes autonômicos cardiovasculares. Uma revisão crítica. Parte I. Arq Bras Cardiol 1992;59:75-85.
17. Shannon DC, Carley DW, Benson H. Aging of modulation of heart rate. Am j Physiol 1987; 253:874-877.
18. Hellman JB, Stacy RW. Variation of respiratory sinus arrhythmia with age. J Appl Physiol 1976;41(5):734-738.
19. Hrushesky WJM, Fader D, Schmitt O, Gilbertsen V. The respiratory sinus arrhythmia: a measure of cardiac age. Science 1984;224:1001-1004.
20. Irigoyen MC, Moreira RD, Moreira ED, Krieger EM. High-renin renal hypertension depresses the baroreflex control of heart rate and sympathetic activity. In: George Kunus, John

Ciriello, eds. Central neural mechanism in cardiovascular regulation. Boston: Birkhäuser, 1991;18:224-264.

21. Berger RD, Saul JP, Cohen RJ. Transfer function analysis of autonomic regulation I. Canine atrial rate response. *Am J Physiol* 1989; 256:142-152.

22. Oliveira VLL, Irigoyen MC, Moreira ED, Strunz C, Krieger EM. Renal denervation normalizes pressure and baroreceptor reflex in high renin hypertension in conscious rats. *Hypertension* 1992;19[suppl II]:II-17-II-21.

23. Saul JP. Beat-to-beat variations of heart rate reflect modulation of cardiac autonomic outflow. *Nips* 1990; 5:32-37.

24. Marin-Neto JA, Gallo L Jr, Manço JC, Rassi A, Amorim DS. Mechanisms of tachycardia on standing: studied in normal individuals and in chronic Chaga's heart patients. *Cardiovasc Res* 1980;14:541-550.

25. Oren RM, Roach PJ, Shobel HP, Berg WJ, Ferguson DW, Kempf JS. Sympathetic responses of patients with congestive heart failure to cold pressor stimulus. *Am J Cardiol* 1991;67:993-1001.

26. Pagani M, Mazzuero G, Ferrari A, Liberati D, Cerutti S, Vaitl D, Tavazzi L, Malliani A. Sympathovagal interaction

during mental stress. A study using spectral analysis of heart rate variability in healthy control subjects and patients with a prior myocardial infarction. *Circulation* 1991;83[suppl II]:II-43-II-51.

27. Maciel BC, Gallo Jr L, Marin-Neto JA, Martins LEB. Leg endurance training has no effect on the autonomic control of heart rate during isometric exercise. *Braz J Med Biol Res* 1989;22:225-232.

28. Marin-Neto JA, Pintya AO, Gallo Jr L, Maciel BC. Abnormal baroreflex control of heart rate in decompensated congestive heart failure and reversal after compensation. *Am J Cardiol* 1991;67:604-610.

29. Marin-Neto JA, Maciel BC, Gallo JrL, Junqueira JrLF, Amorin SD. Effect of parasympathetic impairment on the haemodynamic response to handgrip in Chagas's heart disease. *Br Heart J* 1986;55:204-210.

30. Maciel BC, Gallo Jr L, Marin-Neto JA, Lima Filho EC, Martins LEB. Autonomic nervous control of the heart rate during dynamic exercise in normal man. *Clin Sci* 1986;71:457-460.

31. Ribeiro JP, Ibáñez JM, Stein R. Autonomic nervous control of the heart rate response to dynamic incremental

exercise: evaluation of the Rosenblueth-Simeone model. *Eur J Appl Physiol* 1991;62:140-144.

32. Araujo CGS, Nobrega ACL, Castro CLB. Heart rate responses to deep breathing and 4-seconds of exercise before and after pharmacological blockade with atropine and propranolol. *Clin Auton Res* 1992;2:35-40.

33. Kamath MV, Fallen EL, Mckelvie R. Effects of steady state exercise on the power spectrum of heart rate variability. *Med Sci Sports Exerc* 1991;23:428-434.

34. Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84:482-492.

35. Singer DH, Martin GJ, Magid N, Weiss JS, Shcaad JW, Kehoe R, Zheutlin T, Fintel DJ, Hsieh A, Lesch M. Low heart rate variability and sudden cardiac death. *J Electocardiol* 1988;21:S46-S55.

36. Hoogenhuyze DV, Martin GJ, Weiss JS, Schaad J, Fintel D, Singer DH. Heart rate variability 1989. An update. *J Electrocardiol* 1989;22:S204-S208.

37. Moraes RSF, Ferlin EL. Variabilidad de la frecuencia cardíaca. Utilidad del análisis espectral para evaluar el sistema nervioso autónomo. *Rev Arg Cardiol* 1992;60:77-80.
38. Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Barger AC, Cohen RJ. Power spectrum analysis of heart rate fluctuations: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 1981; 213:220-222.
39. Randall DC, Brown DR, Raisch RM, Yimling FD, Randall WC. SA nodal parasympathectomy delineates autonomic control of heart rate power spectrum. *Am J Physiol* 1991; 260:H985-H988.
40. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S, Malliani A. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interactions in man and conscious dog. *Circ Res* 1986;59:178-193.
41. Coker R, Koziell A, Oliver C, Smith SE. Does the sympathetic nervous system influence sinus arrhythmia in man? Evidence from combined autonomic blockade. *J Physiol* 1984; 356:459-464.

42. Sands KEF, Appel ML, Lilly LS, Shoen FJ, Mudge Jr GH, Cohen RJ. Power spectrum analysis of heart rate variability in human cardiac transplant recipients. *Circulation* 1989;79:76-82.

43. Pagani M, Malfatto G, Pierini S, Casati R, Masu AM, Poli M, Guzzetti S, Lombardi F, Cerutti S, Malliani A. Spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy. *J Auton Nerv Syst* 1988; 23: 143-153.

44. Lombardi F, Torzillo D, Sandrone G, Vecchia LD, Finocchiaro ML, Bernasconi R, Cappiello E. Beta-blocking effect of propafenone based on spectral analysis of heart rate variability. *Am J Cardiol* 1992;70:1028-1034.

45. Kleiger RE, Bigger JT, Bosner MS, Chung MK, Cook JR, Rolnitsky LM, Steinmen R, Fleiss JL. Stability over time of variables measuring heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1991;68:626-630.

46. Lipsitz LA, Mietus J, Moody GB, Goldeberger AL. Spectral characteristics before and during postural tilt. Relations to aging and risk of syncope. *Circulation* 1990;81:1803-1810.

47. Murray A, Ewing DJ, Campbell IW, Neilson JMM, Clarke BF. RR interval variations in young male diabetics. Br H Journal 1975;37:882-885.

48. Myers GA, Martin GJ, Magid NM, Barnett PS, Shcaad JW, Weiss JS, Lesch M, Singer DH. Power spectral analysis of heart rate variability in sudden cardiac death: Comparison to other methods. IEEE Trans Bio Eng 1986;12:1149-1156.

49. Bigger JT, Kleiger RE, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC, Miller JP. Components of heart rate variability measured during healing of acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1988;61:208-215.

50. Bigger JT, Albrecht P, Steinman RC, Rolnitzky LM, Fleiss JL, Cohen RJ. Comparison of time- and frequency domain-based measures of cardiac parasympathetic activity in holter recordings after myocardial infarction. Am J Cardiol 1989; 64:536-538.

51. Cripps TR, Malik M, Farrell TG, Camm AJ. Prognostic value of reduced heart rate variability after myocardial infarction: clinical evaluation of a new analysis method. Br H Journal 1991;65:14-19.



52. Malpas SC, Whiteside EA, Maling TJB. Heart rate variability and cardiac autonomic function in men with chronic alcohol dependence. *Br H Journal* 1991;65:84-88.

53. Schechtman VL, Kluge KA, Harper RM. Time-domain system for assessing variation in heart rate. *Med & Biol Eng & Comput* 1988;26:367-373.

54. Malik M, Cripps T, Farrell T, Camm AJ. Prognostic value of heart rate variability after myocardial infarction. A comparison of different data-processing methods. *Med & Biol Eng & Comput* 1989;27:603-611.

55. Coumel P, Hermida JS, Wennerblöm B, Leenhardt A, Maison-Blanche P, Cauchemez B. Heart rate variability in left ventricular hypertrophy and heart failure, and the effects of beta-blockade. A non-spectral analysis of heart rate variability in the frequency domain and in the time domain. *Eur Heart J* 1991;12:412-422.

56. Kleiger RE, Bigger JT, Bosner MS, Chung MK, Cook JR, Rolnitzky LM, Steinmen R, Fleiss JL. Stability over time of variables measuring heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1991;68:626-630.

57. Bigger JT, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Correlations among time and frequency domain

measures of heart period variability two weeks after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1992;69:891-898.

58. Bigger JT, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC. Stability over time of heart period variability in patients with previous myocardial infarction and ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1992;69:718-723.

59. Vybiral T, Bryg RJ, Maddens ME, Bhasin SS, Cronin S, Boden WE, Lehmann MH. Effects of transdermal scopolamine on heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1990;65:604-608.

60. Cook JR, Bigger JT, Kleiger RE, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM. Effect of atenolol and diltiazem on heart period variability in normal persons. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:480-484.

61. Hayano J; Sakakibara Y, Yamada A, Yamada M, Mukai S, Fujinami T, Yokoyama K, Watanabe Y, Takata K. Accuracy of assessment of cardiac vagal tone by heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1991;67:199-204.

62. Irigoyen MC, Cestari IA, Moreira ED, Oshiro MS, Krieger EM. Measurements of renal sympathetic nerve activity in conscious sinoaortic denervated rats. *Brazilian J Med Biol Res* 1988;21:869-872.

63. Kleiger RE, Miller P, Bigger JT, Moss AJ. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1987;59:256-262.

64. Zuanetti G, Latini R, Neilson JMM, Schwartz PJ, Ewing DJ. Heart rate variability in patients with ventricular arrhythmias: effect of antiarrhythmic drugs. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:604-612.

65. Huikuri HV, Kessler KM, Terracall E, Castellanos A, Linnaluoto MK, Myerburg RJ. Reproducibility and circadian rhythm of heart rate variability in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1990;65:391-393.

66. Smith ML, Ellenbogen KA, Eckberg DL, Sheehan HM, Thames MD. Subnormal parasympathetic activity after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1990;66:1243-1246.

67. Gross JL, Eizirik DL, Kruter RHE. Duração do diabetes melito e complicações microangiopáticas. *Rev Ass Med Bras* 1982;28:140.

68. Ewing DJ. Autonomic neuropathy. In: Pickup JC, Williams G, eds. *Textbook of Diabetes*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1991:635-647.

69. Clarke BF, Ewing DJ, Campbell IW. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetologia* 1979;17:195-212.

70. Gross JL, Azevedo MJ, Ludwig EB. Diabetic autonomic neuropathy. Proceedings of the 18 th Brazilian Congress of Endocrinology and Metabolism, Rio de Janeiro, Brazil. 12-17 June 1988. 1988 Excerpta Medica, Amsterdam.

71. Wheeler T, Watkins PJ. Cardiac denervation in diabetes. *Br Med J* 1973;4:584-586.

72. Manço J, Gallo L, Fonseca C, Casela Filho A, et al. Função autonômica dos sistemas cardiovascular e respiratório no diabetes mellitus. *Rev Bras Neurol* 1991; 27(51): 22F-28-F.

73. Scharpey-Schafer EP, Taylor PJ. Absent circulatory reflexes in diabetic neuritis. *Lancet* 1960;1:559-562.

74. Lloyd-Mostyn RH, Watkins PJ. Defective innervation of heart in diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 1975;3:15-17.

75. Hilsted J. Pathophysiology in diabetic autonomic neuropathy: cardiovascular, hormonal and metabolic studies. *diabetes* 1982;31:730-737.

76. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985;8:491-498.

77. O'Brien IAD, O'Hare P, Corral RJM. Heart rate variability in healthy subjects: effect of age and the derivation of normal ranges for testes of autonomic function. *Br Heart J* 1986; 55:348-354.  
in diabetes.

78. Kruter RHE, Eizirik DL, Gross JL. Relationship of the valsava ratio to autonomic neuropathy and other complications of diabetes mellitus. *Brazilian J Med Biol Res* 1982; 15:35-41.

79. Molgaard H, Christensen PD, Sorensen KE, Christensen CK, Mogensen CE. Association of 24-h cardiac parasympathetic activity and degree of nephropathy in IDDM patients. *Diabetes* 1992; 41:812-817.

80. Malpas SC, Maling TJB. Heart-rate variability and cardiac autonomic function in diabetes. *Diabetes* 1990; 39:1177-1181.

81. Lishner M, Akselrod S, Mor Avi V, Oz O, Divon M, Ravid M. Spectral analysis of heart rate fluctuations. A non-

invasive, sensitive method for early diagnosis of autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *J Auton Nerv Syst* 1987; 19: 119-125.

82. Freeman R, Saul JP, Roberts MS, Berger RD, Broadbridge C, Cohen RJ. Spectral analysis of heart rate in diabetic autonomic neuropathy. A comparison with standard tests of autonomic function. *Arch Neurol* 1991; 48:185-190.

83. Bellavere F, Balzani I, Masi G, Carraro M, Carezza P, Cobelli C, Thomaseth K. Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes* 1992;41:633-40.

84. Ziegler D, Dannehl K, Volksw D, Mühlen H, Spüler M, Gries FA. Prevalence of cardiovascular autonomic dysfunction assessed by spectral analysis and standard tests of heart-rate variation in newly diagnosed IDDM patients. *Diabetes Care* 1992;15:908-911.

85. Kaplan DT, Goldberger AL. Chaos in cardiology. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1991;2:342-354.

86. Farmer JD. The dimension of chaotic attractors. *Physica D* 1983;7:153-180.

87. Goldeberger AL, Rigney DR, West BJ. Chaos and fractals in human physiology. *Sci Am* 1990;262:35-41.
88. Goldberger AL. Fractal electrodynamics of the heartbeat. *Ann NY Acad Sci* 1990;591:402-409.
89. Mandelbrot BB. . The fractal geometry of nature. New York: Freeman, 1982.
90. Goldeberger AL, West B. Chaos and order in the human body. *M.D.COMPUTING* 1992;9:25-34.
91. Berger RD, Saul JP, Cohen RJ. Assessment of autonomic response by broad-band respiration. *IEEE Trans Biomed Eng* 1989; 36:1061-1065.
92. Saul PJ, Albrecht P, Berger RD, Cohen RJ. Analysis of long term heart rate variability: methods, 1/f scaling and implications. *Comput Cardiol Conference, Leuven, Belgium, September 12-15, 1987; páginas 419-422.*
93. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28:1038-1057.
94. Schriver H, Gambino SR. Protein turbidity produced by trichloroacetic acid and sulfosalicylic acid at varying

temperatures and varying ratios of albumin and globulin. Am J Clin Path 1965;44:667-672.

95. Trivelli LA, Ranney HM, Lai HT. Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. N Engl J Med 1971;284:353-357.

96. Johnson RN, Metcelf PA, Baker JR. Fructosamine: A new approach to the estimation of serum glycoprotein. An index of diabetic control. Clin Chem Acta 1982;127:87-95.

97. Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with carcinogenic chromogen. J Clin Path 1969;22:158-161.

98. Fleiss JL. Design and Analysis of Clinical Experiments. New York: John Wiley & Sons, 1986:65-67.

99. Ryder REJ, Hardisty CA. Which battery of cardiovascular autonomic function tests? Diabetologia 1990;33:177-179.

100. Ewing DJ. Which battery of cardiovascular autonomic function tests? Diabetologia 1990;33:180-181.

101. Wieling W, Van LieshoutJJ. The assessment of cardiovascular reflex activity: Standardization is needed. Diabetologia 1990;33:182-183.



102. Lawrence GP, Home PD, Murray A. Repeatability of measurements and sources of variability in tests of cardiovascular autonomic function. *Br Heart J* 1992;68:205-211.

103. Vybiral T, Bryg RJ, Maddens ME, Boden WE. Effect of passive tilt on sympathetic and parasympathetic components of heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1989;63:1117-1120.

104. Ewing DJ, Neilson JMM, Shapiro CM, Stewart JA, Reid W. Twenty four hour heart rate variability: effects of posture, sleep, and time of day in healthy controls and comparison with bedside tests of autonomic function in diabetic patients. *Br Heart J* 1991;65:239-244.

105. Pomeranz B, Macaulay RJB, Caudill MA, Kutz I, Adam D, Gordon D, Kilborn KM, Barger AC, Shannon DC, Cohen RJ, Benson H. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am J Physiol* 1985;248:151-153.

106. Albrecht P, Cohen RJ. Estimation of heart rate power spectrum bands from real-world data: Dealing with ectopic beats and noisy data. *Comput Cardiol* 1989;15:311-314.

107. Dougherty CM, Burr RL. Comparison of heart rate variability in survivors and nonsurvivors of sudden cardiac arrest. *Am J Cardiol* 1992;70:441-448.

108. Jacoby RM, Nesto RW. Acute myocardial infarction in the diabetic patient: pathophysiology, clinical course and prognosis. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:736-744.

109. Bigger JT, Kleiger RE, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC, Miller JP. Components of heart rate variability measured during healing of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988;61:208-215.

110. Glass L, Hunter P. There is a theory of heart. *Physica D* 1990;43:1-16.

111. Guevara MR, Glass L, Shrier A. Phase locking, period-doubling bifurcations, and irregular dynamics in periodically stimulated cardiac cells. *Science* 1981; 214: 1350-1353.

112. Ritzenberg AL, Adam DR, Cohen RJ. Period multiplying-evidence for nonlinear behaviour of the canine heart. *Nature* 1984; 307:159-161.

113. Guevera MR, Shrier A, Glass L. Phase-locked rhythms in periodically stimulated heart cell aggregates. Am J Physiol 1988; 254:1-10.

114. Courtemanche M, Glass L, Rosengarten MD, Goldeberger AL. Beyond pure parasystole: promises and problems in modeling complex arrhythmias. Am J Physiol 1989; 257:693-706.

115. Michaels DC, Chialvo DR, Matyas EP, Jalife J. Chaotic Activity in a mathematical model of the vagally driven sinoatrial node. Circ Res 1989;65:1350-1360.

116. Chialvo DR, Michaels DC, Jalife J. Supernormal excitability as a mechanism of chaotic dynamics of activation in cardiac purkinje fibers. Circ Res 1990;66:525-545.

117. Witkowski FX, Penkoske PA. Activation patterns during ventricular fibrillation. Ann NY Acad Sci 1990;591:219-231.

118. Holden AV, Lab MJ. Chaotic behaviour in excitable systems. Ann NY Acad Sci 1990;591:303-315.

119. Glass L, Zeng W. Complex bifurcations and chaos in simple theoretical models of cardiac oscillations. Ann NY Acad Sci 1990;591:316-327.

120. Chay TR, Lee YS. Bursting, beating, and chaos by two functionally distinct inward current inactivations in excitable cells. Ann NY Acad Sci 1990;591:328-350.

121. Chialvo DR. Toward very simple generic models of excitable cells. Order and chaos in cardiac tissues. Facts and conjectures. Ann NY Acad Sci 1990;591:351-366.

122. Kaplan DT, Cohen RJ. Searching for chaos in fibrillation. Ann NY Acad Sci 1990;591:367-374.

123. Liebovitch LS, Tóth TI. Fractal activity in cell membrane ion channels. Ann NY Acad Sci 1990;591:375-391.

124. Skinner JE, Carpeggiani C, Landisman CE, Fulton KW. Correlation dimension of heartbeat intervals is reduced in conscious pigs by myocardial ischemia. Circ Res 1991;68:966-976.

125. Anan T, Sunagawa K, Araki H, Nakamura M. Arrhythmia analysis by successive RR plotting. Journal of Electrocardiology 1990;23:243-248.

126. Zimmerman ID, Rapp PE, Mees AI. The geometrical characterization of neural activity displays a sensitivity

to convulsants. *International Journal of Bifurcation and Chaos* 1991;1:253-259.

127. Lombardi F, Sandrone G, Mortara A, La Rovere MT, Colombo E, Guzzetti S, Malliani A. Circadian variation of spectral indices of heart rate variability after myocardial infarction. *Am Heart J* 1992;123:1521-1529.

128. Huikuri HV, Linnaluoto MK, Seppänen T, Airaksinen KEJ, Kessler KM, Takkunen JT, Myerburg RJ. Circadian rhythm of heart rate variability in survivors of cardiac arrest. *Am J Cardiol* 1992;70:610-615.

129. Rubler S, Chu DA, Bruzzone CL. Blood pressure and heart rate responses during 24-hour ambulatory monitoring and exercise in men with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 1985; 55:801-806.

130. Archie JP. Mathematical coupling of data. *Ann Surg* 1981;193:296-303.

131. Hayano J, Sakakibara Y, Yamada M, Ohte N, Fujinami T, Yokoyama K, Watanabe Y, Takata K. Decreased magnitude of heart rate spectral components in coronary artery disease. Its relation to angiographic severity. *Circulation* 1990;81:1217-1224.

132. Furlan R, Guzzetti S, Crivellaro W, Dassi S, Tinelli M, Baselli G, Cerutti S, Lombardi F, Pagani M, Malliani A. Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subjects. *Circulation* 1990;81:537-547.

133. Bosner MS, Kaufman ES, Stein PK, Kleiger RE, Bigger JT, Rolnitzky LM, Fleiss JL, Steinman R. The effect of enalapril and digoxin on heart period variability in normal subjects [Abstract]. *Circulation* 1991;84(Suppl II):616.

## Anexo I

### III-TERMO DE CONSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO (Convite para juntar-se ao estudo da variabilidade da frequência cardíaca em indivíduos com diabetes mérito e normais).

Este estudo, que está sendo realizado no Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, visa entender melhor o funcionamento do sistema cardiovascular. O padrão da variabilidade do batimento cardíaco tem sido muito estudado como uma forma de avaliar o grau de comprometimento do sistema nervoso autônomo em indivíduos com diabetes mérito, pois os testes existentes até então não são práticos e às vezes de difícil reprodução. Assim, esta pesquisa se propõe a avaliar a frequência cardíaca através da gravação do eletrocardiograma durante 24 horas do dia em indivíduos com diabetes mérito e em pessoas normais. O sistema de gravação Holter de 24 horas é feito com a instalação de cinco eletrodos conectados a um gravador de bolso. Este aparelho funciona com uma pilha, não existindo o risco de choque elétrico ou queimadura. A colocação e retirada do aparelho são realizadas pelos pesquisadores. O estudo não compreende quaisquer exames extras ou uso de medicamentos.

Se você tiver qualquer dúvida antes de decidir em participar ou não do estudo sinta-se a vontade para fazê-lo.