

UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA

CLAUDIA MARIA SOUSA DE CARVALHO

***LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA) APLICADA À AVALIAÇÃO
DE ESTRESSE***

**LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA) APPLIED TO STRESS
EVALUATE**

SÃO PAULO-SP
2024

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA**

CLAUDIA MARIA SOUSA DE CARVALHO

***LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA) APLICADA À AVALIAÇÃO
DE ESTRESSE***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Biomédica.

Prof^o Dr. Marcello Magri Amaral
Orientador

Prof^a Dr^a Laurita dos Santos
Coorientadora

SÃO PAULO-SP
2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a)**

C261L CARVALHO, Claudia Maria Sousa de.

Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) aplicada à avaliação de estresse / Claudia Maria Sousa de Carvalho -- São Paulo: Universidade Brasil, 2024.

97 f. il. color.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Prof. Dr. Marcello Magri Amaral.

Coorientação: Profa. Dra. Laurita dos Santos.

1. *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)*. 2. Monitoramento de Estresse. 3. Variabilidade da Frequência Cardíaca. 4. Estresse. 5. Estresse Físico. I. Amaral, Marcello Magri. II. Santos, Laurita dos. III. Título.

CDD 621.366



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

TERMO DE APROVAÇÃO

CLAUDIA MARIA SOUSA DE CARVALHO

"LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA) APLICADA À AVALIAÇÃO DE ESTRESSE"

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Membros da banca:

Orientador(a): Marcello Magri Amaral

Membro externo: Marcus Paulo Raele

Membro externo: Mikael Henrique de Jesus Batista

Membro interno: Carla Roberta Tim

Membro interno: Laurita dos Santos

Orientador(a): Marcello Magri Amaral

assinatura do membro

Membro externo: Marcus Paulo Raele

assinatura do membro

Membro externo: Mikael Henrique de Jesus Batista

assinatura do membro



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Membro interno: Carla Roberta Tim

assinatura do membro

Membro interno: Laurita dos Santos

assinatura do membro

Houve alteração do título da dissertação da defesa de tese?

Sim

Não

São Paulo, 12 de dezembro de 2024

Presidente da Banca: Marcello Magri Amaral

Página de assinaturas



Marcello Amaral
304.653.788-38
Signatário



Carla Tim
336.862.158-02
Signatário



Marcus Raele
169.350.138-44
Signatário







Mikael Batista
036.839.551-04
Signatário



Laurita Santos
805.873.480-20
Signatário

HISTÓRICO

- 12 dez 2024 16:01:48  Marcello Magri Amaral criou este documento. (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38)
- 12 dez 2024 16:01:49  Marcello Magri Amaral (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38) visualizou este documento por meio do IP 205.164.164.195 localizado em Vargem Grande Paulista - São Paulo - Brazil
- 12 dez 2024 16:01:52  Marcello Magri Amaral (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38) assinou este documento por meio do IP 205.164.164.195 localizado em Vargem Grande Paulista - São Paulo - Brazil
- 12 dez 2024 18:40:21  Marcus Paulo Raele (Email: mpraele@gmail.com, CPF: 169.350.138-44) visualizou este documento por meio do IP 201.43.63.247 localizado em São Paulo - São Paulo - Brazil



- 12 dez 2024 18:40:35  Marcus Paulo Raele (Email: mpraele@gmail.com, CPF: 169.350.138-44) assinou este documento por meio do IP 201.43.63.247 localizado em São Paulo - São Paulo - Brazil
- 13 dez 2024 09:44:01  Mikael Henrique de Jesus Batista (Email: mikael.batista@ufra.edu.br, CPF: 036.839.551-04) visualizou este documento por meio do IP 170.246.99.97 localizado em Araguaína - Tocantins - Brazil
- 13 dez 2024 09:44:07  Mikael Henrique de Jesus Batista (Email: mikael.batista@ufra.edu.br, CPF: 036.839.551-04) assinou este documento por meio do IP 170.246.99.97 localizado em Araguaína - Tocantins - Brazil
- 12 dez 2024 16:03:06  Carla Roberta Tim (Email: carla.tim@ub.edu.br, CPF: 336.862.158-02) visualizou este documento por meio do IP 138.36.194.128 localizado em Fernandópolis - São Paulo - Brazil
- 12 dez 2024 16:03:34  Carla Roberta Tim (Email: carla.tim@ub.edu.br, CPF: 336.862.158-02) assinou este documento por meio do IP 138.36.194.128 localizado em Fernandópolis - São Paulo - Brazil
- 13 dez 2024 10:48:34  Laurita dos Santos (Email: lauritas9@gmail.com, CPF: 805.873.480-20) visualizou este documento por meio do IP 187.180.202.20 localizado em Taubaté - São Paulo - Brazil
- 13 dez 2024 10:48:44  Laurita dos Santos (Email: lauritas9@gmail.com, CPF: 805.873.480-20) assinou este documento por meio do IP 187.180.202.20 localizado em Taubaté - São Paulo - Brazil





TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

INTITULADO: LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA) APLICADA À AVALIAÇÃO DE ESTRESSE.

Houve alteração do título da dissertação da defesa de tese?

Sim

Não

Autores

Discente: Claudia Maria Sousa de Carvalho

assinatura do membro

Orientador(a): Marcello Magri Amaral

assinatura do membro



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Título do documento 2/10

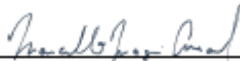
Coorientador: Laurita dos Santos

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Laurita dos Santos', is written over a horizontal line.

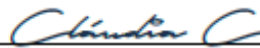
assinatura do membro

São Paulo, 12 de dezembro de 2024.

Página de assinaturas



Marcello Amaral
304.653.788-38
Signatário



Cláudia Carvalho
397.829.303-00
Signatário



Laurita Santos
805.873.480-20
Signatário

HISTÓRICO

- | | | |
|-------------------------|---|---|
| 12 dez 2024
16:05:52 |  | Marcello Magri Amaral criou este documento. (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38) |
| 12 dez 2024
16:05:53 |  | Marcello Magri Amaral (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38) visualizou este documento por meio do IP 205.164.164.195 localizado em Vargem Grande Paulista - São Paulo - Brazil |
| 12 dez 2024
16:05:56 |  | Marcello Magri Amaral (Email: marcellomagri@gmail.com, CPF: 304.653.788-38) assinou este documento por meio do IP 205.164.164.195 localizado em Vargem Grande Paulista - São Paulo - Brazil |
| 12 dez 2024
18:01:33 |  | Laurita dos Santos (Email: lauritas9@gmail.com, CPF: 805.873.480-20) visualizou este documento por meio do IP 187.180.202.20 localizado em Taubaté - São Paulo - Brazil |
| 12 dez 2024
18:01:39 |  | Laurita dos Santos (Email: lauritas9@gmail.com, CPF: 805.873.480-20) assinou este documento por meio do IP 187.180.202.20 localizado em Taubaté - São Paulo - Brazil |
| 12 dez 2024
16:44:41 |  | Cláudia Maria Sousa de Carvalho (Email: claudia.carvalho@uninovafapi.edu.br, CPF: 397.829.303-00) visualizou este documento por meio do IP 200.222.83.178 localizado em Teresina - Piauí - Brazil |
| 12 dez 2024
16:56:51 |  | Cláudia Maria Sousa de Carvalho (Email: claudia.carvalho@uninovafapi.edu.br, CPF: 397.829.303-00) assinou este documento por meio do IP 200.222.83.178 localizado em Teresina - Piauí - Brazil |



AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus por me permitir, mesmo diante de alguns percalços na vida, alcançar mais uma etapa na minha formação acadêmica e profissional.

Aos Professores Dr. Marcello Magri e Dra. Laurita dos Santos, pelo indispensável apoio, motivação, disponibilidade, dedicação e compromisso ao conduzir as etapas de orientação desta pesquisa.

À minha filha, Duda, por todo apoio e compreensão nos momentos em que precisei substituir as horas de folga e lazer dedicadas a ela pela construção deste estudo.

Também, à minha amiga, Prof^a Dr^a Fernanda Cláudia, pela postura empática e motivadora dirigida a mim, sempre no sentido de alcançar sucesso na conclusão do curso de doutorado.

Agradeço, também, aos demais membros da banca examinadora, Prof^o Dr. Marcus Paulo Raele, Prof^o Dr Mikael Henrique de Jesus Batista, Prof^a Dr^a Carla Tim, Prof^o Dr. Thiago da Silva Cordeiro e Prof^a Dr^a Priscila Favero pelas valiosas contribuições.

Ao Prof^o Dr. Airton Abrahão Martin (*In memoriam*) pelo incentivo e acolhimento proporcionado ao ingresso no curso de doutorado.

A todos os colaboradores da Universidade Brasil, campos Itaquera, que de fato assumem o compromisso pelo bom funcionamento do curso de doutorado.

E, finalmente, agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio e incentivo à pesquisa.

RESUMO

Apesar de fisiologicamente normal, exposições exageradas e contínuas ao estresse, que superam a capacidade de tolerância do indivíduo, podem implicar em prejuízos à saúde. O objetivo deste estudo foi aplicar a técnica óptica *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA) para avaliação do estresse. Trata-se de um estudo transversal, descritivo, experimental, de abordagem quantitativa, desenvolvido com alunos do nível de graduação e pós-graduação, em uma Instituição de Ensino Superior, em São Paulo (SP). A amostra foi constituída por 27 (vinte e sete) participantes, distribuídos aleatoriamente. Foram critérios de inclusão: alunos da graduação e pós-graduação, de ambos os sexos, com idade de 18 anos ou mais, regularmente matriculados. Foram excluídos aqueles que se autodeclararam com complicações cardiovasculares ou em uso de medicação que alterasse o funcionamento cardiovascular, com suspeita ou confirmação de gravidez, limitações físicas e mulheres em período menstrual. A coleta de dados ocorreu nos meses de junho e agosto de 2021 e adotadas todas as medidas de proteção em respeito à pandemia pelo *coronavírus*. Os participantes foram submetidos à aquisição de sinais cardíacos, para análise da variabilidade da frequência cardíaca, obtidos por meio do eletrocardiograma e de frequencímetro Polar V800, durante 15 minutos. Simultaneamente, foi desenvolvida a aplicação do LASCA para obtenção de imagens utilizando o equipamento *MoorFLPI (Full-Field Laser Perfusion Imager)*. Em seguida, os participantes foram submetidos ao teste de esforço físico utilizando uma esteira ergométrica elétrica, durante 15 minutos, seguindo o protocolo de Bruce. Após repouso por 5 minutos, novamente foram submetidos à coleta dos sinais cardíacos e imagens LASCA, seguindo os mesmos protocolos da fase inicial. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Brasil, sob Parecer nº 4.724.843. Verificou-se resultados equivalentes quanto às medidas da VFC quando comparada a técnica LASCA e os métodos convencionais, possibilitando a captura de sinais de alterações fisiológicas presentes no estado de estresse do indivíduo. Desse modo, os resultados apontam para a viabilidade da técnica LASCA obter imagens compatíveis com o padrão de pulsação de frequência cardíaca a partir do estresse gerado em situações de esforço físico.

Palavras-chave: *Laser Speckle Contrast Analysis*, LASCA, Monitoramento de Estresse, Variabilidade da Frequência Cardíaca, Estresse, Estresse Físico.

ABSTRACT

Despite being physiologically normal, exaggerated and continuous exposure to stress, which exceeds the individual's tolerance capacity, can result in harm to health. The objective of this study was to apply the optical technique Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) to assess stress. This is a cross-sectional, descriptive, experimental study, with a quantitative approach, developed with undergraduate and postgraduate students, at a Higher Education Institution, in São Paulo (SP). The sample consisted of 27 (twenty-seven) participants, randomly distributed. The inclusion criteria were: undergraduate and postgraduate students, of both sexes, aged 18 or over, regularly enrolled. Those who self-reported having cardiovascular complications or using medication that altered cardiovascular functioning, suspected or confirmed pregnancy, physical limitations and women in their menstrual period were excluded. Data collection took place in June and August 2021 and all protective measures were adopted in relation to the coronavirus pandemic. Participants underwent cardiac signal acquisition to analyze heart rate variability, obtained using an electrocardiogram and a Polar V800 heart rate monitor, for 15 minutes. Simultaneously, the LASCA application was developed to obtain images using the MoorFLPI (Full-Field Laser Perfusion Imager) equipment. Next, participants underwent a physical effort test using an electric treadmill for 15 minutes, following the Bruce protocol. After resting for 5 minutes, cardiac signals and LASCA images were collected again, following the same protocols as in the initial phase. The project was approved by the Ethics and Research Committee of Universidade Brasil, under Opinion No. 4.724.843. Equivalent results were found regarding HRV measurements when comparing the LASCA technique and conventional methods, enabling the capture of signs of physiological changes present in the individual's state of stress. Thus, the results point to the feasibility of the LASCA technique to obtain images compatible with the heart rate pulsation pattern from the stress generated in situations of physical effort.

Keywords: Laser Speckle Contrast Analysis, LASCA, Stress monitoring, Heart Rate Variability, Stress, Physical Stress.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

O presente estudo teve como objetivo aplicar a técnica óptica *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA) para avaliação do estresse. O estresse representa foco para muitas pesquisas por estar no topo dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares e entre as primeiras causas de óbito na população brasileira. Diante desse contexto, as pesquisas avançam no sentido de descobrir recursos com maior precisão, baixo custo e efetividade para a identificação precoce das alterações fisiológicas que contribuam para minimizar os fatores de riscos para o desenvolvimento de complicações, sequelas graves e até óbito. Dentre estas tecnologias, a técnica LASCA consiste em uma técnica óptica, não invasiva, capaz de promover o monitoramento da microcirculação periférica em tempo real por meio de imagens. Muitos estudos tem aplicado a técnica LASCA como auxílio no diagnóstico de problemas relacionados à microcirculação periférica para medir a perfusão sanguínea em tecidos cerebrais, córtex renal, fígado e pele. Neste estudo, esta técnica foi aplicada para avaliar níveis de estresse após esforço induzido, possibilitando a obtenção de sinais fisiológicos para a determinação da variabilidade da frequência cardíaca, comparando com os meios convencionais de obtenção de sinais cardíacos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (a) Controle da secreção do cortisol. (b) Ritmo circadiano da secreção de cortisol.....	25
Figura 2 - Eletrocardiograma normal.....	30
Figura 3 - Representação de índice triangular de intervalos RR.....	33
Figura 4 - Representação do <i>plot</i> de Poincaré, extraído de um trecho da série de intervalos RR, de um elemento representativo.....	36
Figura 5 - Uma configuração LASCA típica com laser, difusor, câmera e softwares de processamento.....	38
Figura 6 - Padrão típico de manchas de laser.....	39
Figura 7: Representação esquemática das etapas de coleta da saliva.....	46
Figura 8: Representação esquemática da sequência de procedimentos da etapa...48	
Figura 9 – Posicionamento dos eletrodos.....	49
Figura 10: Representação esquemática da obtenção dos sinais cardíacos e aplicação da técnica LASCA na etapa 1.....	50
Figura 11: Representação do protocolo de Bruce aplicado ao participante na etapa 2.....	52
Figura 12 - Interface inicial da ferramenta computacional <i>T-RR Filter</i>	54
Figura 13 - Ferramenta computacional <i>T-RR Filter</i> após filtragem de uma série temporal.....	54
Figura 14 - Demonstração de resultado da análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca, de um participante do estudo após processamento com o uso do <i>software Kubios</i>	56
Figura 15 – Análise do Cortisol Salivar.....	63
Figura 16 - Algoritmo de análise dos vídeos <i>Laser Speckle Contrast Analysis</i> (LASCA) para medição da VFC.....	73
Figura 17 - Representação do padrão de pulsação obtido a partir do vídeo gerado na análise de área selecionada para aplicação do <i>Laser Speckle Contrast Analysis</i> (LASCA).....	74
Figura 18 - Histograma comparativo da variabilidade da frequência cardíaca obtida pelo eletrocardiograma e técnica LASCA.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Índices estatísticos, no domínio do tempo, da variabilidade da frequência cardíaca.....	32
Tabela 2- Caracterização dos participantes do estudo.....	58
Tabela 3- Hábitos, estilo de vida e condições de saúde dos participantes do estudo.....	59
Tabela 4 - Variáveis antropométricas e sinais clínicos em repouso e pós-atividade dos participantes.....	60
Tabela 5 - Análise da média, desvio-padrão e erro-padrão das amostras de cortisol dos participantes.....	63
Tabela 6 - Média e desvio padrão dos intervalos RR e VFC a partir de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800.....	65
Tabela 7- Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos índices lineares calculados no domínio do tempo de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800.....	66
Tabela 8- Variáveis de domínio de frequência da variabilidade da frequência cardíaca.....	67
Tabela 9: Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos índices lineares calculados no domínio de frequência de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800.....	68
Tabela 10- Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos parâmetros não lineares de análise das séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800.....	69
Tabela 11-Medidas lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca e aplicação da técnica do <i>Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)</i>	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ApEn	Entropia Aproximada
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofinas
DFA	Análise Das Flutuações Depuradas de Tendências
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência Cardíaca
HbT	Hemoglobina Tecidual Total
HF	<i>High Frequency</i> (alta frequência)
HPA	Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal
IDF	<i>Incident Dark Field</i> (iluminação incidente em campo escuro)
IMC	índice de massa corporal
LASCA	<i>Laser Speckle Contrast Analysis</i>
LF	<i>Low Frequency</i> (baixa frequência)
min	Minuto
mmHg	Milímetros de Mercúrio
ms	milissegundo(s)
NIRS	<i>Near-Infrared Spectroscopy</i> (espectroscopia no infravermelho próximo)
OPS	<i>Orthogonal Polarization Spectral</i> (polarização ortogonal)
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PAD	Pressão Arterial Diastólica
pNN50	Porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms
rMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes
SampEn	Entropia Amostral
SatO ₂	Saturação de Oxigênio
SDANN	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais
SDF	<i>Sidestream Dark Field</i> (escuro de fluxo lateral)
SDNN	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais

SDNNi	Desvio padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
STD	Desvio Padrão
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecidos
ULF	<i>Ultra Low Frequency</i> (ultra baixa frequência)
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF	<i>Very Low Frequency</i> (muito baixa frequência)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	20
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 OBJETIVO GERAL.....	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3 REFERENCIAL TEORICO.....	24
3.1 A FISILOGIA DO ESTRESSE	24
3.2 A MICROCIRCULAÇÃO PERIFÉRICA E OS MÉTODOS DE AVALIAÇÃO.....	27
3.3 VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	30
3.4 MÉTODOS DE ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	32
3.4.1 Métodos lineares de análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca..	32
3.4.2 Métodos não lineares de análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	35
3.5 <i>LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA)</i>	38
3.5.1 Aplicações Clínicas do <i>Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)</i>.....	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1 TIPO DO ESTUDO.....	44
4.2 LOCAL DO ESTUDO.....	44
4.3 ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS.....	45
4.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA DO ESTUDO.....	45
4.5 OBTENÇÃO DE DADOS: INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS.....	46
4.6 ANÁLISE DOS DADOS	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	59
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	59
5.2 ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO CORTISOL	63
5.3 ANÁLISE DAS MEDIDAS DE VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	65

5.2.1 Métodos lineares.....	66
5.2.2 Métodos não-lineares.....	70
5.4 APLICAÇÃO DA TÉCNICA <i>LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS</i> (<i>LASCA</i>	73
5.5 CORRELAÇÃO ENTRE APLICAÇÃO DA TÉCNICA DO <i>LASER SPECKLE</i> <i>CONTRAST ANALYSIS (LASCA)</i> E OS MÉTODOS CONVENCIONAIS DE ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	79
6 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
APÊNDICE A -Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	91
APÊNDICE B - Anamnese	93
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP.....	95

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA DE PESQUISA

O estresse consiste em uma resposta neurofisiológica, resultante de um estado de desequilíbrio do organismo em consequência à contínua exposição do indivíduo às situações percebidas como perigo ou ameaça, podendo tornar-se uma condição patológica e fator de risco para variados tipos de adoecimento físico e mental (Santos; Calles, 2016; Koch; Biazi; Benedetto, 2015).

O estado de estresse é fisiologicamente normal em situações compatíveis com a manutenção da funcionalidade humana. Contudo, em condições de exposição exagerada e contínua ao estresse, nas quais as exigências são maiores que a capacidade e o nível de tolerância do indivíduo, verificam-se prejuízos que influenciam diretamente na qualidade de vida das pessoas (Florentino *et al.*, 2015).

A definição do estresse tem proporcionado amplo debate quando se busca compreender suas implicações, pois, envolve múltiplas dimensões na vida do indivíduo, desde a dimensão fisiologia às psicológicas e sociais, estando diretamente associado às exigências de adaptação e às mudanças (Boff; Oliveira, 2021)

Diante de situações de estresse, as quais exigem esforço físico e/ou psíquico para adaptação, o cérebro é estimulado a liberar substâncias que desencadeiam respostas no organismo. Essas respostas orgânicas são geradas a partir de estímulos que chegam ao sistema nervoso autônomo até o nodo sinusal. Assim, dependendo do estado em que a pessoa se encontra, tais estímulos podem produzir respostas no funcionamento dos órgãos de diferentes graus de intensidade (Silverthorn, 2017).

A intensidade das respostas fisiológicas, comportamentais, cognitivas e afetivas em decorrência do estímulo ao sistema nervoso autônomo, está diretamente associada ao nível de estresse e ansiedade desencadeada no indivíduo diante de um evento estressor. O conjunto desses mecanismos fisiológicos em consequência do estresse pode causar estimulação do sistema nervoso simpático, produzindo como resposta o aumento dos valores de pressão arterial, redução da perfusão miocárdica, aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio e da instabilidade elétrica cardíaca, desencadeando arritmias cardíacas e infarto agudo do miocárdio em indivíduos suscetíveis (Vanderlei, *et al.* 2009; Santos; Calles, 2016).

O estresse pode desencadear doenças ligadas ao sistema cardiovascular e respiratório, como, por exemplo, a hipertensão arterial, palpitações, dor no peito, respiração ansiosa, acompanhadas de pele fria e aumento da sudorese (Silva; Coltre, 2009).

Vários estudos têm se dedicado a analisar a vulnerabilidade ao estresse em grupos populacionais específicos. Corrêa, Souza e Baptista (2013) revelaram fortes indicadores de vulnerabilidade ao estresse entre profissionais de Enfermagem de um hospital privado em São Paulo; Miranda (2016) revelou níveis de estresse entre pacientes internados com cardiopatias; Santos e Calles (2016) estudaram os fatores desencadeadores do estresse ocupacional em docentes universitários.

O estresse representa um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares, sendo estas classificadas entre as primeiras causas de óbito na população brasileira (Santos *et al.*, 2018). A exposição repetida aos fatores desencadeadores de estresse produz respostas mais acentuadas e de maior gravidade, incluindo sintomas físicos e psicológicos, elevando a probabilidade do surgimento de doenças (Gomes, *et al.*, 2016). Assim, o esforço físico exaustivo pode ser um desses fatores produtores de estresse e de suas consequências. As alterações orgânicas resultantes desta condição comprometem o funcionamento do sistema cardiovascular e podem ser detectadas precocemente evitando riscos mais graves à saúde.

A variabilidade da frequência cardíaca, bem como a perfusão periférica, representa fenômeno de compensação diante das desordens induzidas por algum estímulo gerador de estresse físico ou mental (Vanderlei *et al.*, 2009). Diferentes tecnologias têm sido exploradas na busca pela identificação precoce de sinais biológicos que contribuam para a identificação de alterações fisiológicas decorrentes desses estímulos. A identificação precoce dessas alterações fisiológicas tem o potencial de reduzir fatores de risco que podem levar ao desenvolvimento de complicações, sequelas graves e óbito (Dunn, 2012; Castro, 2021). Dentre estas tecnologias, a técnica *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA), uma técnica óptica não invasiva, obtendo imagens em tempo real da microcirculação periférica (Khali, 2017), representa uma dessas tecnologias que tem crescido no campo das pesquisas como uma ferramenta inovadora de baixo custo, fácil aplicação, que não precisa contato com o paciente (área examinada) e com resultado imediato.

Esta técnica vem sendo empregada, com resultados promissores, em diversos estudos. Pesquisa desenvolvida por Kazmi *et al.*, (2015) analisou a caracterização do fluxo cortical para monitoramento funcional da microcirculação por meio da aplicação da técnica LASCA. Outro estudo revelou o impacto do envelhecimento na velocidade das células sanguíneas móveis, a partir da mesma técnica (Khali, 2017). Mais recentemente, Pion *et al.*, (2021), revelou que a aplicação de métodos baseados em LASCA para investigar a função microvascular da pele, mostrou elevada aplicabilidade.

Assim, esta técnica permite a identificação de alterações relevantes na microcirculação, que traduzem as alterações orgânicas presentes em situações que ameaçam o estado de homeostase do organismo, e que podem contribuir para a avaliação do estresse e diagnóstico precoce do risco de alterações cardiovasculares.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve o objetivo aplicar da técnica óptica *Laser Speckle Contrast Analysis* – LASCA para avaliação do estresse.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Conhecer o perfil dos participantes do estudo;

Avaliar a variabilidade da frequência cardíaca a partir dos sinais cardíacos obtidos por meio do eletrocardiograma, frequencímetro de pulso e da técnica LASCA em indivíduos adultos em situação de estresse provocado por esforço físico;

Correlacionar as medidas de variabilidade da frequência cardíaca, a partir dos sinais cardíacos obtidos, em indivíduos adultos sob influência do estresse por esforço físico;

Correlacionar o estado de estresse em indivíduos adultos submetidos a esforço físico com as taxas de cortisol antes e após o esforço físico e a técnica LASCA.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Este capítulo apresenta uma revisão dos temas relacionados aos objetos da presente tese, permitindo maior aprofundamento teórico em cada aspecto, contribuir para a análise dos resultados do presente trabalho. Deste modo, serão abordados os seguintes temas: a fisiologia do estresse, a microcirculação periférica e os métodos de avaliação, a variabilidade da frequência cardíaca e métodos de análise, a técnica LASCA e aplicações clínicas.

3.1 A FISILOGIA DO ESTRESSE

Estresse é um termo bastante conhecido e discutido no mundo moderno. Hans Selye, considerado o pioneiro no assunto, revelou que o estresse se desenvolve no indivíduo quando este se encontra diante de situações que exige sua adaptação. Quando o organismo não responde com essa adaptação ou exige muito para a superação da situação estressora, ocorre uma reação no organismo, denominada por Selye, de Síndrome da Adaptação Geral (Jackson, 2014).

O estresse é, portanto, um estado resultante de um estímulo, que pode ser intrínseco ou extrínseco, percebido como algo que ameaça o equilíbrio físico ou psíquico de um indivíduo. Sendo assim, existe um caráter subjetivo do estresse de modo que, nas ocasiões em que o sujeito se percebe com recursos adequados para enfrentar as situações geradores de estresse, este é minimizado ou sequer é entendido como tal. Por outro lado, diante das situações, nas quais o sujeito não dispõe de recursos suficientes para enfrentar o agente estressor, um estado de estresse poderá ser desencadeado (Lupien *et al.*, 2007; Quesada, 2013).

Assim, quando o estado de estresse funciona como reação fisiológica e promotora de motivação para melhoria no desempenho do indivíduo e superação de desafios, o estresse é considerado normal no organismo e recebe a denominação de *eustress*. Em contrapartida, fatores que demandam maior esforço físico e/ou psíquico para a manutenção do equilíbrio, levando ao aumento exagerado do estresse e podendo ocasionar distúrbios para o indivíduo, tem-se o estresse patológico definido como *distress* (Silva, 2005).

A evolução do estresse ocorre em três fases: reação de alarme, fase de resistência e fase de exaustão. Cada uma dessas fases envolve respostas fisiológicas

e comportamentais particulares e, caso as medidas de controle não sejam acionadas, poderá levar a deterioração física e psicológica. Na reação de alarme, o organismo responde à situação estressora, mobilizando-se para o enfrentamento. Nesse momento, o sistema nervoso autônomo simpático é estimulado e desencadeia a liberação de neurotransmissores em vários órgãos-alvo, além da liberação de hormônios catecolaminérgicos, adrenalina e noradrenalina, pelas glândulas adrenais, aumentando a ativação neural (Sousa; Silva; Galvão-Coelho, 2015; Guyton; Hall, 2017).

Assim, o aumento da atividade simpática gerada em decorrência de um agente estressor aumenta a capacidade corporal de realizar atividades musculares vigorosas, como por exemplo: aumento do fluxo sanguíneo, elevação da pressão arterial, aumento do metabolismo basal e da força muscular, entre outros (Guyton; Hall, 2017).

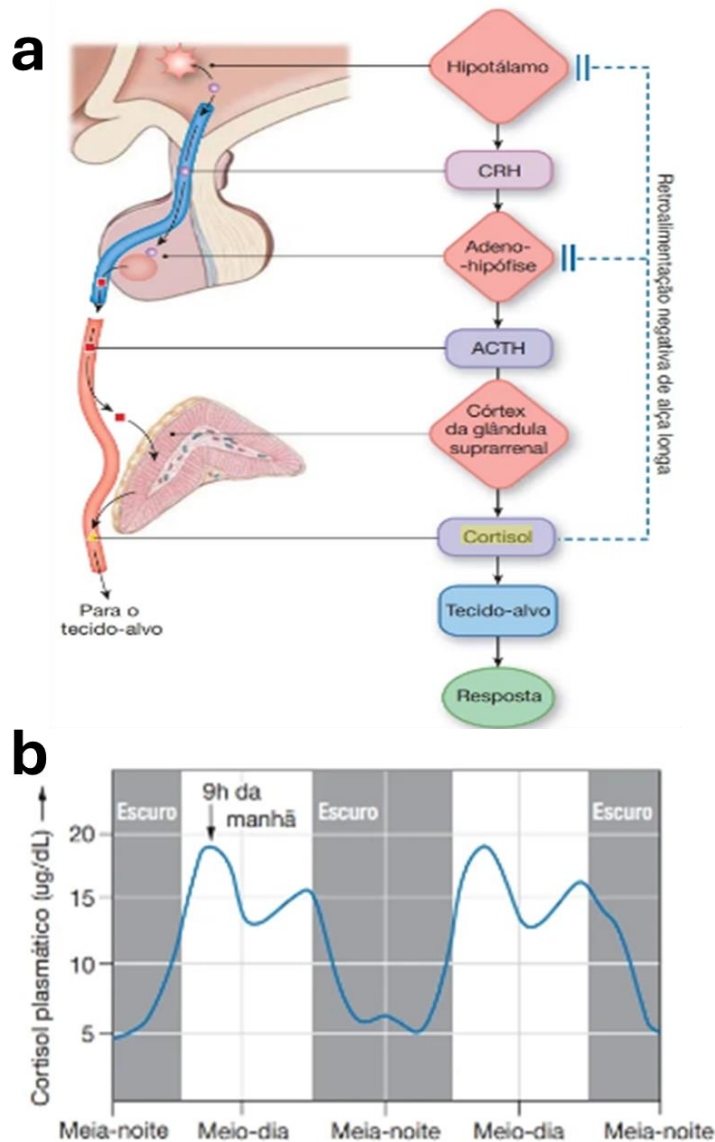
Na fase de resistência, o organismo desenvolve um fenômeno adaptativo, mantendo os mecanismos de enfrentamento do estímulo, o que torna ampliada a capacidade de desempenho do indivíduo. Para manter esse estado de estabilidade ou de homeostase, as reações fisiológicas e comportamentais são mediadas, principalmente, pelo hormônio cortisol. Nas condições em que o agente estressor não é anulado pelo organismo, este segue com muitas funções orgânicas afetadas, caracterizando a fase de exaustão (Sousa; Silva; Galvão-Coelho, 2015).

O cortisol é secretado pelo córtex da glândula suprarrenal e o seu aumento está relacionado com estresse (Figura 1a). A secreção de cortisol ocorre a partir de reações no eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (HPA), esta inicia com o hormônio liberador de corticotrofinas (CRH) que estimula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), responsável por estimular o córtex da glândula suprarrenal a liberar o cortisol, principal glicocorticoide secretado pelo córtex das glândulas suprarrenais, localizadas na região acima dos rins (Silverthorn, 2017).

A secreção de cortisol é contínua e influenciada pelo ritmo circadiano e pelo estresse. O ritmo circadiano corresponde ao ritmo biológico diário dos seres humanos. Alguns hormônios apresentam concentrações sanguíneas que flutuam de modo previsível seguindo o ritmo circadiano. Entre estes, o cortisol, o hormônio do crescimento e os hormônios sexuais constituem exemplos mais comuns. Em virtude disso, algumas atividades orgânicas respondem à influência circadiana como, por exemplo, a pressão arterial, a temperatura corporal e os processos metabólicos.

Assim, como mostra a figura 1b, o pico da secreção do cortisol, geralmente, ocorre pela manhã e diminui durante a noite (Silverthorn, 2017).

Figura 1 – (a) Controle da secreção do cortisol (b) Ritmo circadiano da secreção de cortisol



Fonte: **Adaptado de:** (a) Silverthorn (2017, p. 214), (b) Silverthorn (2017, p. 18)

Nos últimos anos, estudos envolvendo biomarcadores salivares passaram a ser utilizados para avaliar a atividade do sistema nervoso autônomo em resposta ao estresse. Desse modo, o monitoramento do estresse crônico pode ser feito através da análise da secreção salivar do hormônio cortisol por ser uma fonte simples e não invasiva; além disso, não requer pessoal treinado para a coleta e manuseio do

material. O nível elevado de cortisol ocasiona diversos distúrbios no organismo, entre eles: hipertensão arterial, aumento da suscetibilidade à infecção, diminuição da resistência ao estresse e oscilações de humor (Silverthorn, 2017; Tortora, Derrickson, 2019).

Além das alterações nos níveis de cortisol, os efeitos do estresse afetam a frequência cardíaca (FC) e a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC). O estresse em sua condição aguda ou crônica eleva a FC em razão da ativação simpática e diminui a VFC, indicando menor adaptabilidade do sistema nervoso autônomo. A junção dos dados do cortisol com a medição de FC e VFC, obtidos por meio do eletrocardiograma (ECG) e do cardiofrequencímetro polar, concede uma visão abrangente dos efeitos do estresse (Silverthorn, 2017; Tortora; Derrickson, 2019).

A técnica LASCA possui o potencial de permitir essa análise de forma não invasiva e sem contato pois é uma técnica de imagem que monitora a microcirculação periférica, permitindo correlacionar as alterações fisiológicas com a resposta cardiovascular ao estresse, ampliando a compreensão dos seus impactos sobre a dinâmica corporal.

3.2A MICROCIRCULAÇÃO PERIFÉRICA E OS MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

A microcirculação é definida por uma rede formada por vasos com diâmetro inferior a 100 μm , denominados arteríolas, metarteríolas, capilares e vênulas que constituem um sistema funcional responsável pela distribuição de fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, de oxigênio e nutrientes para células e tecidos do corpo. As arteríolas são responsáveis por promover o controle do fluxo sanguíneo local de acordo com as necessidades metabólicas dos tecidos. Os capilares, originários das arteríolas realizam as trocas de oxigênio e nutrientes; contudo, no estado de repouso, apenas 20 a 30 % participam da perfusão tecidual e, somente em condições de alterações fisiológicas estes são estimulados para tentar garantir a homeostase. As vênulas, por sua vez, participam da resposta imunológica e garantem o armazenamento e a mobilização do sangue (Guyton; Hall, 2017).

Além da função de fornecer oxigênio e outros elementos para o organismo, a microcirculação exerce a função no controlar a resistência vascular, a coagulação do sangue, os processos inflamatórios e imunológicos. Sendo assim, graus variados de alterações microcirculatórias podem sinalizar disfunções orgânicas e risco de

complicações (Salgado; Favory; Backer, 2010), o que torna relevante a aplicação de métodos eficazes de avaliação da microcirculação periférica na prática clínica, uma vez que os distúrbios microcirculatorios estão implicados no prognóstico de complicações graves com elevada taxa de mortalidade, como o choque séptico (Menezes, *et al.*, 2018).

Várias são as técnicas utilizadas para avaliação da microcirculação, entre as técnicas validadas podem ser citadas a avaliação clínica através do índice de perfusão periférica; a fluxometria por laser Doppler; a videomicroscopia desenvolvida através de imagem espectral por polarização ortogonal - OPS, sigla do inglês *Orthogonal Polarization Spectral*; análise em campo escuro de fluxo lateral - SDF (*Sidestream Dark Field*); ou iluminação incidente em campo escuro - IDF – (*Incident Dark Field Illumination*) e espectroscopia no infravermelho próximo NIRS (*Near-Infrared Spectroscopy*) (Salgado; Favory; Backer, *et al.*, 2010; Aykut., *et al.*, 2015).

O índice de perfusão periférica pode ser medido por meio de um oxímetro de pulso PPG. O princípio do oxímetro de pulso é o da espectrofotometria e consiste na detecção e quantificação das características únicas de absorção de luz dos componentes de uma solução. A oximetria de pulso é um procedimento simples, não invasivo, de resposta rápida, realizado por meio da instalação do aparelho na polpa digital do paciente, geralmente na região de indicador, que oferece a avaliação do nível de saturação de oxigênio com o objetivo de detectar precocemente quadros de hipoxemia e monitorar a perfusão e circulação, contribuindo para reduzir a morbidade e mortalidade de pacientes críticos, além de evitar o desconforto, custo e risco de punções arteriais para a realização do exame de gasometria (Wilson., *et al.*, 2010).

A Fluxometria por laser Doppler realiza a análise do fluxo por meio do laser Doppler, contudo limita-se à avaliação da integridade funcional da microcirculação e não faz distinção entre o fluxo sanguíneo das arteríolas, dos capilares e das vênulas.

A videomicroscopia consiste na avaliação da microcirculação de forma direta pela emissão de um feixe de luz verde polarizada. Esta, após absorvida, produz uma imagem representando as hemácias como corpos pretos. Esta técnica é indicada para aplicação em órgãos com fina camada epitelial, na qual podem-se observar capilares e vênulas de variados tamanhos, como a região sublingual. Existem duas técnicas para avaliação videomicroscópica da microcirculação: a técnica de imagem espectral por polarização ortogonal (OPS) e o sistema SDF, este considerado mais utilizada nos últimos anos (Aykut., *et al.*, 2015; Tafner., *et al.*, 2017).

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) utiliza os cromóforos da oxihemoglobina e desoxi-hemoglobina, para calcular a saturação de oxigênio (StO₂), a hemoglobina tecidual total (HbT) e o índice de hemoglobina tecidual absoluto (THI), sendo a HbT e o THI dois indicadores de volume sanguíneo na microcirculação. O uso desta técnica oferece algumas limitações. Por exemplo, a quantidade de tecido adiposo e a presença de edema na área avaliada podem interferir nas medidas; além disso, a NIRS não mede o fluxo sanguíneo diretamente, dificultando a interpretação da oxigenação tecidual por meio dos níveis absolutos de StO₂ (Biedrzycka; Lango, 2016).

O *Laser speckle contrast imaging (LSCI)* ou *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)*, é uma técnica que permite a visualização da perfusão sanguínea em tecidos biológicos, devido à presença na microcirculação, possibilitando a obtenção de um índice de fluxo sanguíneo. Ao iluminar uma superfície com um laser, a luz retroespalhada cria um padrão de interferência composto por áreas escuras e claras, conhecida como padrão *speckle*. A presença de fluxo sanguíneo causa uma variação do padrão de speckle nas regiões de fluxo, resultando em uma imagem com áreas iluminadas em diferentes intensidades. A imagem obtida revela, quando analisada, a velocidade do fluxo sanguíneo. Assim, obtém-se mapas bidimensionais da dinâmica espaço-temporal do fluxo sanguíneo, determinante para aplicações clínicas e experimentais (Ponticorvo; Dunn 2010; Ruaro, *et al.*, 2021; Perimed Instruments, 2024).

Estudo desenvolvido por Rousti, *et al.*, 2010, utilizou a técnica LASCA para avaliar o fluxo sanguíneo na pele de pacientes com doenças microvasculares, tais como a esclerose sistêmica. Entre as vantagens da técnica LASCA está o fato de possibilitar a avaliação contínua da perfusão da pele em grandes áreas, podendo combinar as vantagens das técnicas anteriores além de demonstrar excelente reprodutibilidade em indivíduos saudáveis.

Embora a avaliação da microcirculação seja feita por meio da análise do leito vascular apenas da área selecionada, esta área investigada passa a representar um parâmetro que reflete possíveis alterações em outras partes do corpo, sendo um indicativo das condições gerais da pessoa. Contudo, os novos métodos apontados como sendo de avaliação da microcirculação, ainda, limitam-se aos protocolos de pesquisa e dependem de mais aprofundamento científico para serem validados como método clínico.

3.3 VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA) é formado por grupos de neurônios localizados na medula e no tronco encefálico, constituindo os dois componentes distintos do SNA: o Sistema Nervoso Autônomo Simpático e o Sistema Nervoso Autônomo Parassimpático. O ramo simpático do SNA atua sobre o miocárdio, enquanto o parassimpático tem atuação sobre o nó sinoatrial, miocárdio atrial e o nó atrioventricular. Deste modo, o SNA exerce importante papel no funcionamento de várias glândulas, da musculatura lisa e do músculo cardíaco, além de controlar os batimentos cardíacos e regular o fluxo sanguíneo no organismo. Sendo assim, o SNA participa da regulação dos processos fisiológicos do organismo, sendo fundamental para a manutenção do estado de homeostase (Araujo; Laukkanen, 2019; Silva, 2018).

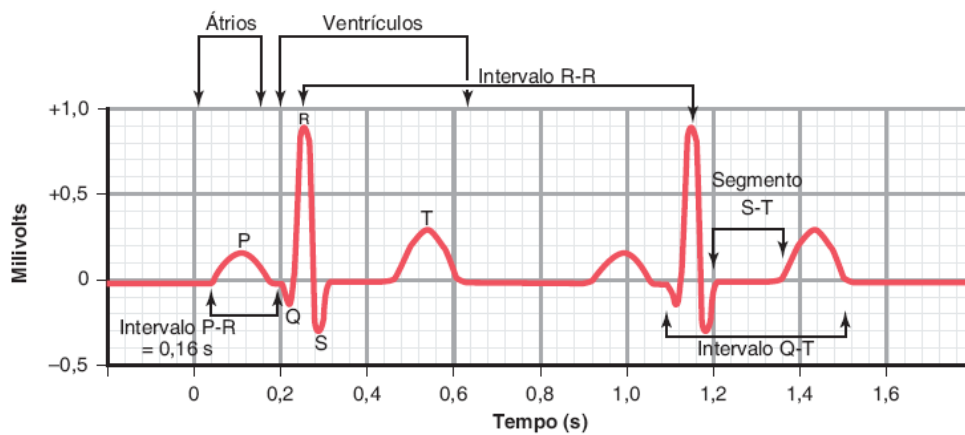
Atualmente, a literatura dispõe de diferentes testes para avaliar o funcionamento do SNA sobre vários órgãos. No sistema cardiovascular, por exemplo, é possível observar o comportamento da pressão arterial e da frequência cardíaca em resposta a variados estímulos, como a respiração, as mudanças posturais, a atividade física e o estresse (Santos *et al*, 2015; Cayres *et al*, 2015).

Durante um esforço físico, o sistema cardiovascular desenvolve mecanismos fisiológicos de ajustes nos níveis de oxigênio e nutrientes necessários para manter o metabolismo muscular. Nesse momento, o coração utiliza de recursos intrínsecos que, por meio da propagação de estímulos, garantem o funcionamento do músculo cardíaco. A regulação da frequência cardíaca é realizada pelo SNA através das ramificações nervosas simpáticas e parassimpáticas. Assim, em condições normais, o aumento da frequência cardíaca ocorre em virtude de maior atividade simpática e redução na atividade parassimpática; o contrário produz resposta inversa, ou seja, redução da frequência cardíaca (Cazelato; Rodrigues; Quitério, 2018).

Entre os métodos clínicos mais empregados para avaliação do sistema cardiovascular, o eletrocardiograma (ECG) se destaca, principalmente, por ser um exame de técnica não invasiva e fácil acesso nos serviços ambulatorial e hospitalar. O eletrocardiograma (Figura 2) representa o registro dos impulsos elétricos gerados pelo coração, resultando na contração do músculo cardíaco. Um ECG é formado por dois componentes: as ondas e os segmentos. As ondas são representadas pelo traçado voltado para cima ou para baixo a partir da linha de base; enquanto os segmentos são partes da linha de base entre duas ondas. Os intervalos são

combinações de ondas e segmentos. A onda P corresponde à despolarização atrial. O complexo QRS formado por três ondas seguidas, representa a onda progressiva da despolarização ventricular. Em seguida, a onda final corresponde a onda T e representa a etapa de repolarização dos ventrículos. A repolarização atrial não é representada por uma onda especial, mas está incorporada no complexo QRS (Hall; Guyton, 2017).

Figura 2: Eletrocardiograma normal



Fonte: Hall; Guyton, 2017

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) constitui um dos mais utilizados testes aplicados na avaliação do SNA em virtude das próprias características do método, como baixo custo e fácil aplicabilidade. A VFC, caracterizada pela oscilação dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (R-R), representa uma ferramenta eficiente na avaliação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) sobre o nódulo sinusal e, deste modo, identificar anormalidades e riscos de doenças cardiovasculares (Santos *et al*, 2015; Cayres *et al*, 2015).

A VFC corresponde à análise das oscilações periódicas e não-periódicas, normais e esperadas, entre batimentos cardíacos consecutivos, provenientes da interação entre as ramificações simpática e parassimpática do SNA. As flutuações representam a capacidade do coração em responder a estímulos fisiológicos ou ambientais, com o objetivo de manter a homeostase (Cygankiewicz; Zareba, 2013).

Sendo assim, elevada variabilidade da frequência cardíaca indica que o organismo desenvolveu boa adaptação fisiológica aos estímulos externos, caracterizando uma pessoa em estado saudável; por outro lado, a baixa variabilidade da frequência cardíaca representa predomínio da atividade simpática, sinalizando

indício de desequilíbrio na homeostase, estando associado ao surgimento ou agravamento de uma complicação cardíaca (Vanderlei *et al.*, 2009).

Atualmente, com o desenvolvimento de evidências científicas acerca da associação entre as doenças cardiovasculares e o sistema nervoso autônomo, tornou-se imperativa a aplicação de marcadores quantitativos de atividade autonômica. Entre esses marcadores a VFC destaca-se pela sua significativa credibilidade. A análise da VFC reflete o comportamento da frequência cardíaca em resposta a atuação do SNA em situações variadas às quais o organismo está exposto (Lopes *et al.*, 2013). Devido a isso, este método tem sido aplicado clinicamente como uma ferramenta importante no diagnóstico e tratamento de doenças cardiovasculares (Marães, 2010).

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A análise da VFC pode ser realizada a partir de índices obtidos por meio de métodos lineares e métodos não-lineares. Contudo, o comportamento não-linear tem predominância nos sistemas biológicos, em virtude da natureza dinâmica e complexa, dificilmente descrita adequadamente por métodos lineares (Bento; Fonseca-Pinto; Povia, 2017).

3.4.1 Métodos lineares de análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca

De acordo com Vanderlei, *et al.*, (2009), os métodos lineares podem ser executados em função de dois parâmetros: domínio de tempo, realizado por meio de índices estatísticos e geométricos, e domínio de frequência. A análise no domínio do tempo representa a variação da duração dos intervalos R-R resultantes da despolarização do nódulo sinusal. A partir disso, por meio dos métodos estatísticos ou geométricos (média, desvio padrão e índices derivados do histograma ou do mapa de coordenadas cartesianas dos intervalos RR), os índices de flutuações na duração dos ciclos cardíacos podem ser calculados. Os índices de VFC calculados por meio de métodos estatísticos podem ser divididos em duas categorias: índices baseados na medida dos intervalos RR individualmente (SDNN, SDANN e SDNN index) e índices baseados na comparação entre dois intervalos RR adjacentes (pNN50 e rMSSD).

Assim, no domínio do tempo, os índices estatísticos obtidos a partir da determinação de intervalos RR correspondentes, em qualquer ponto no tempo, são descritos na tabela 1.

Tabela 1- Índices estatísticos, no domínio do tempo, da variabilidade da frequência cardíaca

Índices estatísticos	Unidade de medida	Descrição	Equação
SDNN	ms (milisegundos)	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo.	$SDNN = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_i - \overline{RR})^2}$
SDANN	ms	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais, a cada 5 minutos, em um intervalo de tempo.	$SDANN = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (M_i - \overline{M})^2}$
SDNNi	ms	Desvio padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos.	$SDNNi = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_{i5min} - \overline{RR_{5min}})^2}$
rMSSD	ms	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo.	$rMSSD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_{i+1} - RR_i)^2}$
pNN50	% (percentual)	Porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms.	$pNN50 = \left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left[\frac{\text{count}(RR_{i+1} - RR_i > 50\text{ms})}{\text{total count}} \right] \right) \times 100$

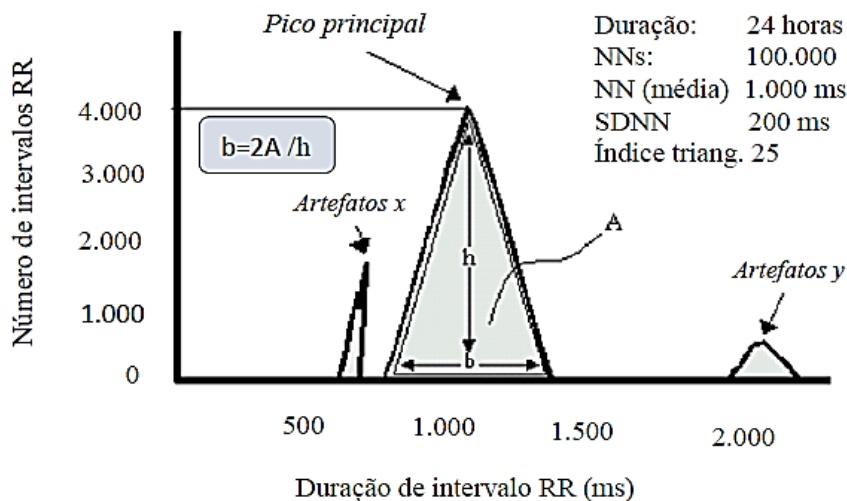
Fonte: Vanderlei, *et al.*, (2009).

É importante ressaltar que os índices SDNN, SDANN e SDNNi são obtidos a partir de registros de longa duração e representam as atividades simpática e parassimpática, contudo não permitem distinguir quando as alterações da VFC são em decorrência do aumento do tônus simpático ou da retirada do tônus vagal (Novais *et al.*, 2004). Por outro lado, os índices rMSSD e pNN50, encontrados a partir da análise de intervalos RR adjacentes, representam a atividade parassimpática (Rassi Jr, 2005; Bittencourt *et al.*, 2005).

Quanto aos métodos geométricos utilizados para processamento de intervalos RR no domínio do tempo, o índice triangular está entre os mais conhecidos (Vanderlei, *et al.*, 2009). O índice triangular é calculado a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais. No eixo horizontal (eixo x), mostra o comprimento dos intervalos RR e, no eixo vertical (eixo y), a frequência de cada um

dos intervalos. Ao unir os pontos dos eixos x e y irá se formar uma figura na forma de um triângulo, no qual a largura da base corresponde a variabilidade dos intervalos RR. A base do triângulo equivale ao índice triangular, este pode ser calculado dividindo-se a área (número total de intervalos RR utilizados para construir a figura) e a altura (número de intervalos RR com frequência modal) do triângulo (Rassi Jr, 2000; Acharya *et al.*, 2006). O índice resultante tem uma correlação próxima com o desvio padrão de todos os intervalos RR e não sofre a influência dos batimentos ectópicos e artefatos, pois estes aparecem fora do triângulo (Acharya *et al.*, 2006). A figura 3, a seguir, ilustra um exemplo de cálculo de índice triangular de intervalos RR.

Figura 3 - Representação de índice triangular de intervalos RR



Fonte: Rassi Jr., (2000).

A figura acima ilustra a representação de um histograma de intervalo RR contendo intervalos RR medidos corretamente, pico principal na figura, e dois picos secundários. O artefato x com intervalos RR mais curtos provavelmente devido a ondas T ou P apiculadas interpretadas como complexos QRS normais, e o artefato y, com intervalos RR aproximadamente duas vezes mais longos que os intervalos normais (artefatos y). A inclusão destes intervalos (x e y) na análise estatística resulta em alteração nos resultados; contudo, calculando o índice triangular a partir de regras geométricas simples, dividindo-se o nº total de intervalos RR (na figura, igual a 100.000) neste exemplo hipotético, e que corresponde à área do triângulo, pelo nº de intervalos RR (4.000), tal distorção é corrigida, pois assim os batimentos considerados artefatos não são inclusos no cálculo (Rassi Jr., 2000).

Quanto ao domínio da frequência, a VFC é analisada a partir de flutuações geradas no ECG, durante períodos curtos ou prolongados, gerando um fenômeno ondulatório, onde são definidas a frequência e amplitude. Esse fenômeno ondulatório complexo pode ser decomposto em ondas mais simples, por meio de algoritmos matemáticos, como a Transformada Rápida de Fourier ou pelo modelo autorregressivo paramétrico (Rassi Jr., 2005). Akselrod *et al.*, (1981), explicam que as medidas de frequência da VFC são obtidas a partir da análise espectral, na qual ocorre a decomposição da série RR, no domínio de tempo, em componentes de frequência.

Assim a VFC é definida a partir da decomposição de um tacograma em faixas de alta frequência (*High Frequency* - HF) com variação de 0,15 a 0,4 Hz, que corresponde a atividade parassimpática; baixa frequência (*Low Frequency* - LF), correspondendo à variação entre 0,04 a 0,15 Hz, relativa à atividade simpática e parassimpática, mas com predominância do simpático; muito baixa frequência (*Very Low Frequency* - VLF) (variação entre 0,003 e 0,04 Hz) e ultra baixa frequência (*Ultra Low Frequency* - ULF), com variação inferior a 0,003 Hz. As duas últimas medidas representam a influência autonômica simpática e parassimpática. A relação LF/HF representa as alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático do SNA, caracterizando a atuação do sistema nervoso simpático e parassimpático sobre o coração (Lopes, *et al.*, 2013; Sánchez-Hechavarría, 2019).

3.4.2 Métodos não lineares de análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca

A VFC, também, pode ser analisada por métodos não lineares, pois fenômenos não lineares estão relacionados ao comportamento da frequência cardíaca produzida no organismo. Variadas condições podem influenciar na VFC, como fatores como a idade, gênero, atividade física, estado de saúde, composição física, uso de substâncias, além de condições fisiológicas, psicoemocionais e ambientais podem alterar a VFC (Catai, *et al.*, 2019).

A análise não linear é considerada mais apropriada para analisar sinais elétricos não-estacionários, além de expressar mais adequadamente a natureza complexa da VFC, dificilmente identificada por métodos lineares (Hoshi, *et al.*, 2013). Estudos sugerem que esta abordagem, mais consistente para análise da variabilidade dos intervalos RR, seja superior aos parâmetros de VFC convencionais na estratificação de risco cardíaco (Cygankiewicz; Zareba, 2013; Pivatelli, *et al.*, 2012).

De acordo com Voss *et al.*, (2015), os métodos lineares e não-lineares de análise da VFC podem produzir informações para compreensão fisiológica acerca de determinada condição; por isso, devem ser realizados de maneira complementar. Isso se justifica pelo fato de que as técnicas não lineares, apoiadas na teoria do Caos, revelam elementos manifestando comportamentos extremamente sensíveis às condições iniciais, que dificilmente se repetem, porém são determinísticos (Hoshi, *et al.*, 2013).

Considerando que os parâmetros não-lineares estão interrelacionados à gênese da VFC humana, por descreverem sinais compatíveis com as condições biológicas, estes conceitos têm sido amplamente aplicados na interpretação, explicação e prevenção em situações fisiológicas. Contudo, ainda há a necessidade de mais aprofundamento científico para analisar as associações com parâmetros fisiológicos conhecidos e confirmar a utilidade e aplicabilidade destes métodos (Hoshi, *et al.*, 2013).

Dentre os parâmetros e técnicas não lineares utilizados para análise da VFC, podem ser citados: análise de flutuações depuradas de tendências (com seus componentes α_1 e α_2), análise de recorrência, dinâmica simbólica, entropia aproximada, entropia amostral, e *Plot de Poincaré* com seus componentes SD1 e SD2.

A entropia é usada para quantificar a regularidade das flutuações da série R-R_i; ou seja, R-R em um determinado período de tempo, traduzindo como as sequências R-R_i de uma série temporal são repetidas (Catai, *et al.*, 2019).

Segundo Catai *et al* (2019), outro método de análise da VFC é o Gráfico de *Poincaré* ou *plot* de Lorenz. O gráfico mostra uma série temporal do intervalo RR em um plano cartesiano. A figura 4, a seguir, apresenta um exemplo do *plot de Poincaré*, extraído de um trecho da série de intervalos RR, de um indivíduo representativo.

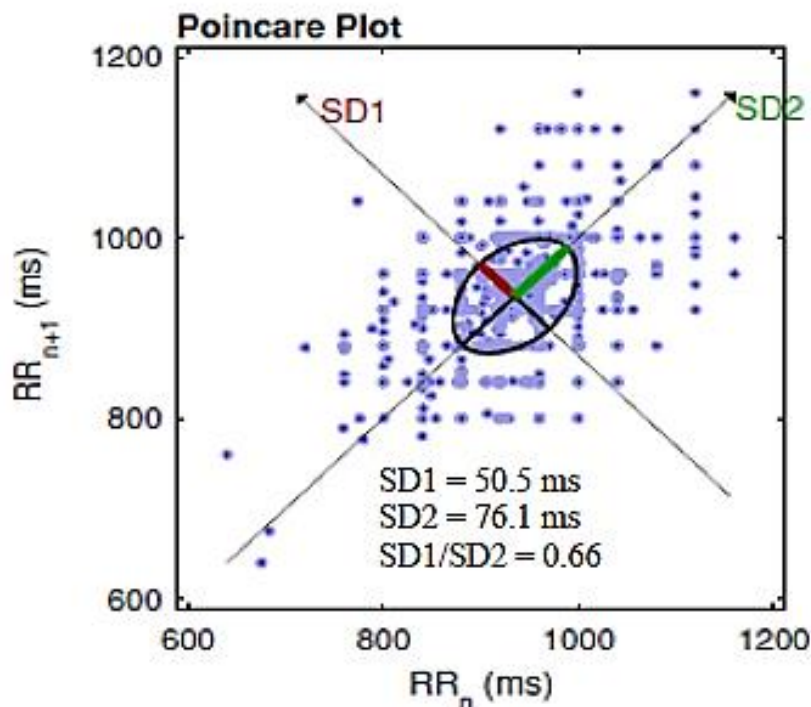
No gráfico (figura 4), cada ponto é definido a partir da correlação entre cada intervalo RR e o intervalo posterior. Sendo assim, cada ponto é representado nos eixos horizontal (eixo X) e vertical (eixo Y) pelo precedente R-R_i normal e pelo seguinte R-R_i, respectivamente. O gráfico de *Poincaré* oferece uma avaliação dinâmica da VFC, possibilitando análises quantitativa ou qualitativa de uma série temporal RR obtida de um ECG (Cicccone *et al.*, 2017).

A análise qualitativa (visual) do *plot de Poincaré* é feita a partir de figuras que resultam do atrator do *plot*, descritas por Tulppo *et al.*, (1998) como figuras em forma

de cometa, considerada uma característica de um *plot* normal, com aumento na dispersão dos intervalos RR batimento a batimento; também, em forma de torpedo, com discreta dispersão global batimento a batimento (SD1) e sem aumento da dispersão dos intervalos RR a longo prazo e, ainda, figura complexa ou parabólica, caracterizada por extremidades distintas separadas do corpo principal do *plot* com pelo menos três pontos incluídos em cada extremidade.

A análise quantitativa é feita por meio do ajuste da elipse formada pelos índices SD1, SD2 e SD1/SD2. O índice SD1 traduz a variabilidade de curto prazo da frequência cardíaca e é influenciado, principalmente, pelo ramo parassimpático do SNA, enquanto SD2 revela a variabilidade de longo prazo e reflete a atividade simpática do sistema nervoso. Sendo assim, SD1 reduzido indica baixa regulação parassimpática, enquanto que um SD2 aumentado indica aumento da variabilidade de longo prazo, relacionado a atuação simpática. Assim, um SD1/SD2 aumentado está relacionado a um bom indicador do funcionamento cardíaco saudável; enquanto valores baixos apontam para desequilíbrio no balanço simpático-vagal (Roy; Ghatak, 2013).

Figura 4 - Representação do *plot* de Poincaré, extraído de um trecho da série de intervalos RR, de um elemento representativo



Fonte: Autoria própria

O SD1 representa a dispersão dos pontos perpendiculares à linha de identidade e parece ser um índice de registro instantâneo da variabilidade batimento a batimento; o SD2 representa a dispersão dos pontos ao longo da linha de identidade e representa a VFC em registros de longa duração; a relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (Ciccione *et al.*, 2017)

Ainda segundo Ciccione *et al.*, (2017), a dispersão longitudinal, correspondente ao maior raio da elipse (SD2), representa a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) de longo prazo; enquanto, o menor raio da elipse (SD1), dispersão ortogonal, representa a VFC de curto prazo. A razão de dispersão é o valor de SD1/SD2, obtido a partir do *gráfico de Poincaré*. Assim, esse valor corresponde à razão de dispersão entre os intervalos de tempo adjacentes e global dos batimentos.

3.5 LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA)

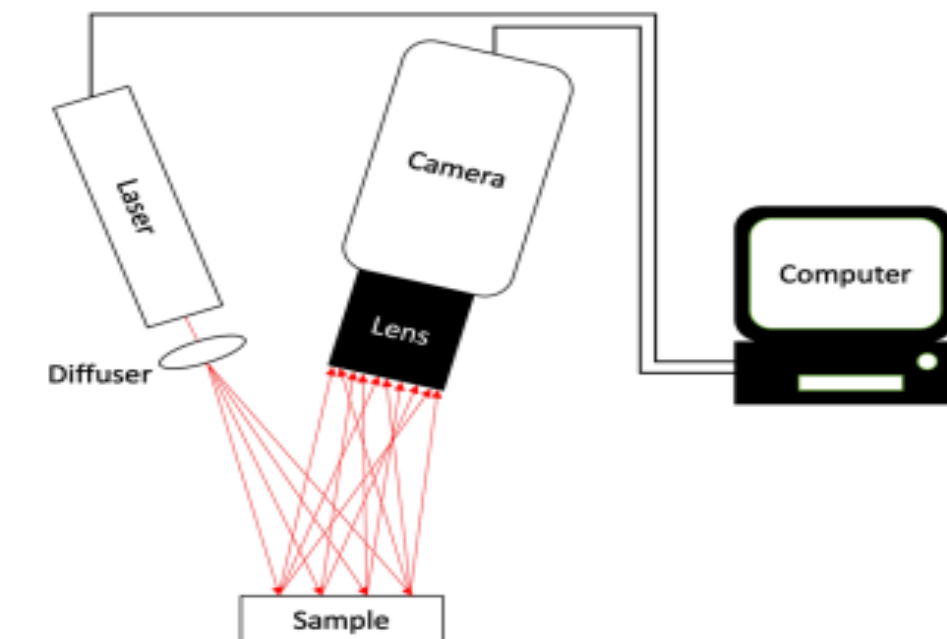
Métodos para o monitoramento dinâmico *in vivo* do fluxo sanguíneo tem sido amplamente utilizado na investigação de doenças em ambientes clínicos e de pesquisa. Embora alguns métodos como a ressonância magnética, tomografia computadorizada e ultrassom sejam considerados métodos comuns, comprovados e aplicados na prática clínica para avaliação do fluxo sanguíneo, em ambientes de pesquisa, técnicas como laser doppler, imagem de contraste *speckle* e espectroscopia de correlação de fótons são métodos de escolha para o monitoramento do fluxo sanguíneo. Mais recentemente, a técnica LASCA tornou-se muito utilizada para a captura de imagem do fluxo sanguíneo em uma variedade de tecidos, representando uma contribuição para a avaliação rápida e sem riscos da perfusão tecidual (Dunn, 2012).

A técnica LASCA utiliza o fenômeno do *speckle* a laser. A teoria do laser *speckle* foi desenvolvida na década de 1960. Na década seguinte, as pesquisas envolvendo a técnica avançaram; contudo, nos anos de 1980, embora com o uso de uma técnica fotográfica inovadora, conhecida como fotografia *speckle* de exposição única, desenvolvida para estudar o fluxo sanguíneo na retina, a necessidade de tratamento das fotografias antes do acesso à informação revelou-se como uma limitação para o avanço do método. Entretanto, na década de 1990, com as novas tecnologias digitais, foi desenvolvida uma versão em tempo real que se mostrou mais útil e com mais aceitação (Briers *et al.*, 2013).

Esta técnica é um recurso físico muito útil e largamente utilizado em aplicações biomédicas. Consiste em uma técnica óptica, não invasiva, sem contato, que utiliza radiação não ionizante na região do infravermelho para obtenção de imagens com resolução temporal e espacial de regiões vascularizadas com fluxo sanguíneo. Por se tratar de uma técnica não invasiva e que não produz desconforto ao paciente, esta técnica tem sido aplicada como auxílio no diagnóstico de problemas relacionados à microcirculação periférica para medir a perfusão sanguínea em tecidos cerebrais, córtex renal, fígado e pele (Boas; Dunn, 2010; Kazmi *et al.*, 2015).

Entre as vantagens do método, além de ser não invasiva e em tempo real, é o baixo custo dos equipamentos. Normalmente, os componentes necessários para a aplicação da técnica consistem no laser de baixa frequência, difusor, câmera e o *software* de processamento, conforme a configuração contida na figura 5, a seguir, organizada por Richards *et al.*, 2013.

Figura 5 - Uma configuração LASCA típica com laser, difusor, câmera e softwares de processamento



Fonte: Richards *et al.*, (2013).

A técnica *LASCA* baseia-se no princípio de que quando uma área é iluminada por uma fonte de luz coerente, como o laser, a luz sofrerá espalhamento por um conjunto de partículas distribuídas aleatoriamente que irá produzir um padrão de interferência construtiva e destrutiva aleatória característico denominado padrão

speckle que consiste em áreas claras e escuras, como mostra a Figura 6. Assim, quando a área iluminada se encontra estática, o padrão de interferência é estacionário. Por outro lado, quando há partículas em movimento, como glóbulos vermelhos em um tecido, o padrão muda com o tempo. O nível de contraste na imagem varia de acordo com o grau de movimento, de modo que quanto maior movimento, maior o padrão de interferência. O nível de interferência é quantificado pelo contraste de manchas. Ao adquirir uma imagem do padrão de manchas e quantificar o desfoque das manchas através de medições das variações de intensidade espacial no padrão de manchas, podem ser obtidos mapas espaciais do fluxo sanguíneo relativo (Dunn *et al*, 2001; Cordovil *et al*, 2012).

Boas e Dunn (2010) revelaram a aplicabilidade do método *LASCA* na medida da perfusão microvascular proporcional à velocidade dos movimentos das células vermelhas do sangue.

Figura 6 - Padrão típico de interferência do *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA)



Fonte: Briers *et al*, (2013).

Diante das vantagens da técnica *LASCA*, algumas já citadas neste estudo, e da necessidade de obtenção de imagens de alta resolução para estudo do fluxo sanguíneo em superfícies do corpo que auxiliam na avaliação de grau de perfusão periférica de tecidos orgânicos, a técnica tem contribuído para um crescente número de pesquisa que tem como objetivo detectar perfusão periférica em áreas superficiais

do organismo, como retina, pele e cérebro, sem a necessidade de contato direto com o sangue (Boas; Dunn, 2010).

Desse modo, a aplicação da técnica *LASCA* tem contribuído para a detecção precoce de complicações cardiovasculares em pessoas expostas a condições particulares, como as que geram sobrecarga do funcionamento cardíaco, levando em condições fisiológicas, ao aumento da vascularização periférica.

3.5.1 Aplicações Clínicas do *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)*

Conforme já foi ressaltado neste trabalho, quando uma área de tecido biológico recebe um feixe de luz é gerado um padrão de interferência chamado padrão *speckle*. A imagem *LASCA* resultante da luz retroespalhada que interage com os glóbulos vermelhos possibilita a visualização das condições de perfusão da área biológica analisada. Contudo, Heeman *et al*, 2019, destaca que, embora essa técnica tenha vasta descrição de resultados na literatura científica quanto a sua aplicação, a implementação clínica ainda não avançou na mesma proporção.

Na área médica, a técnica representa uma modalidade promissora por não necessitar de contato com o paciente, ser de rápida aplicação, simples e de baixo custo, permitindo a análise da perfusão de tecidos orgânicos em tempo quase real, o que pode ser bastante positivo para o diagnóstico precoce de complicações clínicas no paciente (Heeman *et al.*, 2019).

Vários estudos comprovaram a aplicabilidade da técnica *LASCA*. Della Rossa *et al*, 2013 relataram o uso do *LASCA* para monitorar a reatividade vascular e o fluxo sanguíneo em pessoas com doença de *Raynaud*, incluindo pacientes com esclerose sistêmica.

A doença de *Raynaud* manifesta-se com episódios reversíveis de vasoespasmos de extremidades que cursam com palidez, seguido de cianose e rubor de mãos e pés, desencadeados, usualmente, após condições de estresse ou exposição ao frio. O fenômeno de *Raynaud* pode ser de natureza primária, quando não está associado a alguma doença, ou secundária, quando associada a várias condições, principalmente a doenças reumáticas autoimunes (Kayser; Corrêa; Andrade, 2009)

Della Rossa *et al.*, 2013, revelou que a diferença entre esclerose sistêmica e fenômeno de *Raynaud* primário pode ser feita simplesmente com base nas medidas qualitativas de perfusão sanguínea utilizando a técnica LASCA.

Outra possibilidade de contribuição da técnica LASCA foi descoberta por Son *et al.*, 2014. Os autores identificaram diferentes estágios de artrite em modelos animais aplicando a técnica LASCA. A artrite é uma doença de elevada prevalência, causada por uma reação inflamatória que atinge as articulações e se manifesta com aumento da perfusão local. Muitas doenças de natureza reumatológica são caracterizadas por alteração na perfusão microvascular para as quais a técnica LASCA pode representar um importante recurso para avaliar a atividade da doença. Contudo, ainda existem limitações para a aplicação do método relacionadas à penetração insuficiente do laser para atingir o tecido de interesse (Heeman *et al.*, 2019).

Stewart *et al.*, (2005) foram os primeiros a relatar o uso da técnica LASCA em pacientes com queimadura para avaliar o fluxo sanguíneo superficial na área tecidual afetada. A avaliação do fluxo sanguíneo microcirculatório é um indicador importante para medir a capacidade de cura. Os autores mostraram que o uso da técnica LASCA apresentou resultados semelhantes a outras técnicas já utilizadas e com a vantagem de ser um método seguro, não invasivo, de custo acessível e rápida aquisição.

No campo da neurologia, o uso da técnica LASCA, também, mostrou-se bastante promissora. A mensuração da perfusão sanguínea em estágios pré e pós-cirúrgico é crucial para a neurocirurgia. O LASCA imagens podem dar aos neurocirurgiões uma indicação da eficácia da revascularização cirúrgica significativa para o sucesso do procedimento (Heeman *et al.*, 2019).

Outras contribuições utilizando a técnica LASCA foram comprovadas em estudos. Eriksson *et al.*, 2014, revelaram resultado promissor na aplicação clínica do LASCA para medir o nível de perfusão sanguínea do fígado durante procedimento cirúrgico com oclusão da veia porta e da artéria hepática. Milstein *et al.*, (2016), também, obtiveram imagens da perfusão microvascular gástrica que mostraram áreas de isquemia durante procedimento de reconstrução do tubo gástrico, comprovando que a técnica pode ser um recurso auxiliar para identificar precocemente complicações importante do trato gastrointestinal.

Embora os estudos tenham avançado quanto ao uso clínico da técnica LASCA, a técnica ainda não é amplamente adotada na prática clínica. Contudo, pesquisas

como a deste trabalho continuam em busca de solucionar as limitações da técnica e de demonstrar sua aplicabilidade clínica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo do tipo transversal, descritivo, experimental de abordagem quantitativa.

O estudo de corte transversal objetiva a obtenção de dados fidedignos, possibilitando, ao final da pesquisa, o alcance de conclusões confiáveis, robustas, podendo abrir caminhos para novas hipóteses e novas pesquisas (Raimundo; Echeimberg; Leone, 2018).

O estudo descritivo inclui pesquisas cujo objetivo está relacionado à descrição das características de determinada população ou fenômeno ou, ainda, ao estabelecimento de relação entre variáveis. Enquanto o método experimental fundamenta-se principalmente em ressignar os objetos de estudo à ação de muitas variáveis, em circunstâncias equilibradas e conhecidas pelo pesquisador, para assistir os efeitos que a variável gera no objeto (Gil, 2008).

O método quantitativo é definido pelo emprego da quantificação tanto nas especificidades de coleta de dados, como também no tratamento delas através de técnicas estatísticas, a começar da mais simples como percentual, média, desvio-padrão, às mais complexas, tal como coeficiente de correlação, análise de regressão, etc (Richardson *et al.*, 2015).

4.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil – Campus Itaquera, localizado em Itaquera / São Paulo no de pós-graduação em Engenharia Biomédica.

Vale ressaltar que todas as etapas do procedimento de coleta de dados foram desenvolvidas no laboratório de óptica biomédica e inovação e no laboratório de processamentos de sinais da Universidade Brasil, campus Itaquera, garantindo a segurança e privacidade aos participantes.

Ressalta-se, também, que, considerando o estado de pandemia da covid-19, ainda presente na fase da coleta de dados, todas as medidas de proteção foram

adotadas, como uso de equipamentos de proteção individual (EPI) pelos envolvidos na pesquisa e limpeza e antissepsia do ambiente e superfícies.

4.3 ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS

Este estudo obedeceu ao exposto na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (Brasil, 2012). A resolução considera o direito ao consentimento livre e esclarecido e respeito pela dignidade humana e pela especial proteção aos participantes da pesquisa. Para isso, o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), sob Parecer nº 4.724.843 e, somente assim, teve início a etapa de coleta de dados.

Para isso, todos os participantes foram devidamente esclarecidos sobre os procedimentos da pesquisa e confirmaram sua participação por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecidos (TCLE) (APÊNDICE A).

4.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA DO ESTUDO

Os participantes da pesquisa foram alunos de graduação e pós-graduação da Universidade Brasil. A amostra foi constituída por 27 (vinte e sete) participantes selecionados aleatoriamente, de modo que todos os participantes tiveram igual probabilidade de compor a amostra. Para isso, foram considerados como critérios de inclusão: alunos da graduação e pós-graduação, de ambos os sexos, com idade de 18 anos ou mais, regulamente matriculados na instituição de ensino e que aceitem participar de todas as etapas da coleta de dados por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram excluídos da pesquisa, pessoas que atenderam aos critérios de inclusão, mas com as seguintes condições autodeclaradas: complicações cardiovasculares ou que estivessem em uso de medicação que alteram o funcionamento do sistema cardiovascular, suspeita ou confirmação de gravidez, limitações físicas que comprometam o desempenho durante o estudo e mulheres em período de menstruação. Contudo, nenhum participante foi excluído da pesquisa por alguma das condições citadas.

Além disso, embora não tenha tido nenhuma intercorrência durante os procedimentos de coleta de dados, caso o participante apresentasse sinais e/ou

sintomas de complicações decorrentes do esforço físico, mesmo sem diagnóstico de doenças cardiovasculares pré-existentes, o protocolo de pesquisa seria interrompido e este excluído da amostra.

Para o recrutamento dos participantes foi realizado contato prévio para agendamento, conforme disponibilidade dos mesmos. O contato inicial com os participantes foi realizado por meio do convite direto através de chamada telefônica, em respeito às restrições exigidas para o momento da pandemia pelo *coronavírus*. Durante a abordagem inicial, os possíveis participantes receberam os esclarecimentos acerca dos procedimentos da pesquisa. Desse modo, após obter a anuência de participação, para o desenvolvimento das etapas do procedimento de coleta de dados, os participantes foram solicitados a comparecer ao laboratório de processamento de sinais da referida instituição, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a. Laurita dos Santos, cuja parte da estrutura do referido laboratório foi financiada pela Fapesp, para o recebimento do recipiente coletor de saliva (*Salivete*), além das recomendações para o momento de aplicação do protocolo de coleta de dados aos quais foram submetidos, bem como os esclarecimentos acerca do protocolo de produção dos dados.

4.5 OBTENÇÃO DE DADOS: INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS

A coleta de dados ocorreu nos meses de junho e agosto de 2021 e foi desenvolvida no laboratório de processamento de sinais da instituição cenário da pesquisa, cujo ambiente dispunha de esteira ergométrica, eletrocardiógrafo, equipamento *MoorFLPI (Full-Field Laser Perfusion Imager)*, além de equipamentos auxiliares como: aparelho de pressão digital automático de braço marca *Omron HEM-RML31N*, termômetro digital infravermelho, polar V800, oxímetro digital, balança digital portátil, estadiômetro/antropômetro vertical e fita métrica.

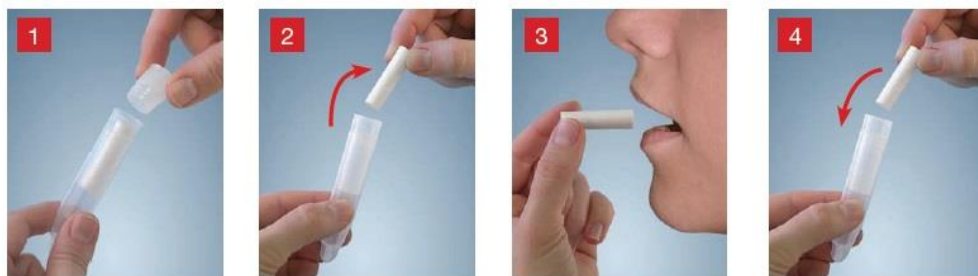
O procedimento para obtenção dos dados foi desenvolvido em 4 (quatro) etapas, a contar da etapa que antecedeu o momento de execução do protocolo de produção dos dados da pesquisa (Etapa 0), que serão detalhadas a seguir.

4.5.1 Etapa 0: Coleta da primeira amostra de saliva

A Etapa 0 consistiu na etapa na qual o participante realizou a coleta da primeira amostra de saliva. Para isso, inicialmente, o participante recebeu as informações

detalhadas sobre a pesquisa, contidas no termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), sendo este documento assinado, confirmando a anuência de participação na pesquisa e garantindo o fiel cumprimento dos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos, dispostos na resolução nº 466/2012. Em seguida, de posse do coletor de saliva, o *Salivette*[®] Cortisol, um dispositivo de polipropileno transparente com tampa azul e etiqueta de papel, contendo um rolo de fibras sintéticas no interior, o participante foi orientado a realizar a coleta após acordar (até as 8 horas da manhã) antes de escovar os dentes, beber água e alimenta-se ou fazer uso de qualquer medicamento, caso seja de uso contínuo ou necessidade do participante. A coleta da saliva seguiu os seguintes passos, conforme representação esquemática na figura 7, abaixo: 1) remover a tampa do tubete; 2) retirar o rolo de fibras sintéticas; 3) colocar o rolo de fibra debaixo da língua por, aproximadamente, 2 a 3 minutos até ficar bem úmido, tendo o cuidado para não mastigar o rolo. Durante esse período, o participante não deve consumir nenhum tipo de alimento ou fazer ingesta de líquidos; 4) em seguida, retornar o rolo de fibra para o coletor e manter este com tampa fechada. Feito isso, o coletor foi identificado com nome, data de nascimento, sexo, horário da coleta e número da amostra (1ª amostra) e entregue aos pesquisadores, mantendo em temperatura ambiente até as 9h da manhã do mesmo dia da coleta.

Figura 7: Representação esquemática das etapas de coleta da saliva



Fonte: Google (2022)

4.5.2 Etapa 1: Repouso inicial

Para a execução desta etapa, os participantes foram orientados a chegar ao laboratório de processamento de sinais às 8h30min. Inicialmente, foi realizada a

anamnese e avaliação de risco cardiovascular. A anamnese foi realizada por meio de um instrumento de autoria dos pesquisadores (APÊNDICE B), no qual constam dados como: peso, altura e índice de massa corporal (IMC), além de dados sociodemográficos, hábitos de vida, condições de saúde e antecedentes familiares e outras informações para avaliação do risco cardiovascular como: temperatura corporal, pressão arterial, frequência cardíaca, saturação de oxigênio, circunferência abdominal e do quadril, bem como, dados relativos à investigação do sinal cardíaco, teste de esforço físico e coletas das demais amostras de saliva para a finalização do protocolo. O tempo de execução do protocolo foi, em média, 1h30min. O participante permaneceu em ambiente sob temperatura de 24°C e umidade de 60%, garantidos por meio de equipamentos apropriados.

Quanto às medidas antropométricas, para a medida do peso foi utilizada uma balança de precisão digital portátil da marca *Camry*, modelo EB9013 com capacidade máxima de 150kg, 4 sensores e precisão de 100g. O participante foi orientado a posicionar-se no centro do equipamento, com pés, ligeiramente, afastados e braços estendidos ao longo do corpo, trajando roupas leves e apropriadas para o momento. A leitura do peso foi registrada sem arredondamentos, após o valor ter se fixado no visor do equipamento.

A estatura foi verificada por meio de um estadiômetro compacto da marca MD, campo de medição de 0 a 200 cm, fixado na parede plana, sem desníveis e sem presença de rodapé. O participante foi colocado em posição ereta, imóvel, com os braços estendidos na vertical.

Em relação à aferição de sinais vitais, respeitando as medidas de proteção em virtude do período de pandemia da Covid-19, a temperatura corporal foi aferida por meio de termômetro infravermelho sem contato. Para a medida da pressão arterial foi utilizado um aparelho de pressão digital automático de braço marca *Omron* HEM-RML31N. A aferição foi realizada após 5 min de repouso, em posição sentada, com pernas em posição paralelas e pés apoiados no chão, braço direito estendido e apoiado sobre a mesa, na altura do coração, com braçadeira apropriada para o porte físico do participante, seguindo às recomendações da sociedade brasileira de cardiologia (SBC, 2016).

A frequência cardíaca e a saturação de oxigênio (SatO₂) foram obtidas por meio de um Oxímetro digital de dedo. Este é um dispositivo utilizado para monitorização da porcentagem de saturação de oxigênio no sangue e dos batimentos cardíacos por

minuto. O aparelho possui sensores de emissão e detecção de luz nos comprimentos de onda vermelha e infravermelha que, após posicionados no dedo indicador, leem e fazem o cálculo da porcentagem do transporte de oxigênio.

A relação da circunferência abdominal e do quadril (RCQ) é um parâmetro importante para avaliação de obesidade e risco de comorbidades. Vários locais e padrões são sugeridos para avaliação da circunferência abdominal. Neste protocolo, a medida foi realizada no maior perímetro abdominal entre a última costela e a crista ilíaca, segundo recomendações da OMS. A medida da circunferência do quadril foi tomada com a fita métrica, passando sobre os trocânteres maiores, no seu maior diâmetro. A Federação Internacional de Diabetes considera risco cardiovascular aumentado a medida de circunferência abdominal \geq a 94 cm em homens e 80 cm em mulheres (Abeso, 2016).

A figura 8, abaixo, representa a sequência de procedimentos descritos acima. Ressalta-se que, antes de proceder com as etapas seguintes, procedeu-se à coleta da segunda amostra de saliva, seguindo as mesmas recomendações descritas na etapa 0.

Figura 8: Representação esquemática da sequência de procedimentos da etapa 1



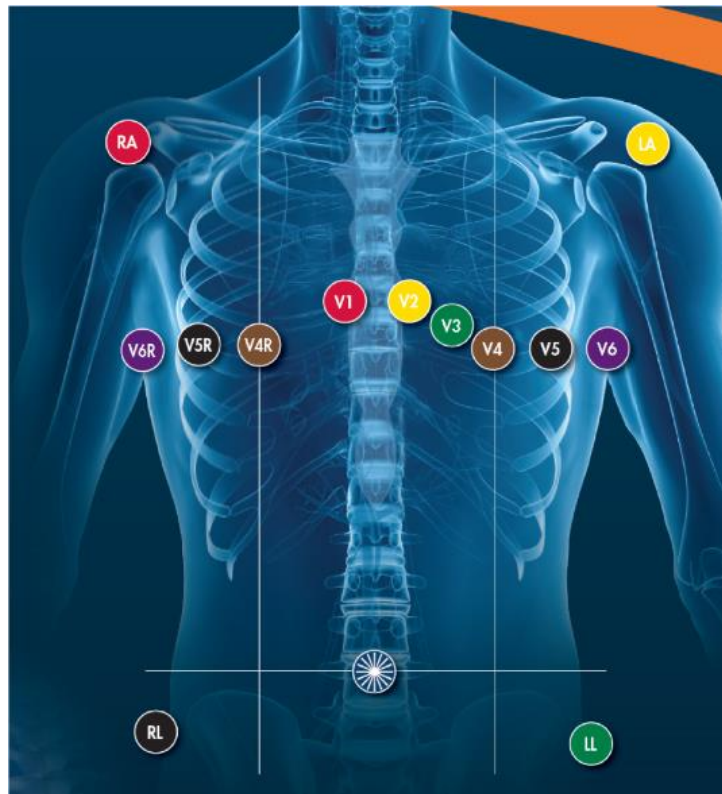
Fonte: Google (2022)

Em seguida, a obtenção do sinal cardíaco foi realizada por meio de um eletrocardiograma digital (ECG PC) para posterior extração e análise sequencial de intervalos entre os batimentos cardíacos (intervalos RR) utilizando o *software* Kubios HRV. Para a realização do exame, o participante foi orientado a retirar qualquer adorno ou objetos metálicos em uso; em seguida, foi colocado em posição de decúbito dorsal, com membros inferiores e superiores paralelos ao corpo, certificando-se de que o participante não estivesse em contato com superfície metálica para evitar

interferências; também, para esse fim, foi solicitado ao participante permanecesse em silêncio e sem movimentar-se durante o exame.

O posicionamento dos eletrodos nas faces internas de punho e tornozelos, bem como de tórax, foi realizado com o máximo de proteção do participante para evitar exposição física que pudesse causar constrangimento. Os eletrodos foram posicionados, de acordo com a figura 9, conforme orientação do fabricante do aparelho, após a limpeza das áreas, com gaze embebida em álcool a 70%, seguindo a seguinte disposição: os cabos vermelhos (RA) em membro superior direito; amarelo (LA) em membro superior esquerdo; preto (RL) em membro inferior direito e verde (LL) em membro inferior esquerdo. No tórax foram utilizados eletrodos de sucção (preferencialmente), ou eletrodos descartáveis para obtenção dos registros das derivações precordiais, posicionando o cabo vermelho (V1) no 4º espaço intercostal, à direita do esterno; o amarelo (V2) no 4º espaço intercostal, à esquerda do esterno; verde (V3) no 5º espaço intercostal, diagonalmente entre V2 e V4; marrom (V4) no 5º espaço intercostal, na linha hemeclavicular; preto (V5) no 5º espaço intercostal, na linha axilar anterior e o cabo roxo (V6) no 5º espaço intercostal, na linha axilar média.

Figura 9 – Posicionamento dos eletrodos



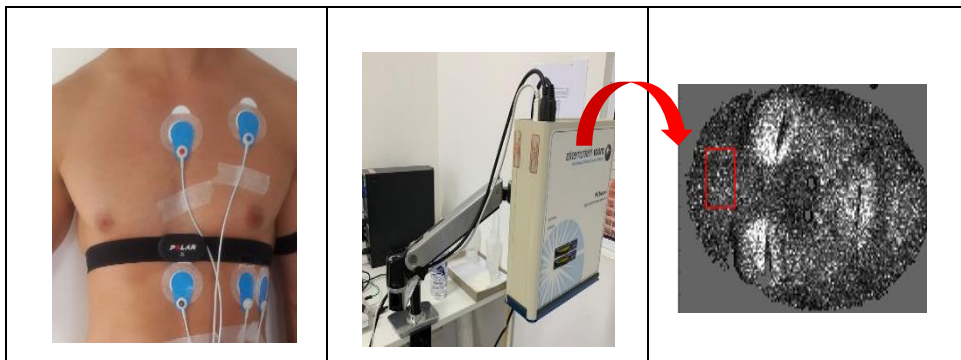
Fonte: adaptado de INDUMED (2022)

As séries temporais de intervalos RR, também, foram obtidas por meio do uso de um monitor Polar®, modelo V800, comumente, usado na prática individual de atividade física. Segundo Giles, Draper e Neil (2016), o frequencímetro Polar V800 é um instrumento com capacidade de produzir sinais compatíveis com o ECG e utilizado para análise da variabilidade da frequência cardíaca (Caminal *et al.*, 2018).

Durante o procedimento, a cinta do frequencímetro foi colocada sobre região do tórax do participante, no terço distal do osso esterno, situado na frente do tórax, ao centro do peito. Desse modo, os sinais cardíacos foram obtidos através do eletrocardiógrafo e polar V800, simultaneamente, e teve uma duração média de até 15 minutos para garantir que a série temporal tivesse em torno de 1000 intervalos RR e, assim, os métodos de análise podem ter resultados mais exatos (Santos *et al.*, 2013a; Santos *et al.*, 2013c).

Concomitante à obtenção dos sinais cardíacos, por meio do ECG e do frequencímetro Polar, foi aplicada a técnica LASCA. As imagens LASCA foram obtidas utilizando o equipamento *MoorFLPI (Full-Field Laser Perfusion Imager)*, simultaneamente à obtenção dos sinais cardíacos. Assim, com o paciente já posicionado, o equipamento foi direcionado para a região frontal da face do participante e produzido um vídeo com duração de 15 minutos. Com o objetivo de evitar interferências e prejuízos à análise do material, o participante foi orientado a não se movimentar e permanecer acordado durante o procedimento, conforme representado na figura 10, a seguir.

Figura 10: Representação esquemática da obtenção dos sinais cardíacos e aplicação da técnica LASCA na etapa 1



Fonte: Google (2022)

Um *software* para processamento de vídeos LASCA foi desenvolvido em ambiente MATLAB R2019b (*MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States*). Inicialmente, o vídeo foi carregado na aplicação indicada e selecionada a região de interesse (ROI), delimitada por um retângulo de contornos vermelho (*frame*), onde a análise da variância do sinal foi realizada. Dentro da ROI, a intensidade média do sinal foi computada em cada frame da imagem, obtendo assim o perfil da pulsação obtido através do vídeo. Assim, a partir da captação dos impulsos elétricos do coração e a detecção dos intervalos RR durante a execução do teste, foi possível estabelecer uma análise comparativa entre os métodos.

4.5.3 Etapa 2: Teste de Esforço

A Etapa 2 compreendeu o desenvolvimento do teste de esforço. Para esta etapa, os participantes de estudo foram orientados a não se alimentar ou fumar nas duas horas antes do teste, além de usar roupas leves e calçados apropriados para a realização de exercícios físicos. Também, foram solicitados a remover qualquer objeto metálico que estivessem em contato com o corpo a fim de evitar interferências na coleta do sinal.

Os participantes foram submetidos ao teste de esforço utilizando uma esteira ergométrica elétrica com capacidade para 140 Kg, durante 15 minutos. O teste na esteira foi iniciado logo após a finalização dos procedimentos da etapa 1. O procedimento seguiu o referencial do protocolo de Bruce (Silva; Monteiro; Farinatti, 2011). Este protocolo é um dos mais utilizados para avaliar o esforço físico, sendo assim aplicado para análise da resposta do organismo ao estresse físico que o indivíduo está sendo submetido na esteira ergométrica com alteração gradual, a cada 3 minutos, da velocidade e inclinação, podendo chegar a 15 minutos, conforme tabela contida na figura 11.

Figura 11: Representação do protocolo de Bruce aplicado ao participante na etapa 2



Tempo (min)	Velocidade (km/h)	Inclinação (%)
0	2,5	0
3	4,0	1,0
6	5,5	1,0
9	5,5	0
12	4,0	0
15	0,0	0

Fonte: Autoria própria

Fonte: Google (2022)

A velocidade do exercício foi aumentada, gradualmente, de forma lenta e de pouco esforço e aumentada até alcançar 5,5 km/h e, após manter por 3 minutos, foi decrescendo até tempo final de 15 minutos. Em caso de exaustão ou cansaço intenso, o participante poderia descansar por um tempo de 20 minutos; contudo, nenhum participante necessitou interromper o teste por exaustão ou outra condição. Entretanto, caso o participante apresentasse muito ofegante, a velocidade e inclinação seriam mantidas constantes ou regredidas, até retorno às condições confortáveis. Nenhum participante necessitou interromper o procedimento.

Durante o teste, o frequencímetro foi mantido posicionado no tórax do participante para o monitoramento da frequência cardíaca máxima. O teste foi aplicado neste estudo como um método complementar de rastreamento, no qual o participante, ao ser submetido ao esforço físico programado, tiveram o monitoramento de aspectos clínicos (sinais e sintomas), hemodinâmicos (frequência cardíaca e pressão arterial), metabólicos (medidas e cálculos do consumo de oxigênio e limiares ventilatórios).

A finalidade da aplicação do teste de esforço foi induzir o participante ao estresse físico, estimulando ao organismo do mesmo a aumentar a demanda cardíaca e, com isso, um aumento da frequência cardíaca.

4.5.4 Etapa 3: Pós-atividade

Na Etapa 3, fase de retorno do participante ao estágio de repouso após esforço físico na esteira ergométrica, o participante foi submetido aos mesmos procedimentos de avaliação da etapa 1, seguida da terceira coleta de saliva para análise do cortisol salivar, após período de 5 minutos de teste de esforço.

4.5.5 Etapa 4: Final do protocolo

Por fim, na Etapa 4, o participante, após tempo estimado de 2 horas, pós finalização do protocolo de estudo, procedeu-se a coleta da quarta e última amostra salivar para análise de cortisol.

4.5.6 Processamento dos sinais

Os sinais cardíacos coletados foram transferidos para um computador equipado com o *software Polar Precision Performance®*, onde foram convertidos para um formato de texto (txt) para posterior filtragem. Para a filtragem dos dados, foi utilizado o *T-RR filter 1.1*. (Figura 12), por tratar-se de um filtro adaptativo, desenvolvido por Santos *et al* (2013), e Santos *et al* (2016). O *T-RR filter* consiste em um método de filtragem adaptativa de séries temporais de intervalos RR, com características estatísticas equivalentes ao método de filtragem convencional e tem como finalidade acelerar o processamento das séries temporais e posterior análise da variabilidade da frequência cardíaca.

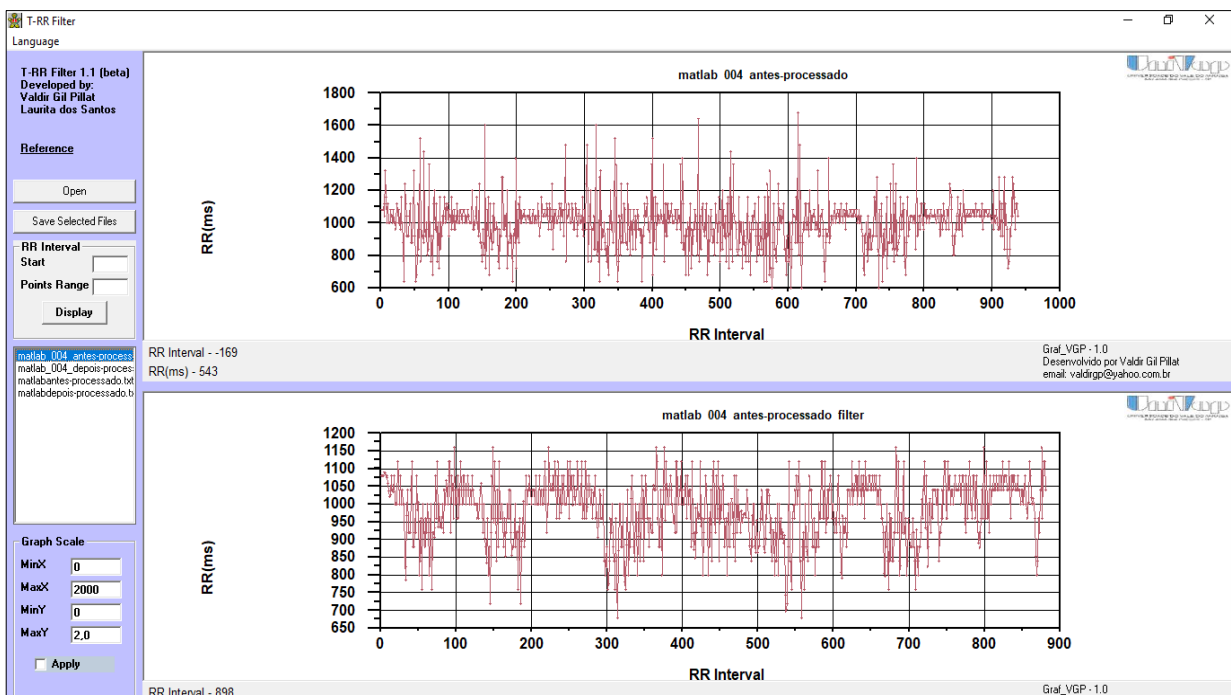
Figura 12 - Interface inicial da ferramenta computacional *T-RR Filter*



Fonte: Santos *et al* (2016)

Desse modo, os sinais cardíacos coletados foram filtrados utilizando-se o filtro adaptativo *T-RR Filter*. Para isso, após selecionado o arquivo para análise, a ferramenta computacional *T-RR Filter* gerou um conjunto de informações que possibilitam analisar os sinais cardíacos filtrados. A figura 13 ilustra os resultados obtidos a partir do processamento de sinais cardíacos coletados.

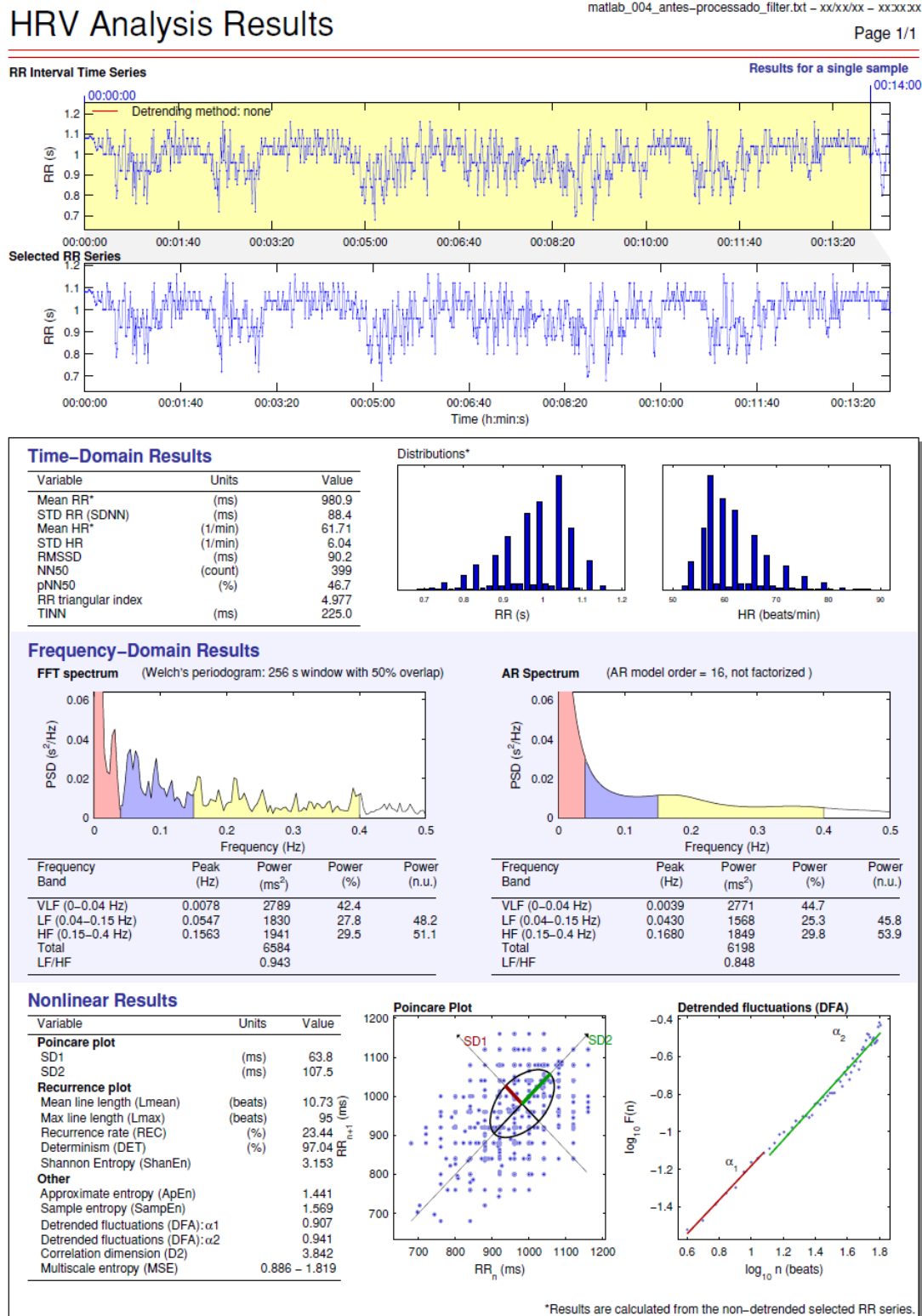
Figura 13 - Ferramenta computacional *T-RR Filter* após filtragem de uma série temporal



Fonte: Santos *et al* (2016)

Em seguida, as séries temporais de intervalos RR já filtradas foram processadas no programa *HRV analysis® Kubios* (*Biosignal Analysis Image Group, Department of Physics, University of Kuopio, Finland*), para realização da análise do domínio do tempo, domínio de frequência e métodos não lineares. A Figura 14 mostra um exemplo de relatório em formato *pdf* fornecido pelo *software* de análise. Conforme os dados apresentados na figura 10, o software Kubios permite excluir traçados caracterizados como ruídos ou artefatos possibilitando análise da VFC com mais definição. Também, mostra os resultados da análise da VFC segundo métodos lineares e não-lineares.

Figura 14 – Demonstração de resultado da análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca, de um participante do estudo após processamento com o uso do software Kubios



4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados referentes ao perfil sócio demográfico dos participantes; bem como, hábitos de vida, condições de saúde e antecedentes familiares; além do questionário internacional de atividade física (versão curta) e a escala de percepção de estresse foram organizados e processados para análise no programa *Microsoft® Office Excel®* 2019 e foram apresentados por meio de cálculo percentual e tabelas.

Os dados do sinal cardíaco obtidos por meio ECG, para extração dos intervalos RR; do frequencímetro e do equipamento LASCA, foram organizados em bancos de dados em planilha do *Microsoft Excel* e processados no *software Graphprism* para o cálculo estatístico descritivo da média, desvio padrão, intervalo interquartil, mínimos e máximos para as variáveis quantitativas; e frequências absolutas e relativas para as qualitativas.

Para a comparação estatística entre as variáveis obtidas do sinal cardíaco, antes e após o estressor físico (uso da esteira ergométrica), foi utilizado o teste *t-student* pareado (dados paramétricos) ou teste *Mann Whitney* (dados não paramétricos).

Para todas as variáveis foi considerado um nível de significância de 5% p -valor ($< 0,05$) e intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido com 27 (vinte e sete) participantes que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão da pesquisa. Ressalta-se que 03 (três) participantes desistiram, não comparecendo a aplicação do protocolo de coleta de dados. A tabela 2, reúne os principais dados sobre o perfil sociodemográfico dos participantes.

Tabela 2 - Caracterização dos participantes do estudo (n = 27)

Variável		Frequência	%
Sexo	Feminino	22	81,5
	Masculino	5	18,5
Faixa etária	18 -- 25	5	19,2
	25 -- 32	4	15,4
	32 -- 39	8	30,8
	39 -- 46	7	26,9
	46 -- 53	2	7,7
Cor	Branca	12	44,4
	Negra	5	18,5
	Amarela	0	0,0
	Parda	10	37,0
	Não informada	0	0,0
Situação Conjugal	Solteiro	10	37,0
	Casado/união/estável	15	55,6
	Divórcio/separado	2	7,4
	Viúvo	0	0,0
Tem filho	Sim	16	59,3
	Não	11	40,7
Número de filhos	0	11	40,7
	1	10	37,0
	2	5	18,5
	4	1	3,7
Nível de formação	Graduado	18	66,7
	Pós-graduado	9	33,3
Exerce atividade remunerada	Sim	20	74,1
	Não	7	25,9

Fonte: Autoria própria

A maioria dos participantes eram do sexo feminino, correspondendo a 81,5 % (n = 22), enquanto 18,5 % (n = 05) eram do sexo masculino. A idade dos participantes variou entre 18 a 53 anos, sendo as faixas etárias de 32 a 38 anos e 39 a 46 anos com maior número, correspondendo a 30,8 % (n = 8) e 26,9% (n = 7), respectivamente. Do total de participantes, 44,4 % (n = 12) declararam cor branca,

37,0 % (n = 10) cor parda, e 18,5 % (n = 5), de cor preta. Quanto à situação conjugal, 55,6 % (n = 15) responderam ser casados, 37,0 % (n = 10) solteiros e 7,4 % (n = 2) divorciados. Em relação à existência de filhos, do total de participantes 59,3 % (n = 16) disseram ter filhos, sendo que entre os que afirmaram ter filhos, 37,0 % (n = 10) tem somente 01 filho e 18,5 % (n = 5) tem 02 filhos. E ainda, sobre o nível de formação dos participantes, a maioria, 66,7 % (n = 18), estão em curso de graduação ou graduados e 33,3 % (n = 09) possuem pós-graduação; exercendo atividade remunerada, 74,1 % (n = 20).

Quanto ao perfil relacionado aos hábitos, estilo de vida e condições de saúde dos participantes do estudo, a Tabela 3, abaixo, reúne os resultados obtidos.

Tabela 3- Hábitos, estilo de vida e condições de saúde dos participantes do estudo (n = 27)

Variável		Frequência	%
Fuma	Sim	0	0,0
	Não	27	100,0
Faz uso de álcool	Sim	13	48,1
	Não	13	48,1
	Não informou	1	3,7
Frequência do uso de álcool	Raramente	8	29,6
	De vez em quando	5	18,5
	Regularmente	0	0,0
	Nunca	14	51,9
Horas de sono por noite	5	1	3,7
	6	10	37,0
	7	5	18,5
	8	9	33,3
	9	2	7,4
Prática de Atividade Física	Sim	11	40,7
	Não	16	59,3
Frequência de prática de exercício físico	Às vezes	4	14,8
	2 ou 3 vezes/semana	5	18,5
	Diariamente	2	7,4
	Não se aplica	16	59,3
Tem hipertensão	Sim	3	11,1
	Não	24	88,9
Tem diabetes	Sim	0	0,0
	Não	27	100

Fonte: Autoria própria

Quanto aos hábitos e prática de atividade física, a totalidade dos participantes, 100 % (n = 27), responderam não fumar, 48,1 % (n = 13) dos respondentes

informaram não fazer uso de álcool sendo que um participante não informou (n = 1, 3,7 %). Entre os que informaram fazer uso de álcool, 29,6 % (n = 8) e 18,5 % (n = 5) responderam fazer uso “raramente” e “de vez em quando”, respectivamente. Quanto a horas de sono por noite, a maioria, 78,8 % (n = 24), responderam 6 a 8 horas de sono por noite. Também, pequena maioria, 59,3 % (n = 16) não praticam atividade física; sendo que, entre os que realizam prática de atividade física, 18,5 % (n = 5), realizam 2 ou 3 vezes/semana, 14,8 % (n = 4), realizam às vezes e apenas 7,4 % (n = 2) praticam atividade física diariamente.

Em relação às condições crônicas, a maioria, 88,9 % (n = 24), não referem hipertensão arterial e nenhum participante informou ser portador de diabetes.

Quanto às variáveis antropométricas, como peso, altura e índice de massa corporal (IMC), o perfil dos participantes do sexo feminino, variou com peso entre 48,6 e 114 kg, altura entre 1,52 e 1,67 m e IMC, entre 18,3 e 41,9 kg/m², conforme dados apresentados na tabela 4 abaixo.

Tabela 4 - Variáveis antropométricas e sinais clínicos em repouso e pós-atividade dos participantes (n=27)

Variáveis Participantes	Sexo	Idade	Peso (kg)	Altura(m)	IMC (kg/m ²)	Repouso				Pós-Atividade			
						T (°C)	PA (mmHg)	Sat O ₂ (%)	FC (bpm)	T (°C)	PA (mmHg)	Sat O ₂ (%)	FC (bpm)
01	F	40	82	1,67	29,4	-	-	-	66	36,3	121x77	96	80
02	M	38	107,6	1,90	29,8	36,6	117x80	97	62	35,9	127x86	97	73
03	M	30	115,4	1,72	39,0	36,2	148x84	98	71	36,7	136x86	97	74
04	F	43	58,6	1,52	25,4	36,5	110x85	97	72	36,5	113x89	98	63
05	F	32	49,3	1,64	18,3	35,9	110x68	98	84	36,4	98x67	98	98
06	F	20	64,4	1,60	25,2	36,7	100x70	99	73	36,8	102x67	98	92
07	F	21	55	1,52	23,8	36,5	100x75	97	89	36,6	100x72	98	91
08	F	53	52,5	1,57	21,3	36,6	124x75	97	79	36,3	114x72	98	92
09	F	38	58,7	1,60	22,8	35,3	112x84	98	100	36,2	105x83	99	89
10	F	18	51,8	1,53	22	34,6	115x82	99	93	36,8	103x79	99	96
11	F	42	58,8	1,58	23,6	35,7	105x82	97	97	36,9	102x82	99	110
12	F	50	72,6	1,71	24,8	36,3	119x77	98	61	36	148x93	98	74
13	F	36	48,6	1,56	20	36,8	108x75	97	106	36,7	101x76	95	111
14	F	33	81	1,66	29,4	36,7	106x83	97	92	36,4	112x90	97	98
15	F	34	84,8	1,50	37,7	36	133x88	99	65	36,6	137x98	97	76
16	F	18	56,8	1,58	22,8	35,5	106x71	98	90	36,7	133x89	99	89
17	F	23	95,3	1,55	39,7	36,3	120x71	97	67	36,2	123x84	97	81
18	F	39	72,9	1,65	26,8	36,7	125x87	99	71	36,8	125x88	98	84
19	F	34	81,6	1,67	29,3	36,5	130x84	95	84	36,1	124x89	99	98
20	F	30	81,8	1,60	32	36,4	113x83	99	70	36,5	115x87	97	79
21	M	37	70	1,66	25,3	34,1	137x98	99	55	35,7	117x91	98	60
22	F	30	114,8	1,65	41,9	36,8	117x71	99	70	36,7	118x77	96	90
23	M	40	94,7	1,71	32,4	36,7	135x84	96	82	36,8	133x96	96	96
24	M	35	90,5	1,72	30,6	36,1	125x79	95	86	35,8	120x78	94	104
25	F	29	65,5	1,62	25	36,1	113x72	97	94	35,8	115x80	97	102
26	F	41	73,5	1,66	26,7	36,4	127x68	98	90	36,6	115x77	99	94
27	F	42	71	1,48	32,4	36,5	98x73	98	82	36,5	99x75	96	93

Fonte: Autoria própria

Quanto ao perfil dos participantes do sexo masculino, o peso variou entre 70 e 115,4 kg, a altura entre 1,66 e 1,90 m e IMC entre 25,3 e 39,01 kg/m². Desse modo, quanto à classificação do IMC, a maioria dos participantes envolvidos no estudo apresentou obesidade 37,1 % (n = 10), 29,6 % (n = 8) participantes com sobrepeso, e igual percentual com peso normal, e apenas 3,7% (n = 1) com baixo peso.

Ressalta-se que, quando comparado o estado de repouso e pós-atividade entre os participantes, sinais como temperatura, pressão arterial e saturação de oxigênio, praticamente, mantiveram-se estáveis. Quanto à frequência cardíaca (FC), a maioria dos participantes do estudo (88, 8%) apresentaram elevação da FC, no estágio pós-atividade.

A temperatura corporal é controlada pelo centro termorregulador localizado na região hipotalâmica anterior e, quando está acima da faixa circadiana, caracteriza um quadro de febre, que pode estar presente em várias condições clínicas como em infecções, mas também, em outras situações, como neoplasias, doenças autoimunes, reações a fármacos, dano hipotalâmico, etc. A temperatura normal é 37°C, podendo haver variação até em torno de 0,5 a 1°C em indivíduos sadios (Rosa; Soares; Barros, 2019).

A pressão arterial é considerada elevada quando há elevação persistente da pressão arterial sistólica (PAS) \geq a 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) \geq a 90 mmHg, medida em pelo menos duas ocasiões diferentes, na ausência de medicação anti-hipertensiva (Barroso *et al.*, 2021).

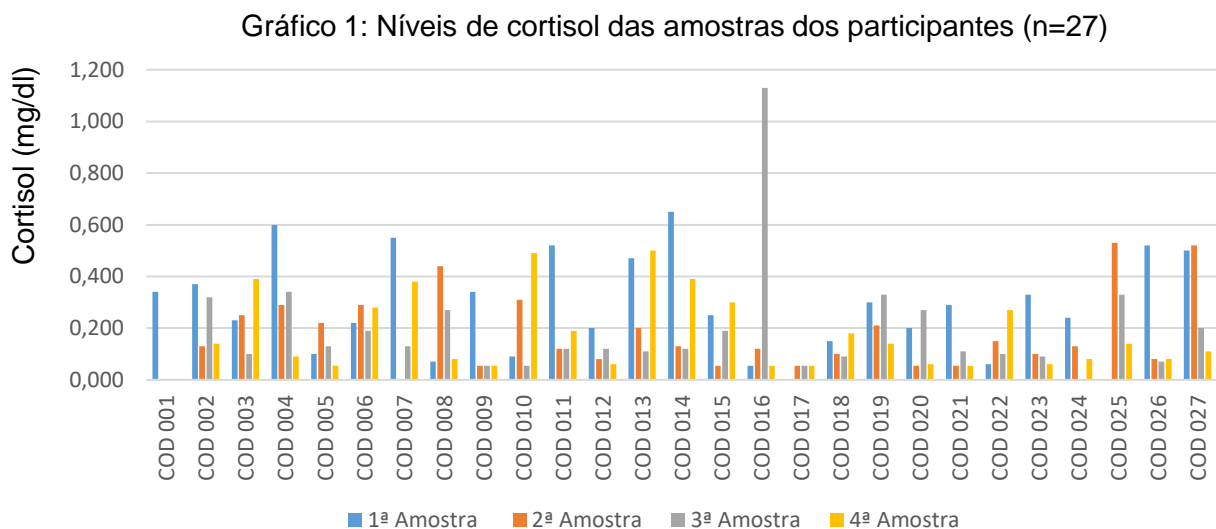
A saturação de oxigênio é um exame utilizado para medir a capacidade do organismo em fornecer oxigênio suficiente para as necessidades do corpo. Em condições normais, deve estar entre 95 e 100%. O oxímetro de pulso utiliza o princípio da espectrofotometria (método de análise óptica). Um feixe de luz incide sobre a área examinada e através da quantidade de luz absorvida pelas moléculas de hemoglobina é possível medir a concentração de oxigênio no sangue (Kushima, 2014).

A FC pode variar em decorrência de estímulos, neste estudo, o esforço físico. Tais estímulos podem levar à redução da frequência cardíaca por meio do sistema nervoso parassimpático. O contrário acontece por atuação do sistema nervoso simpático, promovendo a elevação da frequência cardíaca (Farah, 2020).

5.2 ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO CORTISOL

Os valores de cortisol obtidos foram avaliados quanto ao coeficiente de variação e a distribuição amostral para a determinação do teste estatístico. Empregando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov dos dados demonstraram-se não paramétricos. Assim, foi aplicado o teste *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's Multiple Comparison* (comparações múltiplas dos períodos na análise intragrupo). Foi considerando intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Os resultados das amostras individuais dos participantes foram apresentados no gráfico 1 abaixo. Ressalta-se que o participante COD 001 realizou somente a coleta da primeira amostra de cortisol.



Fonte: Autoria própria.

A primeira medição (1ª amostra) foi considerada a basal, os dados foram normalizados (com as demais amostras), sendo considerado apenas a variação, ou seja, valor positivo (+) houve aumento do cortisol, negativo (-) diminuição. A normalização nesse caso é recomendada pois cada indivíduo é distinto. Portanto, a variação é considerada relevante e mais indicada nessa análise. Foi observado uma redução do cortisol.

Quando comparadas todas as amostras de cortisol entre si (Tabela 5), observou-se redução significativa entre os valores da amostra 1 com a amostra 4. Na análise do cortisol constatou-se que o maior valor médio ocorreu na primeira amostra

(0,3058 ± 0,1784), seguida da terceira (0,2009 ± 0,2153), segunda (0,1868 ± 0,1416), e quarta (0,1800 ± 0,1456) amostras. Observou-se redução significativa ($p = 0,01$) entre amostras 1 e 4 (Figura 15). Notou-se, também, que o protocolo de estresse resultou em aumento do cortisol, valores nas amostras 3 e 4, embora este aumento não tenha sido estatisticamente significativo.

Embora o estímulo ao estresse físico neste estudo possa ser considerado leve, manifestações subclínicas foram evidenciadas nesta análise que corroboram os estudos científicos cujo aumento de carga geradora de estresse produziu elevação dos níveis de cortisol.

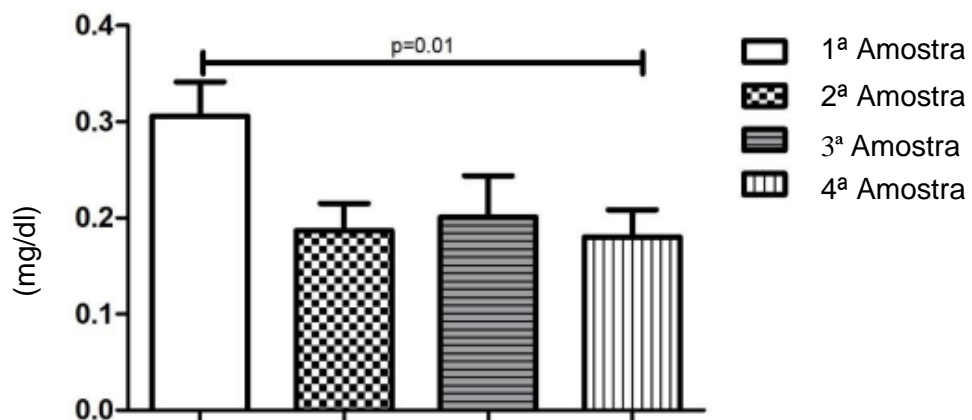
Tabela 5 - Análise da média, desvio-padrão e erro-padrão das amostras de cortisol dos participantes ($n=27$). ($p < 0,05$)

	A1	A2	A3	A4	Vp ^{1.2}	Vp ^{1.3}	Vp ^{1.4}	Vp ^{2.3}	Vp ^{2.4}	Vp ^{3.4}
Média (mg/dl)	0,3058	0,1868	0,2009	0,1800						
Desvio-padrão (mg/dl)	0,1784	0,1416	0,2153	0,1456	>0,05	>0,05	*0,01	>0,05	>0,05	.0,05
Erro-padrão (mg/dl)	0,03568	0,02832	0,04307	0,02855						

Legenda: **A1**=Amostra 1, **A2**= Amostra 2; **A3**= Amostra 3; **A4**= Amostra 4; **Vp^{1.2}**= Valor de p entre amostras 1 e 2; **Vp^{1.3}**= Valor de p entre amostras 1 e 3; **Vp^{1.4}**= Valor de p entre amostras 1 e 4; **Vp^{2.3}**= Valor de p entre amostras 2 e 3; **Vp^{2.4}**= Valor de p entre amostras 2 e 4; **Vp^{3.4}**= Valor de p entre amostras 3 e 4. *=Significativo; **p > 0,05**= Não significativo.

Fonte: Autoria própria

Figura 15 – Análise do Cortisol Salivar.



Fonte: Autoria própria

O estudo revelou redução nos níveis de cortisol entre a primeira e quarta amostra de saliva; portanto, entre os estágios pré e pós-atividade. O protocolo de esforço físico desenvolvido não foi suficiente para produzir resposta positiva no aumento dos níveis de cortisol no organismo dos participantes, como seria esperado conforme resposta fisiológica do organismo diante de situações de estresse, neste estudo, desencadeada pelo esforço físico. Quando comparados os níveis de cortisol entre a primeira e quarta amostras, pode-se levantar a hipótese de que a baixa carga de esforço físico, somado ao período de tempo decorrido para a coleta da quarta amostra pode ter gerado condições para o restabelecimento do estado de homeostase dos participantes.

Contudo, a literatura destaca que as concentrações de cortisol estão relacionadas ao ritmo do ciclo circadiano e, assim, apresentam variações ao longo do dia no organismo. Esse ciclo é representado por elevados níveis do hormônio cortisol ao despertar, com gradual declínio até o período noturno (Juster *et al.* 2011; Abouammoh *et al.*, 2020).

Estudos apontam que o cortisol é considerado excelente biomarcador, demonstrando uma relação positiva entre variações normais da concentração do cortisol e a presença de doenças e distúrbios psíquicos. O estresse psicossocial, crônico ou agudo, mesmo na forma subclínica, em que as manifestações de estresse não estão evidentes, está associado ao aumento nos níveis de cortisol (Mantella *et al.*, 2008; Hellhammer, *et al.*, 2009). Isso porque, mesmo não havendo plena elucidação dos fatores relacionados, estudos comprovam mudanças dos níveis de cortisol em decorrência de alterações dos níveis de estresse (Abouammoh *et al.*, 2020).

5.3 ANÁLISE DAS MEDIDAS DE VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A partir das séries temporais de intervalos RR dos participantes, obtidas por meio do Eletrocardiograma (ECG) e do frequencímetro Polar V800, durante os estágios de repouso e pós-atividade, calculou-se a média e desvio padrão do intervalo RR e da VFC (Tabela 6)

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos intervalos RR e VFC a partir de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800

Variáveis	Eletrocardiograma			Frequencímetro Polar V800		
	Repouso	Pós-atividade	p valor (p < 0,05)	Repouso	Pós-atividade	p valor (p < 0,05)
Média RR	0,84 ± 0,10	0,77 ± 0,09	0,0001	0,84 ± 0,10	0,76 ± 0,12	0,024
STD RR	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,497	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,4276
Média VFC	72,63 ± 9,00	78,64 ± 9,27	0,0001	72,02 ± 8,59	81,48 ± 16,41	0,0185
STD VFC	4,08 ± 1,75	4,37 ± 1,78	0,5347	3,81 ± 1,53	4,83 ± 4,83	0,554

Fonte: Autoria própria

De acordo com os dados presente na tabela 6, foi possível identificar que apenas as variáveis média dos intervalos RR (Média RR) e média da VFC (Média VFC), apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), a partir de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800; enquanto as variáveis desvio padrão dos intervalos RR (STD RR) e desvio padrão da VFC (STD VFC), das séries temporais de intervalos RR obtidas pelos mesmos recursos, não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Para todas as variáveis com diferença estatística foram realizados o teste t pareado.

Observa-se que os resultados obtidos por meio do eletrocardiograma e do frequencímetro polar V800 apresentaram diminuição da média dos intervalos RR e aumento na média da VFC, quando comparados os estágios de repouso e pós-atividade. Isso pode confirmar o comportamento do SNA em condições de estresse físico.

Considerando que a VFC, representa a variação entre os intervalos R-R de batimentos cardíacos, revelando, deste modo, o balanço autonômico entre o sistema simpático e parassimpático, elevada VFC é indicativo de boa adaptação cardíaca; enquanto, o contrário, a baixa VFC representa uma insuficiência na modulação autonômica cardíaca, sugerindo algum estado patológico (Vanderlei, *et al.*, 2009; Oliveira-Silva *et al.*, 2016).

5.3.1 Métodos lineares

Para a análise da VFC de séries temporais, obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800, buscou-se analisar a resposta

do SNA utilizando os métodos lineares de domínio de tempo e de domínio da frequência. O método linear de domínio de tempo tem a finalidade de interpretar as flutuações na duração dos ciclos cardíacos do ECG, por meio de cálculos de índices estatísticos do sinal (Clifford; Azuaje; Mcsharry, 2006), conforme descrito na tabela 7.

Tabela 7 - Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos índices lineares calculados no domínio do tempo de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800

Variáveis (ms)	Eletrocardiograma			Frequencímetro Polar V800		
	Repouso	Pós-atividade	p valor	Repouso	Pós-atividade	p valor
RMSSD	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,1253	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,02	0,0868
NN50	127,2 ± 154,4	89,76 ± 132,0	0,1593	141,4 ± 184,3	106,0 ± 175,8	0,1697
pNN50	13,35 ± 16,76	8,72 ± 12,62	0,1653	15,94 ± 22,01	10,99 ± 18,62	0,1154
HRV_tri_ind	11,70 ± 4,36	10,97 ± 4,39	0,4728	11,94 ± 4,66	10,77 ± 4,95	0,1476
TINN	0,21 ± 0,08	0,22 ± 0,09	0,8157	0,19 ± 0,06	0,19 ± 0,08	0,7242
SDANN	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,5157	0,009 ± 0,010	0,011 ± 0,018	0,9298
SDNN_index	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,1744	0,042 ± 0,02	0,034 ± 0,01	0,0679

Fonte: Autoria própria

Neste estudo, os resultados não revelaram diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) em relação às variáveis analisadas quando comparados os recursos utilizados para obtenção dos sinais cardíacos.

Quanto às variáveis utilizadas para análise, o RMSSD representa a raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças de sucessivos intervalos R-R, ou seja, a média das diferenças entre RR adjacente. Esse parâmetro revela a atividade do sistema nervoso parassimpático e sinaliza as mudanças de intervalos RR consecutivos. Outro parâmetro, o pNN50 corresponde à porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR que são maiores que 50 ms e, reflete a influência parassimpática do SNA. O SDNN representa o desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expressos em ms e o SDANN, o desvio padrão das médias dos intervalos RR normais, a cada cinco minutos, com intervalo de tempo em ms. Os índices SDNN e SDANN representam as atividades simpática e parassimpática na VFC obtidas em registros de longa duração, porém não permitem definir se as alterações são resultantes do aumento do tônus simpático ou da retirada vagal (Sá *et al.*, 2013).

Em resumo, os resultados obtidos (tabela 7) não revelaram diferenças estatísticas significativas quando analisados os valores médios, desvios padrões, e valores de p dos índices lineares calculados no domínio do tempo de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800.

Neumamm, Santos e Andrade (2011), destacaram que a atuação do SNA sobre a FC varia em função do tempo e da intensidade do esforço físico. Assim, a atividade vagal predomina durante estágio de repouso, enquanto em estágio contrário, esta sofre uma redução, seguida de aumento da atividade simpática. Assim, durante exercícios de intensidade progressiva, estas alterações do SNA mostram-se mais evidentes, uma vez que tanto o tempo de exposição e a intensidade estão aumentados durante a atividade. Desse modo, os autores afirmam que, nas condições de estresse, a análise da atividade autonômica por meio da VFC deve considerar o caráter não estacionário da série RR gerada. Tal condição exige a necessidade da aplicação de técnicas de análise tempo-frequência seguras para expressar a resposta de transições da VFC.

Quanto a análise da VFC, utilizando o método do domínio da frequência, os parâmetros obtidos a partir de sinais cardíacos, estão revelados por meio das variáveis reunidas na tabela 8, a seguir:

Tabela 8- Variáveis de domínio de frequência da variabilidade da frequência cardíaca

Domínio de frequência /Variáveis	Unidade de medida	Descrição
HF pico	Hz	Frequência de pico da banda HF
VLF potência	ms ²	Potências absoluta da banda VLF
VLF potência relativa	%	Potências relativa da banda VLF
VLF pico	Hz	Frequência de pico da banda VLF
LF potência	ms ²	Potências absoluta da banda LF
LF pico	Hz	Frequência de pico da banda LF
LF potência relativa	%	Potências relativa da banda LF
LF Potência normalizada	-	Potências normalizada da banda LF
HF potência	ms ²	Potências absoluta da banda HF
HF potência relativa	%	Potências relativa da banda HF
HF Potência normalizada	-	Potências normalizada da banda HF
LF_HF potência	-	Razão entre as potências da banda LF e HF
Potência total	ms ²	Potência total da banda

Fonte: Zena, 2020 (Adaptado).

A partir do tratamento dos sinais cardíacos obtidos por meio do eletrocardiógrafo e do frequencímetro polar V800, pode-se analisar o comportamento das variáveis de análise da VFC, conforme descrito na tabela 9.

Tabela 9: Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos índices lineares calculados no domínio de frequência de séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800

Variáveis	Eletrocardiograma			Frequencímetro Polar V800		
	Repouso	Pós-atividade	p valor	Repouso	Pós-atividade	p valor
VLF pico	0,0065 ± 0,0058	0,0050 ± 0,0055	0,1708	0,0058 ± 0,0049	0,0049 ± 0,0055	0,3398
LF pico	0,0721 ± 0,0282	0,0747 ± 0,0322	0,7606	0,0724 ± 0,0262	0,0722 ± 0,0302	0,9696
Welch.HF pico	0,2906 ± 0,0502	0,2686 ± 0,0708	0,1324	0,2898 ± 0,0413	0,2676 ± 0,0719	0,2221
Welch.VLF pico	0,0009 ± 0,0007	0,0008 ± 0,0007	0,6694	0,0008 ± 0,0007	0,0007 ± 0,0008	0,3918
VLF pot. relativa	48,28 ± 14,16	51,73 ± 13,32	0,1426	48,36 ± 13,40	51,36 ± 16,30	0,3078
LF potência	0,0004 ± 0,0004	0,0004 ± 0,0004	0,4847	0,0004 ± 0,0004	0,0003 ± 0,0003	0,3135
LF pot. relativa	24,35 ± 10,00	27,02 ± 10,07	0,2022	22,47 ± 7,810	25,20 ± 11,27	0,3713
LF pot. normal.	49,26 ± 19,84	56,98 ± 18,08	0,0247	46,33 ± 20,27	54,49 ± 19,79	0,1949
HF potência	0,0005 ± 0,0007	0,0004 ± 0,0006	0,2105	0,0006 ± 0,0009	0,0004 ± 0,0007	0,1696
HF pot. relativa	27,28 ± 13,06	21,22 ± 10,37	0,0060	29,06 ± 13,33	23,39 ± 13,95	0,1867
HF pot. normal.	50,57 ± 19,75	42,96 ± 18,07	0,0251	53,46 ± 20,14	45,41 ± 19,76	0,1985
LF_HF potência	1,674 ± 2,359	2,232 ± 2,682	0,1456	1,669 ± 2,698	1,953 ± 2,107	0,1276
Potência total	0,002 ± 0,0018	0,001 ± 0,001	0,4040	0,002 ± 0,002	0,001 ± 0,001	0,3198

Fonte: Autoria própria

No presente estudo, ao analisar a VFC pelo método do domínio da frequência, foi possível identificar que somente as variáveis potências normalizadas da banda LF (LF_power_nu), potências relativas da banda HF (HF_power_prc) e potências normalizada da banda HF (HF_power_nu) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), conforme mostra a tabela 10 acima. Os resultados apontam para predominância da atividade simpática em LF e parassimpática em HF no estágio pós-atividade a partir dos sinais obtidos por meio do eletrocardiograma.

A relação LF / HF apresentou média ± desvio padrão $1,8 \pm 2,4$ no estágio de repouso e $2,2 \pm 2,7$ na fase pós-atividade, a partir do sinal coletado por meio do eletrocardiograma e $1,7 \pm 2,7$, quando no repouso e $1,9 \pm 2,1$, no pós-atividade, pelo frequencímetro polar V800, mas valor de $p\text{-valor} = 0,1456$ e $0,1276$, respectivamente, no eletrocardiograma e frequencímetro, portanto, insignificante estatisticamente.

Geralmente, as medidas dos componentes espectrais são expressas em valores absolutos de potência (ms^2), sendo que os valores de HF e LF, também, podem ser apresentados em unidades normalizadas/nu (*normalized*) correspondendo ao valor de cada um em relação à potência total (total power – TP) menos o componente de VLF (Rassi Jr, 2005).

No estudo desenvolvido por Burr (2007), este afirma que os índices variabilidade espectral da frequência cardíaca (VFC) normalizada (baixa frequência/LF unidades normalizadas) e alta frequência/HF unidades normalizadas) são usualmente aplicadas em estudos de pesquisa do sono para quantificar a modulação dos ramos simpático e parassimpático do SNA.

5.3.2 Métodos não - lineares

Segundo Roy e Ghatak (2013), os métodos não-lineares de análise da VFC são aplicados para quantificar características dos sinais cardíacos que não podem ser identificadas através de métodos lineares. Os autores destacam que medidas não lineares são mais sensíveis quando comparadas com medidas lineares na detecção de mudanças sutis nas propriedades intrínsecas da dinâmica da FC; isso porque as medidas não-lineares foram desenvolvidas para quantificar propriedades qualitativas da dinâmica da frequência cardíaca e, não, quantitativas, como os domínios de tempo e de frequência.

A Tabela 10, reúne os resultados dos dados referentes aos parâmetros não lineares de análise das séries temporais. Em virtude da dinâmica não linear do coração, os parâmetros de domínio da frequência da VFC podem não representar sempre as características não-estacionárias do ECG. Desse modo, métodos não-lineares, como o *plot* de Poincaré, a Entropia Aproximada (ApEn), Entropia Amostral (SampEn) e a Análise das flutuações depuradas de tendências (DFA) representam métodos mais apropriados para identificar padrões não-lineares dos dados do ECG.

Tabela 10- Valores médios, seguidos dos respectivos desvios padrões, e valores de p dos parâmetros não lineares de análise das séries temporais obtidas por meio de eletrocardiograma (ECG) e frequencímetro Polar V800

Variáveis	Eletrocardiograma			Frequencímetro Polar V800		
	Repouso	Pós-atividade	p-valor	Repouso	Pós-atividade	p-valor
Poincare_SD1	0,023 ± 0,013	0,019 ± 0,011	0,125	0,026 ± 0,019	0,020 ± 0,016	0,086
Poincare_SD2	0,058 ± 0,024	0,057 ± 0,025	0,620	0,056 ± 0,024	0,054 ± 0,025	0,488
ApEn	1,415 ± 0,190	1,348 ± 0,187	0,130	1,440 ± 0,197	1,343 ± 0,287	0,099
SampEn	1,579 ± 0,307	1,446 ± 0,265	0,019	1,646 ± 0,323	1,475 ± 0,375	0,071
DFA.α1	0,980 ± 0,308	1,099 ± 0,256	0,028	0,941 ± 0,326	1,039 ± 0,2646	0,293
DFA.α2	0,955 ± 0,136	0,940 ± 0,146	0,6204	0,967 ± 0,129	0,972 ± 0,144	0,912
RPA.Lmin	2,000 ± 0,00	2,000 ± 0,00	-	2,00 ± 0,0	2,000 ± 0,0	-

RPA.Lmax	391,8 ± 259,3	551,3 ± 317,4	0,0679	351,5 ± 291,0	571,2 ± 317,8	0,019
RPA.Lmean	12,16 ± 3,826	13,52 ± 3,581	0,0877	11,43 ± 3,80	16,77 ± 20,07	0,080
RPA.DIV	0,0039±0,0032	0,002 ± 0,001	0,0663	0,005 ± 0,004	0,0027 ± 0,0023	0,019
RPA.REC	0,328 ± 0,076	0,365 ± 0,057	0,0079	0,302 ± 0,079	0,357 ± 0,063	0,018
RPA.DET	0,977 ± 0,013	0,984 ± 0,009	0,0653	0,973 ± 0,015	0,982 ± 0,010	0,042
RPA.ShanEn	3,247 ± 0,308	3,382 ± 0,276	0,0166	3,166 ± 0,319	3,374 ± 0,366	0,051

Fonte: Autoria própria

Os dados da Tabela 10 revelaram que não houve significância estatística em SD1 e SD2 nos estágios de repouso e pós-atividade, tanto nos sinais obtidos por meio do eletrocardiograma, p (SD1) = 0,125 e p (SD2) = 0,620, quanto pelo frequencímetro polar V800 p (SD1) = 0,086 e p (SD2) = 0,488.

Considerando que, segundo Vanderlei *et al.*, (2009) e Ciccone *et al.*, (2017), os índices SD1 caracterizam a variabilidade momentânea e sofrem influência, principalmente, da atividade parassimpática do SNC, enquanto os índices SD2, representam a variabilidade a longo prazo dos intervalos RR e refletem a influência de ambos os tónus simpático e parassimpático, nesse estudo, como não houve alteração significativa nos índices de SD1 e SD2, não foram verificadas respostas de atividade simpática e parassimpática significativas.

No entanto, os índices de SD1 e SD2 dos sinais cardíacos obtidos por meio do eletrocardiograma e do frequencímetro, quando comparado os estágios de repouso e pós-atividades, observou-se discreta diminuição nos estágios de pós atividade de ambas as variáveis analisadas. Isso revela indicativos importantes, considerando que a diminuição da atividade parassimpática está relacionada à ocorrência de maior risco de morbimortalidade por todas as causas (Thayer; Yamamoto; Brosschot, 2010).

Outro método para identificar padrões não-lineares de sinais cardíacos, nesse estudo obtidos por meio do ECG e frequencímetro polar V800, é a Entropia Aproximada (ApEn). Esta está relacionada, segundo Yentes *et al.*, 2013, com o grau de informações contidas em uma série temporal, ao longo de um período.

Inicialmente, aplicado por Pincus (1991), para quantificação da complexidade em dados de séries temporais clínicos, a partir da aplicabilidade em conjuntos de dados considerados curtos e ruidosos.

Segundo Pincus e Viscarello (1992), elevados valores de ApEn, revelam elevada complexidade do sistema e, portanto, maior variabilidade. Contudo, neste estudo, não foi verificada significância estatística nos valores de p na ApEn

comparando os estágios de atividade e pós-atividade na análise dos sinais cardíacos obtidos por meio do eletrocardiógrafo e frequencímetro. No entanto, outros estudos revelaram que a ApEn pode ser uma ferramenta não-linear útil para análise de sinais biológicos na prática clínica (Anier *et al.*, 2012; Yentes *et al.*, 2013).

Sobre a Entropia Amostral (SampEn), esta foi, inicialmente, introduzida por Richman e Moorman (2000) como forma de corrigir as deficiências resultantes dos vieses encontrados nos algoritmos da ApEn e descrita como o logaritmo natural negativo da probabilidade de que uma sequência de comprimento m de um sinal, $x(n)$, permaneça semelhante, dentro de uma determinada tolerância, r , à sequência de comprimento $(m + 1)$. Os autores revelaram que a Entropia Amostral pode proporcionar uma melhor avaliação da regularidade da série temporal, sugerindo ser uma técnica importante em estudos sobre a dinâmica da fisiologia cardiovascular humana.

Neste estudo, na tabela 11, a SampEn mostrou-se estatisticamente significativa ($p = 0,019$) na análise dos sinais biológicos obtidos pelo eletrocardiógrafo; enquanto, o contrário ocorreu no sinal obtido por meio do frequencímetro ($p = 0,071$). Outro dado é que a média e desvio padrão da SampEn tiveram valores diminuídos no estágio de pós-atividade de ambos os recursos de obtenção dos sinais biológicos.

SampEn e ApEn tem as mesmas características, com a diferença de que a SampEn tem resultados mais consistentes. Ambas possibilitam avaliar o aumento da entropia e considera-se que quanto maior o valor da entropia, mais irregular é a série temporal. Assim como a ApEn, a SampEn é uma medida útil para fenômenos de baixa dimensão (Silva, 2013).

A Análise das flutuações depuradas de tendências (DFA) é aplicada para quantificar a presença ou ausência da propriedade de correlação fractal entre os intervalos RR em uma série temporal e está relacionada à característica espectral do comportamento frequência cardíaca. Em cada segmento, os expoentes de escala de curto prazo (α_1), 4-11 batimentos, e de expoentes de escala de longo prazo (α_2), > 11 batimentos, são avaliados pela análise da DFA. A análise de DFA total quantifica as propriedades fractais da série temporal. São classificados como comportamento caótico da frequência cardíaca quando os valores são próximos a 1,0; valores próximos a 1,5 indicam linearidade e tendendo a 0,5, aleatoriedade (Fukuta *et al.*, 2003).

Neste estudo, os valores médios de DFA α 1 e DFA α 2, estão próximos de 1,0 nos estágios de repouso e pós-atividade, na análise dos sinais cardíacos obtidos tanto no eletrocardiograma, como no frequencímetro polar V800. Além disso, verificou-se significância estatística ($p = 0,028$) em DFA α 1, no sinal obtido no eletrocardiograma, refletindo maior influência parassimpática.

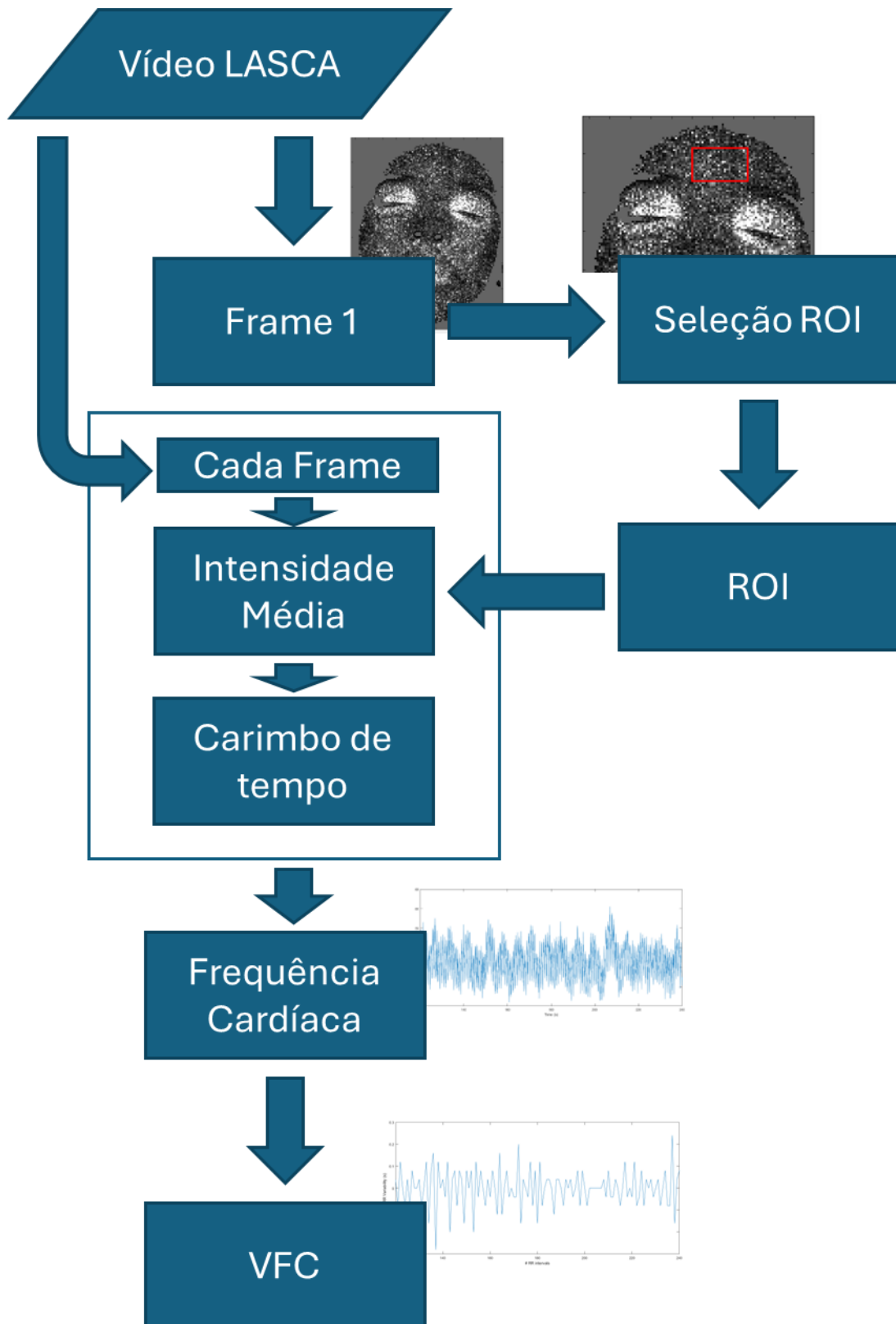
5.4 APLICAÇÃO DA TÉCNICA *LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA)*

O uso do *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)* para análise do fluxo sanguíneo em uma variedade de tecidos humanos tem avançado nas pesquisas e contribuído para o desenvolvimento de métodos mais simples, de menor custo e não invasivos de monitoramento das condições cardiovasculares de indivíduos na prática clínica. O uso do *LASCA* permite visualizar, facilmente, em tempo real, a microcirculação em uma área em análise, sem a necessidade de interrupção do procedimento, com rapidez e economia de tempo (Dunn, 2012).

Simultaneamente à coleta do vídeo *LASCA*, sinais cardíacos foram por meio do eletrocardiograma e frequencímetro Polar V800 permitindo a captação dos impulsos elétricos do coração e detecção dos intervalos RR durante a execução do teste, possibilitado a análise da VFC por este método.

Um algoritmo para análise dos vídeos obtidos pela técnica *LASCA* foi desenvolvido e implementado nesse trabalho. O fluxograma desse algoritmo está apresentado na figura 16.

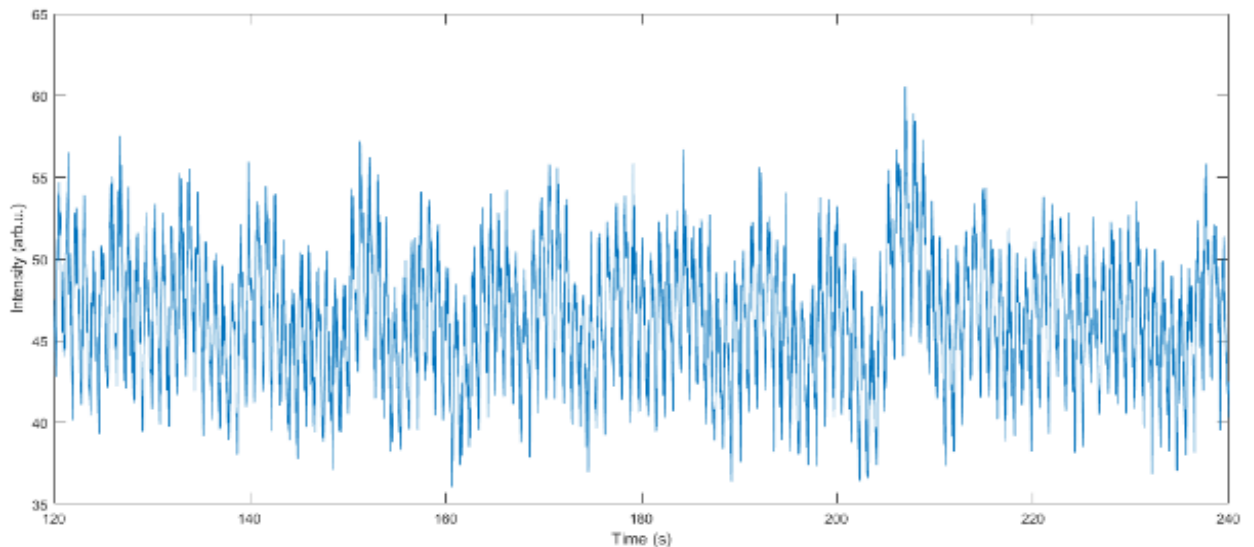
Figura 16 - Algoritmo de análise dos vídeos *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA) para medição da VFC



Fonte: Autoria própria.

Dentro da ROI a intensidade média do sinal foi computada em cada frame da imagem, obtendo assim uma série temporal da variação do fluxo sanguíneo devido a pulsação de forma não-invasiva e sem contato (figura 17). A partir deste sinal, a frequência cardíaca é medida e, em seguida, a VFC é computada pela variação da frequência de intervalos de picos consecutivos. Assim a VFC foi obtida a partir da análise da microcirculação na pele utilizado a técnica LASCA.

Figura 17 - Representação do padrão de pulsação obtido a partir do vídeo gerado na análise de área selecionada para aplicação do *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)*



Fonte: Autoria própria.

Os resultados da VFC foram processados seguindo os mesmos procedimentos utilizado para análise do ECG. Os resultados desse processamento dos sinais estão reunidos na tabela 11.

Tabela 11 - Medidas lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca e aplicação da técnica do *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)*

Aplicação do <i>Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)</i>				
	Variáveis	Repouso	Pós-atividade	p-valor
Domínio do tempo	mean_RR (ms)	862,3 ± 85,21	817,5 ± 92,05	0,0867
	std_RR (ms)	58,63 ± 23,45	57,39 ± 20,57	0,9918
	mean_HRV (ms)	70,60 ± 6,866	74,67 ± 8,118	0,0676
	std_HRV (ms)	4,895 ± 1,959	5,213 ± 1,874	0,4642
	RMSSD (ms)	67,74 ± 25,16	64,68 ± 22,46	0,7182
	NN50	339,7 ± 138,4	331,2 ± 151,2	0,0001
	pNN50 (%)	35,97 ± 15,98	33,42 ± 15,57	0,5773
Domínio de Frequência	VLF_pico (Hz)	0,0083 ± 0,0081	0,0042 ± 0,0055	0,0063
	LF_pico (Hz)	0,0792 ± 0,0379	0,0817 ± 0,0293	0,4504
	HF_pico (Hz)	0,2677 ± 0,0582	0,2357 ± 0,0731	0,0989
	VLF_potência (ms ²)	1008 ± 958,0	899,3 ± 727,0	0,8771
	VLF_p. relativa (%)	33,87 ± 10,36	33,86 ± 10,31	0,9987
	LF_potência (ms ²)	812,1 ± 935,3	766,5 ± 730,5	0,7966
	LF_p. relativa (%)	24,45 ± 5,859	26,20 ± 6,498	0,3249
	LF_p._normalizada	36,97 ± 6,698	39,48 ± 6,645	0,1722
	HF_potência (ms ²)	1188 ± 1093	1080 ± 952,0	0,7182
	HF_p. relativa (%)	41,43 ± 7,847	39,68 ± 7,225	0,403
	HF_p._normalizada	62,66 ± 6,676	60,12 ± 6,579	0,1652
	LF_HF_potência	0,607 ± 0,175	0,675 ± 0,180	0,162
	Potência total (ms ²)	3015 ± 2893	2752 ± 474,4	0,9589
Parâmetros não lineares	Poincare_SD1 (ms)	47,93 ± 17,80	45,76 ± 15,89	0,7182
	Poincare_SD2 (ms)	67,35 ± 28,57	66,82 ± 24,86	0,8771
	ApEn	1,474 ± 0,1053	1,447 ± 0,1390	0,439
	SampEn	1,567 ± 0,2386	1,531 ± 0,3025	0,6434
	DFA.α1	0,7103 ± 0,0842	0,719 ± 0,719	0,6391
	DFA.α2	0,8165 ± 0,1306	0,748 ± 0,091	0,0506

Fonte: Autoria própria

De acordo com os dados presente na tabela 11, foi possível observar que as variáveis, no domínio de tempo, média dos intervalos RR (mean RR) e desvio padrão de intervalos RR (std_RR) tiveram discreta diminuição; em contrapartida, a média (mean HRV) e desvio padrão (std_HRV) da VFC apresentaram ligeiro aumento, quando comparados os estágios de repouso e pós-atividade. Isso aponta para a influência do sistema parassimpático como mecanismo de manutenção da homeostase e, portanto, indicativo de boa adaptação cardíaca. Contudo, nenhuma dessas variáveis mostraram valor de p-valor com significância estatística. Ressalta-se

que apenas a variável intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms (NN50) apresentou valor de p-valor estatisticamente significativo ($p = 0,0001$).

A avaliação da VFC tem sido um recurso auxiliar utilizado com objetivo de diagnosticar desordens físicas e psicológicas. Em medicina do esporte, por exemplo, é geralmente utilizada para avaliar as adaptações relacionadas com treinamento de resistência (Tulppo., *et al.*, 2003).

A prática regular de atividade física tem se mostrado um fator de incremento no tônus vagal devido às adaptações fisiológicas ocorridas pelo aumento do trabalho cardíaco. Assim, a elevação da modulação parassimpática é responsável por uma estabilidade elétrica do coração, ao passo que a atividade simpática elevada aumenta a vulnerabilidade do coração e o risco de eventos cardiovasculares (Novais *et al.*, 2004; Brunetto *et al.*, 2005).

Em condições de maior demanda de aporte de oxigênio, durante o esforço físico, por exemplo, o organismo responde com aumento do fluxo sanguíneo pulmonar, vasodilatação coronariana, vasodilatação dos músculos esqueléticos, levando ao aumento do fluxo sanguíneo para a pele. Isso resulta em aumento na perfusão periférica equivalente à velocidade dos movimentos dos elementos do sangue.

No domínio da frequência, não foram encontrados valores de p estatisticamente significativos, exceto para a variável potência VLF ($p = 0,0063$), conforme mostra tabela 11.

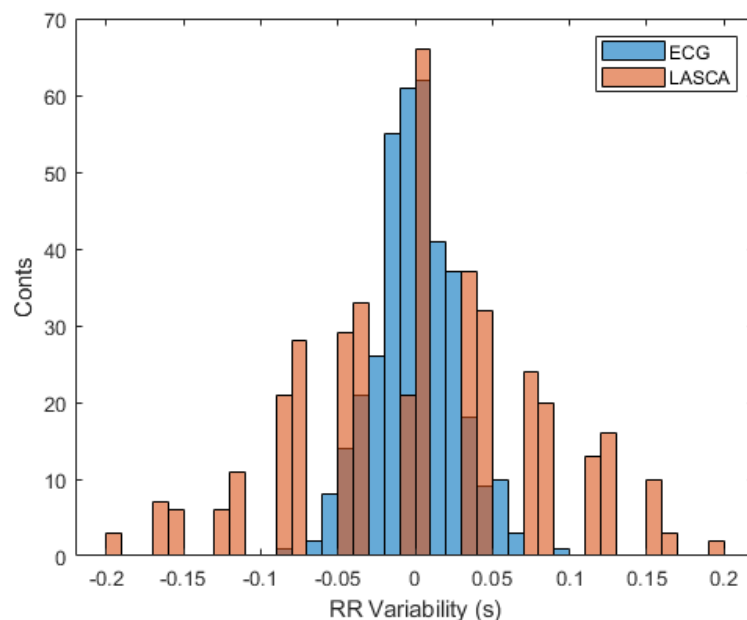
Os resultados tenderam para predominância de atividade simpática em LF e parassimpática em HF no estágio pós-atividade a partir dos sinais obtidos.

Quanto aos parâmetros não lineares, os dados da tabela 11 revelaram que não houve significância estatística em SD1 e SD2, nos estágios de repouso e pós-atividade, $p = 0,7182$ e $p = 0,8771$, respectivamente; e, por isso, não foram verificadas respostas de atividade simpática e parassimpática significativas. No entanto, de acordo com a análise dos índices de SD1 e SD2, quando comparado os estágios de repouso e pós-atividades, observou-se discreta diminuição nos estágios de pós-atividade de ambas as variáveis analisadas. Isso aponta para indicativos importantes, considerando que a diminuição da atividade parassimpática está relacionada à risco de morbimortalidade, por todas as causas, aumentado (Thayer; Yamamoto; Brosschot, 2010).

Em relação à Entropia Aproximada (ApEn) e a Entropia Amostral (SampEn), os resultados apresentaram-se, praticamente, sem variações do estágio de repouso para pós-atividade. Semelhante resultado, em relação à análise das flutuações depuradas de tendências (DFA), os valores de p de DFA α 1 e DFA α 2 não mostraram significância estatística ($p = 0,6391$ e $p = 0,0506$), respectivamente.

Os valores de VFC obtidos pela técnica LASCA foram comparados com o sinal adquirido pelo ECG (figura 18).

Figura 18- Histograma comparativo da variabilidade da frequência cardíaca obtida pelo eletrocardiograma e técnica LASCA



Fonte: Autoria própria.

Observa-se que os valores de VFC obtidos pelo método LASCA apresentam uma distribuição mais larga em comparação com o resultado obtido pelo método referência (eletrocardiograma). Além disso, o histograma apresenta alguns intervalos igualmente espaçados que não possuem contagens, o que pode estar relacionado com a diferença na taxa de aquisição do sinal

No entanto, o método desenvolvido apresentou resultado consistente tanto na obtenção da pulsação quanto da VFC, mas ainda apontando para a necessidade de mais estudos utilizando esta técnica.

5.5 CORRELAÇÃO ENTRE APLICAÇÃO DA TÉCNICA DO *LASER SPECKLE CONTRAST ANALYSIS (LASCA)* E OS MÉTODOS CONVENCIONAIS DE ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.

Os dados foram avaliados quanto ao coeficiente de variação e a distribuição amostral para a determinação do teste estatístico. Realizou-se a análise estatística com o emprego do programa *GraphpadPrism V, GraphPad Software, California, USA*, empregando-se o teste de *Shapiro-Wilk (normality test)* e, para a análise da distribuição dos dados, posteriormente, foi utilizado o teste de *Spearman (rS)* para análise das correlações entre variáveis quantitativas e/ou qualitativas. Foi considerado intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

A comparação entre os métodos de análise LASCA e convencionais de VFC, (tabela 11), ressalta a sensibilidade aprimorada do LASCA na detecção de variações sutis na autonômica função. Os métodos lineares convencionais, embora úteis, muitas vezes não conseguem capturar os aspectos complexos e não lineares. A capacidade da LASCA de fornecer *insights* detalhados nessas interações o torna uma ferramenta valiosa para avaliação de estresse e outras aplicações.

Desse modo, a aplicabilidade da técnica LASCA na avaliação do estresse mostrou-se comprovada, neste estudo, corroborando outros estudos que revelaram potencialidades da aplicação da técnica LASCA na análise de outros processos fisiológicos, como a atividade microvascular e fluxo sanguíneo no organismo (Heeman *et al.*, 2019; Pion *et al.*, 2021).

Além disso, as alterações observadas no sistema renina-angiotensina-aldosterona, termorregulação e tônus vasomotor periférico destacam o amplo impacto fisiológico do protocolo de estresse. Estas alterações apoiam ainda mais a utilidade do LASCA no fornecimento de uma avaliação abrangente das respostas fisiológicas ao estresse.

Sendo assim, este estudo demonstrou a eficácia da técnica LASCA em capturar mudanças detalhadas na VFC que não são discerníveis através de métodos convencionais. A capacidade de detectar respostas autonômicas sutis ao estresse ressalta o potencial do LASCA para aplicações clínicas e de pesquisa avançadas.

Estudos futuros devem explorar a aplicação de LASCA em vários cenários de estresse e condições clínicas para validar ainda mais sua utilidade e melhorar nossa compreensão da regulação autonômica. A integração do LASCA com análises

convencionais de VFC proporciona uma experiência mais imagem completa das respostas autonômicas ao exercício físico e ao estresse, oferecendo uma visão robusta estrutura para pesquisas futuras e prática clínica. Ao aproveitar os pontos fortes de ambos os métodos linear e métodos não lineares, podemos alcançar uma compreensão mais profunda dos mecanismos complexos VFC subjacente e suas implicações para a saúde e a doença.

6 CONCLUSÃO

A técnica *Laser Speckle Contrast Analysis* (LASCA) representa uma tecnologia que tem crescido no campo das pesquisas como uma ferramenta óptica inovadora de baixo custo, fácil aplicação, não invasiva e com resultado imediato, por meio de imagens em tempo real, capaz de analisar as condições da microcirculação periférica do organismo. Neste estudo, a técnica LASCA foi aplicada para analisar as alterações fisiológicas que indicam estado de estresse induzido por esforço físico. Para isso foi desenvolvido e implementado um algoritmo de análise dos vídeos LASCA produzidos para a determinação da frequência cardíaca e da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) a partir da comparação com sinais cardíacos produzidos por meio do eletrocardiograma e frequencímetro polar. Com a análise do vídeo produzido a partir da técnica óptica LASCA foi possível obter um perfil da pulsação para cálculo da VFC. Em comparação com os resultados alcançados pelo ECG e frequencímetro Polar V800, os valores de VFC obtidos pelo método LASCA apresentaram equivalência com as técnicas convencionais. O método desenvolvido revelou-se como um método promissor para identificar de forma não-invasiva e sem contato resultado consistente tanto na obtenção da pulsação quanto da VFC. Sendo assim, este estudo demonstrou a eficácia da técnica LASCA em capturar mudanças detalhadas na VFC que não são discerníveis através de métodos convencionais. A capacidade de detectar respostas autonômicas sutis ao estresse ressalta o potencial do LASCA para aplicações clínicas e de pesquisa avançadas. Contudo, o estudo teve algumas limitações como a dificuldade em obter a anuência dos participantes para o desenvolvimento do protocolo de coleta de dados em virtude do período da pandemia da Covid 19. Além disso, a ampliação do tempo de exposição ao estímulo gerador de estresse poderá proporcionar resultados mais consistentes. Para finalizar, estudos futuros devem explorar a aplicação da técnica LASCA em vários cenários de estresse e condições clínicas para validar, ainda mais, a aplicabilidade do método e ampliar a compreensão da regulação autonômica.

REFERÊNCIAS

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Diretrizes brasileiras de obesidade** 2016. 4. ed. São Paulo, SP: ABESO, 2016.

ABOUAMMOH, N.; IRFAN, F.; ALFARIS, E. Stress coping strategies among medical students and trainees in Saudi Arabia: A qualitative study. **BMC Medical Education**, v. 20, 2020, p. 124. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32321498/>. Acesso em: 22 jun. 2024.

AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEL, F. A.; et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuations: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**, v. 213, 1981.

ANIER, A. et al. Relationship between approximate entropy and visual inspection of irregularity in the EEG signal, a comparison with spectral entropy. **British Journal of Anaesthesia**, Londres, v. 109, n. 6, p. 928-934, dez. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bja/aes312>. Acesso em: 30 ago. 2022.

ARAUJO, C. G.; LAUKKANEN, J. A. Músculo cardíaco e músculo esquelético conectados pelo sistema nervoso autônomo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 112, n. 6, p. 747-748, jun. 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2019000600747&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 22 jul. 2019. Epub em: 15 jul. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20190097>.

AYKUT, G. et al. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. **Intensive Care Medicine Experimental**, v. 3, n. 1, p. 40, dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40635-015-0040-7>. Acesso em: 22 jul. 2019.

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BENTO, L.; FONSECA-PINTO, R.; POVOA, P. Monitorização do sistema nervoso autônomo em ambiente de cuidados intensivos como ferramenta de prognóstico. Revisão sistemática. **Rev. bras. ter. intensiva**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 481-489, Dec. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-507X2017000400481&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 25 jul. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-507x.20170072>.

BIEDRZYCKA, A.; LANGO, R. Tissue oximetry in anaesthesia and intensive care. **Anaesthesiology Intensive Therapy**, v. 48, n. 1, p. 41-48, 2016. DOI: 10.5603/AIT.2016.0005. PMID: 26966109.

BITTENCOURT, et al. Avaliação da função autonômica na cardiomiopatia hipertrófica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, n. 6, p. 388-396, 2005.

BOAS, D. A.; DUNN, A. K. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. **Journal of Biomedical Optics**, v. 15, n. 1, p. 011109, 2010. DOI: 10.1117/1.3285504.

BOFF, S. R.; OLIVEIRA, A. G. Aspectos fisiológicos do estresse: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 17, p. e82101723561, 21 dez. 2021.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n.º 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 dez. 2012. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html.

BRIERS, J. D. et al. Laser speckle contrast imaging: theoretical and practical limitations. **Journal of Biomedical Optics**, June 2013, v. 18, n. 6. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.066018>.

BURR, R. L. Interpretação dos índices de variabilidade espectral da frequência cardíaca normalizados na pesquisa do sono: uma revisão crítica. **Sono**, v. 30, n. 7, p. 913-919, 2007.

CAMINAL, P. et al. Validity of the Polar V800 monitor for measuring heart rate variability in mountain running route conditions. **European Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 3, p. 669-677, 2018. DOI: 10.1007/s00421-018-3808-0.

CASTRO, P. et al. Utilização de cardiofrequencímetros para mensuração da Variabilidade da Frequência Cardíaca no repouso: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e575101120026, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.20026>.

CATAI, A. M. et al. Heart rate variability: are you using it properly? Standardisation checklist of procedures. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 24, n. 2, p. 91–102, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2019.02.006>.

CAYRES, M. R. et al. Prática esportiva está relacionada à atividade parassimpática em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 174-180, 2015.

CAZELATO, L.; RODRIGUES, P. H.; QUITÉRIO, R. J. Heart rate responses to resistance exercise and its relation to the heart rate variability in individuals with risk factors for cardiovascular diseases. **Rev. Aten. Saúde**, São Caetano do Sul, v. 16, n. 55, p. 21-28, jan./mar. 2018. DOI: 10.13037/ras.vol16n55.4674.

CICCONE, A. B. Reminder: RMSSD and SD1 are identical heart rate variability metrics. **Muscle Nerve**, 2017, 10 jan. DOI: 10.1002/mus.25573. [Epub ahead of print].

CLIFFORD, G. D.; AZUAJE, F.; MCSHARRY, P. **Advanced methods and tools for ECG data analysis**. 1. ed. Londres: Artech House, 2006.

COHEN, S.; KARMACK, T.; MERMELSTEIN, R. A global measure of perceived stress. **Journal of Health and Social Behavior**, v. 24, n. 4, p. 385-396, 1983.

CORDOVIL, I. et al. Avaliação da função endotelial microvascular sistêmica por meio de imagem por contraste a laser. **Microvascular Research**, v. 83, p. 376-379, 2012. DOI: 10.1016/j.mvr.2012.01.004.

CORRÊA, R. Z. A.; SOUZA, M. S. de; BAPTISTA, M. N. Vulnerabilidade ao estresse no trabalho e qualidade de vida de enfermeiros. **Psicologia Argumento**, [S. l.], v. 31, n. 75, 2013. DOI: 10.7213/psicol.argum.31.075.DS02. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/psicologiaargumento/article/view/19809>. Acesso em: 8 out. 2024.

CYGANKIEWICZ, I.; ZAREBA, W. **Heart rate variability**. 1st ed. Elsevier B.V., 2013.

DELLA ROSSA, A. et al. A alteração da microcirculação é uma marca registrada de pacientes com esclerose sistêmica muito precoce: uma análise de contraste de speckle a laser. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 31, n. 2 Supl. 76, p. 109-114, 2013.

DUNN, A. K. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 40, n.2, p. 367-377, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10439-011-0469-0>.

DUNN, A. K.; BOLAY, H.; MOSKOWITZ, M. A.; BOAS, D. A. Imagem dinâmica do fluxo sanguíneo cerebral usando manchas de laser. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 21, p. 195-201, 2001. DOI: 10.1097/00004647-200103000-00002.

ERIKSSON, S. et al. Laser speckle contrast imaging for intraoperative assessment of liver microcirculation: a clinical pilot study. **Medical Devices (Auckland, N.Z.)**, v. 7, p. 257-261, 2014.

FARAH, B. Q. Variabilidade da Frequência Cardíaca como Indicador de Risco Cardiovascular em Jovens. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 1, p. 59–60, jul. 2020.

FLORENTINO, S. et al. Qualidade de vida no trabalho e estresse ocupacional: uma análise junto a profissionais do setor de tecnologia da informação. **Revista Perspectivas Contemporâneas**, v. 10, n. 1, p. 104-125, 2015. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/perspectivascontemporaneas/article/view/1190>. Acesso em: 01 nov. 2018.

FUKUTA, H. et al. Prognostic value of nonlinear heart rate dynamics in hemodialysis patients with coronary artery disease. **Kidney International**, v. 64, n. 2, p. 641-648, 2003. Disponível em: [https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(15\)54755-5/fulltext](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(15)54755-5/fulltext).

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. São Paulo: Editora Atlas SA, 2008.

GILES, D.; DRAPER, N.; NEIL, W. Validity of the Polar V800 heart rate monitor to measure RR intervals at rest. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 3, p. 563-571, 2016. DOI: 10.1007/s00421-015-3303-9.

GOMES, L. A. et al. Stress and cardiovascular risk: multi-professional intervention in health education. **Revista Brasileira de Enfermagem**, [S. l.], v. 69, n. 2, p. 329-336, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167.2016690219i>.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HEEMAN, W. et al. Clinical applications of laser speckle contrast imaging: a review. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 8, p. 080901, 5 ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.8.080901>.

HELLHAMMER, D. H.; WUST, S.; KUDIELKA, B. M. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. 2, p. 163-171, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.10.001>.

HOSHI, R. A. et al. Poincaré plot indexes of heart rate variability: Relationships with other nonlinear variables. **Autonomic Neuroscience**, v. 177, n. 2, p. 271–274, out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2013.05.004>.

INDUMED. Colocação de eletrodos de ECG multi-derivação. **Indumed**, 2022. Disponível em: <https://indumed.com.br/colocacao-de-eletrodos-de-ecg-multi-derivacao/>.

JACKSON, M. Evaluating the role of Hans Selye in the modern history of stress. In: CANTOR, D.; RAMSDEN, E. (Eds.). **Stress, shock, and adaptation in the twentieth century**. Rochester (NY): University of Rochester Press, 2014. Capítulo 1. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK349158/>.

JUSTER, R. P. et al. A clinical allostatic load index is associated with burnout symptoms and hypocortisolemic profiles in healthy workers. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 6, p. 797-805, 2011.

KAYSER, C.; CORRÊA, M. J. U.; ANDRADE, L. E. C. Fenômeno de Raynaud. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 49, n. 1, p. 48–63, fev. 2009.

KAZMI, S. M. S. et al. Expanding applications, accuracy, and interpretation of laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, 2015, p. 1076-1084.

KHALI, A. Processing of laser speckle contrast images: study of mathematical models and use of nonlinear analyses to investigate the impact of aging on microvascular blood flow. **Signal and Image Processing**. Université d'Angers, 2017. Inglês. (NNT: 2017ANGE0006). Disponível em: <https://hal.science/tel-01585243/>.

KOCH, M. O.; BIAZI, R. J.; BENEDETTO, C. D. Estresse em docentes: um estudo comparativo entre uma Instituição de Ensino Superior Pública e uma Instituição de

Ensino Superior Privada na Cidade de Toledo-Pr. **Revista Uningá Review**, v. 21, n. 1, p. 17-23, 2015.

KUSHIMA, M. A. **Oxímetro de pulso para medição da oxigenação periférica e pulsação cardíaca com interface via Web**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Computação) – Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, 2014.

LOPES, J. M. et al. Aplicabilidade clínica da variabilidade da frequência cardíaca. **Revista Neurociências**, v. 21, n. 4, p. 600-603, 2013.

LUPIEN, S. J. et al. The effects of stress and stress hormones on human cognition: implications for the field of brain and cognition. **Brain and Cognition**, Vancouver, v. 65, n. 3, p. 209-237, dez. 2007.

MANTELLA, R. C. et al. Salivary cortisol is associated with diagnosis and severity of late-life generalized anxiety disorder. **Psychoneuroendocrinology**, v. 33, n. 6, p. 773-781, 2008.

MARÃES, V. R. F. S. Frequência cardíaca e sua variabilidade: análises e aplicações. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 3, n. 1, 2010.

MATSUDO, S. M. et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v. 10, p. 5-18, 2001.

MENEZES, et al. Uso do índice de perfusão para avaliar reatividade microvascular no choque séptico após ressuscitação volêmica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 30, n. 2, p. 135-143, 2018.

MILSTEIN, D. M. J. et al. Laser speckle contrast imaging identifies ischemic areas on gastric tube reconstructions following esophagectomy. **Medicine (Baltimore)**, Baltimore, v. 95, n. 25, p. e3875, jun. 2016. doi: 10.1097/MD.0000000000003875. Erratum em: **Medicine (Baltimore)**, Baltimore, v. 95, n. 30, p. e87a5, jul. 2016.

MIRANDA, G. C. O. Estresse em pacientes com cardiopatias hospitalizados: estudo descritivo. 2016. 100p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) — Escola de Enfermagem Aurora de Afonso Costa, Niterói, 2016.

NEUMAMM, L. B.; SANTOS, E. L.; ANDRADE, A. G. **Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca em Exercício Progressivo Máximo**. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2011.

NOVAIS, F. M. et al. Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca em repouso de homens saudáveis sedentários e de hipertensos e coronariopatas em treinamento físico. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 8, n. 3, p. 207-213, 2004.

OLIVEIRA-SILVA, V. et al. Variabilidade da frequência cardíaca, IMC e estresse pré-competitivo em atletas de natação. **Revista Cereus**, v. 8, n. 2, p. 100-111, 2016.

PERIMED INSTRUMENTS. Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA). Disponível em: <https://www.perimed-instruments.com/content/laser-speckle-contrast-analysis-lasca/>.

PINCUS, S. M.; VISCARELLO, R. R. Approximate entropy: a regularity measure for fetal heart rate analysis. **Obstetrics and Gynecology**, v. 79, n. 2, p. 249-255, 1993. PMID: 1731294.

PIVATELLI, T. C. et al. Sensitivity, specificity and predictive values of linear and nonlinear indices of heart rate variability in stable angina patients. **International Archives of Medicine**, v. 5, n. 1, p. 31, 2012. Publicado em 30 out. 2012. DOI: 10.1186/1755-7682-5-31.

PONTICORVO, A.; DUNN, A. K. How to build a Laser Speckle Contrast Imaging (LSCI) system to monitor blood flow. **Journal of Visualized Experiments**, n. 45, p. e2004, 11 nov. 2010. DOI: 10.3791/2004. PMID: 21113112; PMCID: PMC3159601.

QUESADA, A. A. Estresse e prematuridade: um risco para a memória e para o desenvolvimento emocional na infância. 2013. 67 p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) — Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

RAIMUNDO, J. Z.; ECHEIMBERG, J. D. O.; LEONE, C. Research methodology topics: Cross-sectional studies. **Journal of Human Growth and Development**, v. 28, n. 3, p. 356–360, 2018.

RASSI JR., A. Compreendendo melhor as medidas de análise da variabilidade da frequência cardíaca. **Jornal de Diagnóstico Cardiológico**, 8. ed., 2000. Disponível em: <www.cardios.com.br/jornal-01/tese%20completa.htm>.

RICHARDSON, R. J. et al. **Pesquisa social: métodos e técnicas**. 3. ed. – [16. reimp.] – São Paulo: Atlas, 2015. p. 16.

RICHMAN, J. S.; MOORMAN, J. R. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 278, n. 6, p. H2039–H2049, 1 jun. 2000. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpheart.2000.278.6.H2039>.

ROSA, A. A. A.; SOARES, J. L. M. F.; BARROS, E. **Sintomas e sinais na prática médica: consulta rápida**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019. [Recurso eletrônico].

ROUSTIT, M. et al. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. **Microvascular Research**, v. 80, p. 505-511, 2010.

ROY, B.; GHATAK, S. Métodos não-lineares para avaliar mudanças na variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com diabetes tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 317-327, 2013. DOI: 10.5935/abc.20130181.

RUARO, B. et al. Laser Speckle Contrast Analysis: Functional Evaluation of Microvascular Damage in Connective Tissue Diseases. Is There Evidence of

Correlations With Organ Involvement, Such as Pulmonary Damage? **Frontiers in Physiology**, v. 12, 11 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.710298>.

SÁ, J. C. F. DE et al. Variabilidade da frequência cardíaca como método de avaliação do sistema nervoso autônomo na síndrome dos ovários policísticos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, n. 9, p. 421–426, set. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-72032013000900007>.

SALGADO, D. R.; FAVORY, R.; DE BACKER, D. Avaliação da microcirculação na prática clínica diária – ainda não disponível, mas não tão longe! **einstein**, v. 8, n. 1 Pt 1, p. 107-116, 2010.

SANTOS, L. Dos. et al. Application of an automatic adaptive filter for Heart Rate Variability analysis. **Medical Engineering & Physics**. v. 35. n.12, p. 1778-1785. 2013.

SANTOS, L. Dos. et al. Assessment of heart rate variability by application of central tendency measure. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 53, p. 1231–1237, 2015. DOI: 10.1007/s11517-015-1390-8.

SANTOS, L. Dos. et al. T-RR Filter: Ferramenta computacional gráfica no uso do filtro adaptativo para análise da variabilidade da frequência cardíaca. **Proceeding Series of the Brazilian Society of Applied and Computational Mathematics**, v. 4, n. 1, 2016.

SANTOS, J. A. A.; CALLES, A. C. N. A avaliação do nível de estresse e a consequência sobre a variabilidade da frequência cardíaca em docentes. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 3, n. 3, p. 215-226, nov. 2016.

SANTOS, A. T. Dos, et al. Relationship between cortisol reactivity to psychosocial stress and declarative memory decline during aging: Impact of age and sex. **Geriatrics & Gerontology International**, v. 18, p. 169-176, 2018. DOI: 10.1111/ggi.13139.

SÁNCHEZ-HECHAVARRÍA, M. E. et al. Introduction of Application of Gini Coefficient to Heart Rate Variability Spectrum for Mental Stress Evaluation. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 4, p. 725–733, out. 2019.

SILVA, A. P. **Comportamento da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes submetidos ao Tilt-test**. São José do Rio Preto, 2018. 142 p. Dissertação (Mestrado) — Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP.

SILVA, J. J. **Estresse: o impulso da vida**. São Caetano do Sul (SP): Yendis Editora, 2005. ISBN 8598859176.

SILVA, L. E. **Análise do sinal de variabilidade da frequência cardíaca através de estatística não extensiva: taxa de q-entropia multiescala**. Ribeirão Preto, SP, 2013. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2013. Disponível em:

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59135/tde-22032013-114045/>. Acesso em: 29 jul. 2024.

SILVA, S. C. DA; MONTEIRO, W. D.; FARINATTI, P. DE T. V. Avaliação da capacidade máxima de exercício: uma revisão sobre os protocolos tradicionais e a evolução para modelos individualizados. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 5, p. 363–369, out. 2011.

SILVA, S. F.; COLTRE, S. M. **O nível de estresse dos docentes da área da saúde em uma instituição de ensino superior privada no oeste do Paraná**. 2009. 11 f. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada** [recurso eletrônico]. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 107, n. 3 Supl. 3, p. 1-83, 2016. Disponível em: http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2016/05_HIPERTENSAO_ARTERIAL.pdf

SOUSA, M. B. C. DE; SILVA, H. P. A.; GALVÃO-COELHO, N. L. Resposta ao estresse: I. Homeostase e teoria da alostase. **Estudos de Psicologia**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2015. DOI: 10.5935/1678-4669.20150002. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1678-4669.20150002>.

TAFNER, P. F. et al. Recentes avanços na avaliação da microcirculação à beira do leito em pacientes graves. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29, n. 2, p. 238-247, 2017.

THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International Journal of Cardiology**, v. 141, n. 2, p. 122-131, 28 maio 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19910061>.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

TULPPO, M. P. et al. Effects of aerobic training on heart rate dynamics in sedentary subjects. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 1, p. 364-372, 2003.

VANDERLEI, L. C. M. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio Preto, v. 24, n. 2, p. 205-217, jun. 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-76382009000200018&lng=en&nrm=iso.

VOSS, A. et al. Short-term heart rate variability—Influence of gender and age in healthy subjects. **PLoS One**, v. 10, e0118308, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118308>.

WILSON, B. J. et al. The accuracy of pulse oximetry in emergency department in patients with severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. **BMC Emergency Medicine**, v. 10, n. 1, p. 9, 2010.

YENTES, J. M. et al. **The appropriate use of approximate entropy and sample entropy with short data sets**. Annals of Biomedical Engineering, v. 41, n. 2, p. 349-365, fev. 2013. DOI: 10.1007/s10439-012-0668-3.

ZEÑA, A. C. **Diagnóstico clínico automatizado a partir do uso de métodos de análise multivariada aplicados a sinais de eletrocardiograma**. São Paulo: Universidade Brasil, 2020. 69 p.: il. color.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____,
RG/CPF: _____, estou sendo convidado(a) a participar do estudo “ASSOCIAÇÃO ENTRE FATORES DE RISCOS CARDIOVASCULARES E SITUAÇÕES DE ESTRESSE EM JOVENS ADULTOS” da pesquisadora responsável Laurita dos Santos, com o objetivo de analisar a associação entre estresse com os fatores de riscos cardiovasculares em jovens adultos submetidos a esforço cardíaco para compreensão como o corpo dos jovens responder à atividade de andar na esteira por aproximadamente 15 minutos. A minha participação no referido estudo será no sentido de responder um questionário sobre minhas medidas como peso, altura, circunferência da barriga e estilo de vida, também, será coletado sinal cardíaco em três momentos diferentes: 15 minutos em repouso, deitado em uma maca com barriga para cima, 15 minutos durante a atividade de andar na esteira ergométrica – para monitorização dos meus sinais vitais e mais 15 minutos em repouso após 10 minutos de descanso do andar sobre a esteira. Também, serão solicitadas amostras saliva, do qual fui devidamente instruído e serei eu mesmo o responsável pelo manuseio e coleta, cabendo apenas a entrega do tubo com algodão que foi me entregue. Ao todo serão quatro coletas de saliva: pela manhã, ao acordar, em jejum (este tubo já foi previamente entregue pela pesquisadora, pela manhã durante o primeiro período de repouso, a terceira coleta no período após a atividade na esteira e a última passado duas horas de atividade na esteira. E que serei informado dos resultados sobre a análise da saliva, que serão encaminhadas para análise em laboratório, recebendo uma cópia dos resultados da análise do cortisol as saliva. O protocolo total deverá ocorrer em torno de 1h30min sendo realizado no Laboratório de Processamento de Sinais da Universidade Brasil, Campus Itaquera.

Fui informado(a) de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: avaliar a relação entre as medidas de peso, altura, circunferência e os riscos cardiovasculares, bem como a informação posterior do cortisol presente na saliva, associado a fatores de estresse, além do benefício de compreensão dessa relação para a comunidade científica. Recebi, por outro lado, os esclarecimentos sobre possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo como: desconforto para posicionamento dos eletrodos sobre a pele para a coleta do sinal cardíaco. Para minimizar nas jovens, o procedimento será realizado por uma pesquisadora, sanando as dúvidas e possíveis desconforto, além de terem sido alertada de que poderia estar usando um top de ginastica (sem a presença de metal). Que durante a coleta em repouso poderei ser coberto com um avental, para que me sinta mais confortável. Para que não perca aulas, o protocolo poderá ser agendado em uma manhã na qual não tenha aula. Em relação à coleta de saliva, para redução de desconforto e minha segurança, eu mesmo recebi as instruções corretas de coleta, que poderei fazer no banheiro, apenas devolvendo o tudo com algodão devidamente fechado para que seja conservado em geladeira até envio ao laboratório de análise. O pesquisador receberá o material sempre com proteção de luvas e o acondicionará em saquinhos plástico devidamente etiquetados na frente do participante para envio ao laboratório. Também, fui avisado que receberei toda assistência inclusive em caso de encerramento ou interrupção da pesquisa. Fui informado(a), também, que conforme Resoluções do Conselho Nacional de Saúde serão aplicadas as garantias previstas de assistência integral, gratuita e pelo tempo que for necessário e direito de solicitação de indenização por danos decorrentes da pesquisa, cujo mérito será

julgado em sua instância adequada, conforme a Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III. 2º, IV.3.c, V.6 e V.7. Fui informado que não terei gastos para participar desta pesquisa; meu transporte e alimentação (e do acompanhante), se necessário, serão de responsabilidade dos participantes.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, serão mantidos sob sigilo, sendo assegurado total anonimato destes pelos pesquisadores (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2i e IV.3.e). Também, fui informado(a) de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar e por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo. Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são: Laurita dos Santos, Carla R. Tim (CREFITO-3/ 115317-F) e com eles poderei manter contatos pelos telefones (12) 988238876. É garantido ao participante o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo, conforme Resolução CNS 466 de 2012, itens IV.3 e IV.4. Tendo sido orientado(a) quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza, objetivo e procedimentos do estudo, manifesto meu livre consentimento em participar. Estou ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou pagar, por minha participação.

Caso eu aceite participar, rubricarei cada página deste termo, apresentado em duas vias, e assinarei ao final juntamente com o pesquisador responsável ou pelas pessoas por ele delegadas, indicando meu consentimento em participar da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5d), das quais uma via me será entregue. Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devo ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Brasil (11) 4858-9224 sediado à Rua Carolina Fonseca, 235, Jd Santana, SP – Capital ou mandar um e-mail para comitê.etica.sp@universidadebrasil.edu.br

São Paulo, ____ de _____ de 20__.

Pela assinatura abaixo declaro minha anuência em participar da pesquisa.

Participante da pesquisa

Eu, responsável pela pesquisa acima, declaro que cumprirei todas as normas vigentes na Resolução CNS 466 de 2012, contidas nos itens IV.3 e IV.4.

Pesquisador responsável

APÊNDICE B – Anamnese

I- RISCO CARDIOVASCULAR E ESTRESSE

Data: _____ Código do participante: _____

Nome: _____ CPF: _____

Telefone de contato: _____ E-mail: _____

Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Endereço: _____

ETAPA 0 – Coleta da saliva da manhã ao acordar – Horário: _____

ETAPA 1 – Repouso inicial: preencher o questionário

Horário de coleta das medidas: _____

Variável	Medida1	Medida2	Medida3	Média de aferições
Temperatura				
Pressão arterial				
Oxigênio				
Circunferência Abdominal:				
Circunferência do quadril:				
Horário da 2 coleta de saliva:				
Horário do início do sinal cardíaco:				Tempo de duração da coleta:

ETAPA 2 – Protocolo da esteira:

Horário de início do protocolo: _____

Término: _____

Tempo	Velocidade	Inclinação	Observações durante o processo

ETAPA 3 – Retorno ao repouso

Quanto tempo de repouso após finalizar a esteira:

Horário de início da coleta da etapa 3

Variável	Medida1	Medida2	Medida3	Média de aferições
Temperatura				
Pressão arterial				
Oxigênio				
Horário da 3 coleta de saliva:				
Horário do início do sinal cardíaco:				Tempo de duração da coleta:

ETAPA 4: Coleta de saliva após 2 horas - finalizar o protocolo

Horário: _____

II – DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, HABITOS DE VIDA, CONDIÇÕES DE SAÚDE E ANTECEDENTES

1. Sexo: <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/> Masculino
2. Idade (anos completo): _____ Data de Nascimento: ____/____/____.
3. Cor (auto referida): <input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Amarela <input type="checkbox"/> Parda <input type="checkbox"/> Não informar
4. Situação conjugal: <input type="checkbox"/> Solteiro(a) <input type="checkbox"/> Casado(a) / União estável <input type="checkbox"/> Divorciado(a) / Separado(a) <input type="checkbox"/> Viúvo(a)
5. Tem filhos: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não. Se sim (tem filhos), quantos? _____
6. Nível de formação: <input type="checkbox"/> Graduação <input type="checkbox"/> Pós-graduação
7. Você exerce atividade remunerada? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
8. Se sim, qual a sua ocupação?
9. Renda média mensal: <input type="checkbox"/> Menos de 1 salário mínimo <input type="checkbox"/> De 1 a 2 salários mínimos <input type="checkbox"/> De 2 a 4 salários mínimos <input type="checkbox"/> De 4 a 6 salários mínimos <input type="checkbox"/> De 6 a 10 salários mínimos <input type="checkbox"/> Acima de 10 salários
10. Você fuma, atualmente? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
11. Se sim, aproximadamente, quantos cigarros fuma por dia? _____
12. Qual a idade que você começou a fuma diariamente? _____
13. Já experimentou alguma bebida alcoólica? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
14. Se sim, com idade (anos) experimentou a primeira vez? _____
15. Você faz uso de álcool? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
16. Se você faz uso de álcool, com que frequência? <input type="checkbox"/> Raramente <input type="checkbox"/> De vez em quando <input type="checkbox"/> Regularmente
17. Você tem hipertensão arterial (pressão alta)? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
18. Você tem hipertensão arterial (pressão alta)? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
19. Se sim, faz uso de medicação? <input type="checkbox"/> Sim, qual? _____ <input type="checkbox"/> Não
20. Adiciona sal a suas comidas à mesa? <input type="checkbox"/> Nunca <input type="checkbox"/> Quando a comida não está salgada o suficiente <input type="checkbox"/> sempre, mesmo antes de prová-la.
21. Na sua família, há caso(s) de pessoa(s) com hipertensão arterial? Sim, quem? _____ <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
22. Você tem diabetes (açúcar no sangue)? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
23. Se sim, faz uso de medicação? <input type="checkbox"/> Sim, qual? _____ <input type="checkbox"/> Não
24. Na sua família, há caso(s) de pessoa(s) com diabetes? Sim, quem? _____ <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
25. Você tem alguma das condições de saúde descritas abaixo? <input type="checkbox"/> Hipotireoidismo <input type="checkbox"/> Hipertireoidismo <input type="checkbox"/> Problema cardiovascular <input type="checkbox"/> Asma <input type="checkbox"/> Outra
26. Na sua família, há caso(s) de Acidente Vascular Cerebral (AVC)? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
27. Você fez avaliação médica nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
28. Você verificou sua pressão arterial nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
29. Você verificou seu nível de colesterol nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
30. Você seu nível de açúcar nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei informar
31. Em média, quantas horas de sono você dorme por noite? _____
32. Você pratica exercício físico? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
33. Se sim, com que frequência você pratica exercício físico? <input type="checkbox"/> Às vezes <input type="checkbox"/> Duas ou três vezes por semana <input type="checkbox"/> Diariamente.

ANEXO A: Parecer Consubstanciado do CEP



UNIVERSIDADE BRASIL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE FATORES DE RISCOS CARDIOVASCULARES E SITUAÇÕES DE ESTRESSE EM JOVENS ADULTOS

Pesquisador: LAURITA DOS SANTOS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 44669421.7.0000.5494

Instituição Proponente: INSTITUTO DE CIENCIA E EDUCACAO DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.724.843

Apresentação do Projeto:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº 4.652.930 emitido pelo CEP em 15/04/2021. Ver campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações" para o parecer desta versão.

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº 4.652.930 emitido pelo CEP em 15/04/2021. Ver campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações" para o parecer desta versão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº 4.652.930 emitido pelo CEP em 15/04/2021. Ver campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações" para o parecer desta versão.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº 4.652.930 emitido pelo CEP em 15/04/2021. Ver campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações" para o parecer desta versão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº 4.652.930 emitido pelo CEP em

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 235

Bairro: ITAQUEIRA

UF: SP

Telefones: (11)4058-0234

CEP: 08.230-000

Município: SAO PAULO

E-mail: comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br



UNIVERSIDADE BRASIL



Continuação do Parecer: 4.724.640

15/04/2021. Ver campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações" para o parecer desta versão.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

TRATA-SE DE ANÁLISE DE RESPOSTA AO PARECER PENDENTE Nº 4.652.930 EMITIDO PELO CEP EM 15/04/2021:

Segue a lista de inadequações:

1) Explicitar o recrutamento dos respondentes dos questionários. Como será feita a abordagem? Agendamento prévio com os alunos?

RESPOSTA: Agradecemos pela observação e atenção ao projeto. Para complementar e deixar mais claro a questão do recrutamento, o seguinte texto foi adicionado na seção "4.2 População e Amostra".

O recrutamento dos participantes de estudo ocorrerá de forma previamente agendada conforme a disponibilidade dos mesmos. O contato inicial e abordagem para a pesquisa ocorrerá através do convite e da explicação dos objetivos da pesquisa para os alunos, na qual a proponente se desloca até a sala onde as aulas estão ocorrendo. Caso essa abordagem inicial ocorra no momento em que as aulas estão remota, haverá contato prévio com o professor responsável, com consentimento prévio da Direção do Campus para que possamos ter acesso aos alunos. Para tal, a proponente estará disponível para estar na sala virtual (ou presencial) com os alunos, fazendo o convite e disponibilidade para tirar dúvidas. Cada participante (de acordo com os critérios de inclusão) serão convidados a agendarem um horário no Laboratório e receberão as instruções iniciais relacionadas ao protocolo, incluindo explicação sobre o uso de vestimenta confortável à prática de atividade física. Toda abordagem de convite com os alunos será realizada com a autorização do professor da sala, assim como consentimento do Diretor do Campus.

Análise: Atendida.

Considerações Finais a critério do CEP:

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, via notificação do tipo "relatório" para que sejam devidamente apreciadas no CEP, conforme Norma Operacional CNS nº 001/13, Item XI.2.d.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 235

Bairro: ITAQUERA

CEP: 08.230-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)4858-0224

E-mail: comite_etica.sp@universidadebrasil.edu.br



UNIVERSIDADE BRASIL



Continuação do Parecer: 4.724.640

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1716795.pdf	03/05/2021 19:34:45		Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	03/05/2021 19:33:39	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_CEP_reconsideracao.pdf	03/05/2021 19:33:22	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_carla_fm.pdf	18/03/2021 12:24:04	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_Claudia_Carvalho.pdf	18/03/2021 12:23:39	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_fatima_granato_gomes.pdf	18/03/2021 12:23:24	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_joyana_dameres_sousa.pdf	18/03/2021 12:23:06	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_marcello_magri_amaral.pdf	18/03/2021 12:22:31	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	lattes_laurlta_dos_santos.pdf	18/03/2021 12:21:52	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Outros	questionario_CEP.pdf	18/03/2021 12:13:18	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	18/03/2021 12:09:59	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_de_anuencia_assinada.pdf	18/03/2021 12:08:55	LAURITA DOS SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	Folhadenostioassinada.pdf	18/03/2021 12:08:05	LAURITA DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 20 de Maio de 2021

Assinado por:

DANIEL SOUZA FERREIRA MAGALHAES
(Coordenador(a))

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 295
Bairro: ITAQUERA
UF: SP Município: SAO PAULO

CEP: 08.230-000

Telefone: (11)4958-0234

E-mail: comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br