JOICE ANAIZE TONON DO AMARAL

Associação entre a modulação autonômica da frequência cardíaca e o grau de gravidade de doença em crianças com hepatopatia grave

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Aoun Tannuri

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Amaral, Joice Anaize Tonon do
Associação entre a modulação autonômica da
frequência cardíaca e o grau de gravidade de doença
em crianças com hepatopatia grave / Joice Anaize
Tonon do Amaral. -- São Paulo, 2020.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.
Orientadora: Ana Cristina Aoun Tannuri.

Descritores: 1.Atresia biliar 2.Sistema nervoso
autônomo 3.Sistema cardiovascular 4.Hepatopatias
5.Criança 6.Variabilidade da frequência cardíaca

USP/FM/DBD-004/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Este trabalho foi desenvolvido no Serviço de Cirurgia Pediátrica e Transplante Hepático do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 01/07/2015, sob número 13.752/2015.

Os recursos financeiros foram obtidos através da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio dos processos número 2016/10570-7 (Bolsa no País – Doutorado Direto) e 2017/25695-2 (Bolsa Estágio em Pesquisa no Exterior – BEPE) – São Paulo, Brasil.

“Prometa-me que você sempre lembrará:
Você é mais corajoso do que você acredita
ser, mais forte do que você parece, e mais
inteligente do que você pensa ser”.

Alan Alexander Milne (Ursinho Pooh)

Dedicatória

Dedico este trabalho aos “pequenos pacotinhos de amor e luz”, pacientes do ICr, crianças que me ensinaram o valor da vida, a magia de ser criança e fortaleceram meu amor por minha profissão, sem eles nada disso seria possível.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer as crianças e aos pais, por confiarem no nosso trabalho e aceitarem participar desse estudo.

Gostaria de agradecer minha família, Pedro, Vera e André Amaral por todo apoio, mesmo quando não sabiam muito bem qual era esse caminho que eu percorria.

Ana Cristina Aoun Tannuri por, mesmo não me conhecendo, me dar a oportunidade de adentrar em seu espaço, criar um projeto em conjunto, conhecer o ICr e acreditar no meu potencial para esse trabalho. Foram mais de 4 anos de uma parceria, no qual eu aprendi muito, você é exemplo de mulher forte, inteligente, de trabalho árduo e muita paixão pelo que faz, obrigada por confiar em mim e pelo seu exemplo.

Ao Professor Doutor Uenis Tannuri e toda equipe do Instituto da Criança, em especial, o Enfermeiro Paulo Pereira e Enfermeira Helena Thie Miyatani, por abrirem as portas e me acolherem tão bem, por me ensinarem tudo sobre as crianças do transplante de fígado e me auxiliarem na captação para coleta de dados.

Renata Salatini por ser minha parceira de trabalho, no qual dividimos muitos dias entre a Faculdade de Medicina e Faculdade de Saúde Pública em árduos dias de estudo, de frustrações e comemorações, para aprimorar o projeto de estudo e nosso aprendizado acadêmico.

Patrícia Lopes Pereira, por sua solicitude, seu máximo empenho, por ser uma pessoa de caráter e trabalho impecável, você me auxiliou nesses mais de 4 anos em todos momentos, e dividiu minhas angústias com os prazos e relatórios. Obrigada por ser essa pessoa iluminada, prestativa, tão querida e sorridente, você estará sempre em meu coração.

Vitor Engrácia Valenti e Luiz Carlos Marques Vanderlei por todo conhecimento transmitido durante esses quatro anos em todas oportunidades de discussão científica sobre a temática da Variabilidade da Frequência Cardíaca.

Ao grupo de pesquisa da FMABC e ao professor Luiz Abreu, Rodrigo Daminello e Tatiana Carvalho por todo conhecimento compartilhado.

A Etienne e Mari, pela amizade, por todo apoio nesse período, na vida pessoal e profissional, por me incentivarem em todos momentos a voar e seguir meus sonhos, vocês foram e são importantes em minha vida.

Fernando e Laércio por sempre me auxiliarem nessa jornada, principalmente, na parte estatística, foram e são grandes professores para mim.

“Agli insegnamenti e all’opportunità di apprendere in un altro paese fornitami dal Professor Sgoifo.. Ai cari colleghi di UniPr Luca, Angelica, Elena e Rosario.. Agli amici di Parma Davide, Marianna, Stefania, Salvo e Giusy... grazie a tutti voi per l’esperienza a Parma; siete stati essenziali per migliorare la mia conoscenza e, grazie a voi, ho vissuto i miei giorni migliori in Italia. Mi mancate tutti molto.”

E todos companheiros nessa vida acadêmica Jéssica Menezes, Annielson Costa, Chiara Campos, Lucas Souza, Priscila Noll, Jennifer Lima, Renata Barbosa, Claudia Arab, Paulo Evaristo, Cyntia Castanha, Laura Pereira, Juliana Régis, Jussara, Thaís Massetti, Célia Guarnieri e Beatriz Bebianio.

Serei eternamente grata a Cristina Moriyama Hamamura, por seus sábios conselhos, conversas e por sempre ouvir meus desabafos, por enxergar um potencial em mim e me incentivar, por ser uma mulher e profissional admirável e ser muito mais que uma amiga, será sempre minha “mãe japa”. Sua força e grandeza me inspiram.

A querida Dafne Herrero, por trazer luz, amor e brincadeiras à minha vida, por me fazer enxergar potencial na minha relação com as crianças e com meu conhecimento sobre elas, por ser minha mentora, dividir tanto conhecimento comigo e me inspirar.

Todos amigos que me acompanham em todos meus sonhos e conquistas desde o ensino médio, Dayane Poli e Wagner Brito, Marcela Voigt, Mayara Pantaroto, Maria Carolina Silva, Talita Asbahr, Suelen Camargo, Patrícia Yamada, Marina Moraes, Tom Yamamoto, Rodrigo Mota, vocês são essenciais em minha vida.

Finalmente, e não menos importante, quero agradecer ao meu amado Hugo Castellon Quatrochi, que chegou no final desse processo, e foi crucial para que eu o terminasse com maior tranquilidade; trouxe paz para minha mente em momentos de tormenta e é alegria para meu coração em todos momentos. Obrigada por seu meu companheiro em tudo que faço, amo você.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por financiar os dois primeiros anos deste projeto e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo) por financiar os outros anos do projeto que deu origem a esta tese de doutorado, e o projeto do doutorado sanduíche na Itália que foi essencial para o aprimoramento deste trabalho.

SUMARIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Atresia de Vias Biliares	1
1.2 Sistema Nervoso Autônomo e Disfunção Autônoma nas Doenças Hepáticas .	3
1.3 Variabilidade da Frequência Cardíaca	5
2. OBJETIVOS	13
3. MÉTODO	14
3.1 Tipo de Estudo	14
3.2 População / Aspectos Éticos	14
3.3 Critérios de Inclusão	16
3.4 Critérios de Exclusão	17
3.5 Avaliação Inicial	17
3.6 Instrumentos.....	17
3.7 Protocolo Experimental	18
3.8 Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca	21
3.8.1 Análise dos Índices do Domínio do Tempo e Geométricos da Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	23
3.8.2 Análise dos Índices da Frequência da Variabilidade da Frequência Cardíaca	26
3.8.3 Análises não lineares da Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	27
3.8.4 Análise Simbólica da Variabilidade da Frequência Cardíaca - Índices não lineares	27
4. ANÁLISES DE DADOS.....	29
5. RESULTADOS	30
6. DISCUSSÃO	38
7. CONCLUSÃO.....	44

8. ANEXOS	45
Anexo 1. Parecer Consubstanciado do CEP	45
Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	46
Anexo 3. Autorização do Uso de Imagem	50
Anexo 4. Ficha de Avaliação	51
Anexo 5. Poincaré Plot das Crianças do Grupo Controle (à esquerda) e do Grupo AVB (à direita)	52
8. REFERÊNCIAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Análise dos intervalos R-R.	5
Figura 2: Representação esquemática, da inter-relação entre os tipos de sistema e seu comportamento , a geração da complexidade e o controle pela Teoria do Caos – Esquema criado por Moacir Godoy,2003(GODOY, 2003).	8
Figura 3: Desenho da coleta de dados do grupo de crianças com atresia de vias biliares (G1).....	15
Figura 4: Desenho do estudo do grupo de crianças relatadas saudáveis (G2).....	16
Figura 5: Cinta de captação e relógio cardiofrequencímetro.....	19
Figura 6: Posicionamento da cinta de captação na criança (Foto autorizada pela mãe – anexo 3).	20
Figura 7: Posicionamento da criança durante o período de coleta (Foto autorizada pela mãe – anexo 3).....	21
Figura 8: Filtragem digital no programa Polar Trainer 5.	22
Figura 9: Filtragem manual com taxa de amostragem de 1000Hz.	22
Figura 10: Análise no software Kubios HRV analysis.....	23
Figura 11: Análise do Plot de Poincaré em forma de cometa (41).....	24
Figura 12: Análise do Plot de Poincaré em forma de torpedo de uma criança com hepatopatia.....	25
Figura 13: Análise do Plot de Poincaré em forma complexa ou parabólica de uma criança.	25
Figura 14: Análise visual do plot de Poincaré. A) Registro de uma criança do grupo controle. B) Registro de uma criança com AVB do estudo.....	32
Figura 15: Análise simbólica da VFC - OV unidades absolutas e porcentagem.....	36
Figura 16: Análise Simbólica da VFC – 1V unidades absolutas e porcentagem.	36
Figura 17: Análise Simbólica da VFC - 2LV unidades absolutas e porcentagem.	37
Figura 18: Análise Simbólica da VFC - 2UV unidades absolutas e porcentagem.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Índices da Variabilidade da Frequência Cardíaca	10
Tabela 2: Descrição da amostra do grupo de crianças com AVB (n=21) e do grupo controle (n=21). São Paulo, SP, 2015-2017.	31
Tabela 3: Índices lineares de Variabilidade da Frequência Cardíaca – Domínio do Tempo, Domínio da Frequência e Geométricos.	31
Tabela 4: Descrição dos índices não lineares de variabilidade da frequência cardíaca crianças com hepatopatias graves (n=21) comparado com controles (n=21) pareados por sexo, São Paulo, SP, 2015-2017.....	33
Tabela 5: Análise de Correlação do PELD com os Índices da Variabilidade da Frequência Cardíaca. São Paulo, SP, 2015-2017.	33
Tabela 6: Regressão Quantílica na influência dos índices lineares de variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença hepática.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

AVB	Atresia de vias biliares
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DET	Porcentagem de pontos recorrentes que aparecem em sequência formando linhas diagonais na trama de recorrência
DFA	Detrend Fluctuation Analysis (Análise de flutuações deturbadas)
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência cardíaca
FFT	Transformada rápida de Fourier
HF	High frequency (Alta frequência)
LF	<i>Low frequency</i> (Baixa frequência)
NN50	Quantidade de intervalos RR com adjacentes com diferença de duração maior que 50ms
PA	Pressão Arterial
PELD	Pediatric End-Stage Liver Disease
PNN50	Porcentagem de intervalos R-R adjacentes com diferença maior que 50ms
REC	Porcentagem do ponto recorrente na parcela de recorrência
RMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR adjacentes
RRTri	Índice Triangular
SD1	Desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento
SD2	Desvio padrão em longo prazo dos intervalos RR contínuos
SDNN	Média dos intervalos R-R normais
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNE	Sistema nervoso entérico
SNP	Sistema nervoso parassimpático
SNS	Sistema nervoso simpático

TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TINN	Interpolação dos intervalos RR normais
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca

RESUMO

Amaral JAT. *Associação entre a modulação autonômica da frequência cardíaca e o grau de gravidade de doença em crianças com hepatopatia grave* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Introdução: A AVB é a principal indicação de transplante hepático pediátrico, responsável por 60% das indicações nos maiores centros. O fígado possui importante papel na metabolização de substâncias e homeostase do organismo, seu comprometimento pela cirrose gera uma série de desordens e desequilíbrios em vários órgãos e sistemas. Já existem estudos sobre o sistema nervoso autônomo em criança em diversas condições, contudo, não há na literatura um estudo que analise o sistema nervoso autônomo de crianças com hepatopatia. **Objetivo:** Analisar a modulação autonômica cardíaca e relacioná-la com o grau de gravidade da doença em crianças com doença hepática grave. **Método:** Foram analisadas crianças com diagnóstico de atresia de vias biliares na fila para o transplante de fígado, ambos os sexos, de 6 meses a 3 anos de vida, aguardando o transplante no Instituto da Criança, avaliadas pelo PELD quanto a gravidade da doença e crianças saudáveis no grupo controle. Para análise de dados da modulação cardíaca no domínio do tempo foram utilizados (pNN50, SDNN e RMSSD) e domínio da frequência foram utilizados os componentes espectrais de baixa frequência LF e alta frequência HF. A análise geométrica foi realizada por meio dos índices RRtri, TINN, SD1, SD2 e relação SD1/SD2. Nos índices não lineares DFA $\alpha 1$ e $\alpha 2$, DET, REC, D2 e análise simbólica. **Resultados:** Ao comparar os dois grupos de crianças, os resultados foram significantes nos índices do domínio do tempo: SDNN ($p=0,001$), RMSSD ($<0,01$), NN50 ($p=0,03$), pNN50 ($p=0,04$). No domínio da frequência os índices LF(ms^2) e HF(ms^2) apresentaram valores de $p < 0,001$. Já nos índices geométricos, RRTri e TINN ambos com $p < 0,001$, e SD1 ($p=0,003$) e SD2 ($p=0,001$). **Conclusão:** Há uma alteração da variabilidade da frequência cardíaca tanto na modulação simpática quanto na modulação parassimpática, demonstrando uma diminuição dos índices da VFC e possível maior morbidade nas crianças com atresia de vias biliares.

Descritores: Atresia biliar; Sistema nervoso autônomo; Sistema cardiovascular; Hepatopatias; Criança; Variabilidade da frequência cardíaca.

ABSTRACT

Amaral JAT. *Association between autonomic modulation of heart rate and the disease severity in children with severe liver disease* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Introduction: The AVB is the main indication for pediatric liver transplantation, responsible for 60% of indications in the major centers. Because the liver is the great "laboratory" of the human body, with an important role in the metabolism of substances and homeostasis of the organism, its involvement by cirrhosis generates a series of requirements and imbalances in various organs and systems. There are already studies on the autonomic nervous system in children in different conditions, however, there is no literature that studies the autonomic nervous system of children with liver disease. **Aim:** To analyze a cardiac autonomic modulation with the degree of severity of the disease in children with severe hepatic disease. **Methods:** Children with a diagnosis of biliary atresia waiting for liver transplantation, both sexes, from 6 months to 3 years of age, who were waiting list transplantation at the Children's Institute, were analyzed by the PELD regarding the severity of the disease. Healthy children were evaluated for the control group. Data analysis of cardiac modulation without time domain and used (pNN50, SDNN and RMSSD) and domain of the frequency and use of low frequency LF components and high frequency HF. A geometric analysis will be performed using the RRtri, TINN, SD1, SD2 and SD1 / SD2 ratios. In the non-linear indexes DFA $\alpha1$ and $\alpha2$, DET, REC, D2 and symbolic analysis. **RESULTS:** When comparing the two groups of children, the results were significant in the time domain indices: SDNN ($p = 0.001$), RMSSD (<0.01), NN50 ($p = 0.03$), pNN50 ($p = 0.04$). In the frequency domain of the indexes LF (ms^2) and HF (ms^2) presented values of $p < 0.001$. In the geometric indices, RRTri and TINN both with $p < 0.001$, and SD1 ($p = 0.003$) and SD2 ($p = 0.001$). The correlation of the PELD with the indexes RMSSD and SD1 the values respectively were $r = -0.46$ ($p = 0.008$) and $r = -0.45$ ($p = 0.009$). **Conclusion:** There is a change in heart rate variability in both sympathetic modulation and parasympathetic modulation, demonstrating a decrease in HRV and a higher prognosis of morbidity in children with biliary atresia.

Descriptors: Biliary atresia; Autonomic nervous system; Cardiovascular system; Liver diseases; Child; Heart rate variability.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Atresia de Vias Biliares

Diversas doenças hepáticas crônicas podem se manifestar na infância, acarretando impacto importante nos custos da saúde, morbimortalidade e na dinâmica familiar. Em alguns casos, pode ocorrer progressão para cirrose e falência hepática com todas as suas complicações, sendo nestes casos o transplante a única opção terapêutica (1-3). Dentre tais doenças, destaca-se a atresia das vias biliares (AVB), uma doença de causa desconhecida em que ocorre um processo inflamatório e fibrosante nas vias biliares, com a consequência de obliteração das mesmas (4, 5). Evolui para cirrose com manifestações de hipertensão portal grave e insuficiência hepática em cerca de 1 a 2 anos se não tratada (6-8).

A AVB é uma má formação que ocorre em 1 entre 10.000 a 15.000 nascidos vivos (2, 9, 10). No curso da doença a criança pode apresentar complicações, como: colestase crônica (esteatorréia, deficiência das vitaminas lipossolúveis, desnutrição, icterícia, prurido, hipertensão portal e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor), bem como as relacionadas à portoenterostomia (colangite bacteriana ascendente). O prognóstico do paciente depende do tratamento instituído (Portoenterostomia de Kasai, tratamento medicamentoso e as complicações) e da evolução pós-operatória. Mesmo com a cirurgia como processo do tratamento, o seguimento dos pacientes deve ser rigoroso, pois mesmo após um procedimento bem sucedido de Kasai, pode haver progressão da lesão hepática, drenagem biliar não satisfatória e instalação da cirrose, e como desfecho o transplante de fígado (2, 11).

O diagnóstico se baseia essencialmente nos achados clínicos, elevação de bilirrubina predominantemente direta e na biópsia hepática, que revela proliferação ductular marginal, expansão fibrosa do espaço porta e presença de plugs biliares (12). Quando o diagnóstico é feito precocemente (classicamente antes de 12 a 16 semanas de vida), indica-se a portoenterostomia de Kasai (5), com o objetivo de se restabelecer o fluxo biliar. Quando o procedimento obtém sucesso, há retorno à coloração normal das fezes e regressão da icterícia. Cerca de 50% das portoenterostomias realizadas resultam

em sucesso parcial (melhora, mas não resolução completa da icterícia), 25% tem sucesso total (a criança se torna anictérica) e 25% não levam a nenhuma melhora na icterícia. De qualquer forma, apesar da cirurgia de Kasai (13) em sua maioria retardar a evolução da cirrose, praticamente todos os pacientes portadores de AVB em dado momento necessitam de transplante hepático (14, 15).

Assim, a AVB é a principal indicação de transplante hepático pediátrico, responsável por 60% das indicações nos maiores centros (5). Por ser o fígado o grande “laboratório” do corpo humano, com importante papel na metabolização de substâncias e homeostase do organismo, seu comprometimento pela cirrose gera uma série de distúrbios e desequilíbrios em vários órgãos e sistemas (16-18). Desta forma, existe desequilíbrio do balanço hídrico, com anasarca e formação de ascite, alterações volêmicas e hemodinâmicas, o que pode gerar algum grau de sobrecarga cardíaca, formação de shunts intrapulmonares, a hipoxemia crônica (síndrome hepatopulmonar), disfunção renal (síndrome hepatorenal), alterações neurológicas com sonolência e alterações de comportamento e de nível de consciência (encefalopatia hepática) (19, 20).

A partir da perda da função hepática e necessidade de um fígado novo por conta da cirrose, há a realização do transplante de fígado, a qual leva em média de cinco a oito horas a cirurgia. O procedimento começa com a retirada do fígado doente por uma incisão no abdômen superior, o fígado do doador é colocado na cavidade abdominal e os vasos sanguíneos (veia supra-hepática, veia porta e artéria hepática) são suturados. Há a reconstrução por fim, da via biliar que pode ser feita com o ducto do receptor ou com um segmento de intestino em alguns casos (21-23).

O transplante de fígado em crianças pode ser realizado através de dois tipos de doadores. O fígado obtido por cadáver, no qual todos os pacientes que necessitam de um transplante de fígado são inseridos em uma lista única, de acordo com a compatibilidade sanguínea (sistema ABO) e esperam até encontrar o fígado em boas condições e compatível com a criança. No caso do doador vivo, são realizados diversos exames de compatibilidade e estado de saúde do doador, na maioria das vezes com parentesco de primeiro grau, e por livre e espontânea vontade, o procedimento de retirada de uma parte do fígado, o lobo esquerdo ou segmento lateral esquerdo do adulto, é realizado e por sua

condição de regeneração o fígado do doador em alguns meses retorna ao tamanho fisiológico para suas demandas (24-26).

No Brasil, desde 2006 o critério da lista de espera para o transplante cadavérico respeita um índice baseado na gravidade da doença. O Ministério da Saúde (27) para caracterizar e classificar o grau de gravidade das doenças, utiliza o MELD (Model for End-Stage liver disease) para adultos, que é um índice de valor numérico de 6 a 40, e o PELD (Pediatric End- Stage liver disease) para as crianças menores de 12 anos. O PELD é composto pelos valores de bilirrubina, albumina, INR (índice normalizado derivado do tempo de protrombina) e o cálculo possui alguns ajustes de acordo com os meses de vida e déficit de crescimento. Apenas casos urgentes como hepatite fulminante possui prioridade absoluta na lista de espera (28, 29).

Para compensar (30) as demandas circulatórias, a adequação do miocárdio é um fator chave na capacidade do paciente cirrótico devido a sua resposta vascular anormal. Há uma diminuição da resistência vascular sistêmica e do débito cardíaco. Ocorre elevação da atividade simpática, conseqüentemente aumento considerável da frequência cardíaca (31). Apesar de já serem conhecidos os vários efeitos multissistêmicos da cirrose citados acima, não se sabe exatamente o comportamento do sistema nervoso autônomo (SNA) nas crianças portadoras de AVB com cirrose manifesta.

1.2 Sistema Nervoso Autônomo e Disfunção Autonômica nas Doenças Hepáticas

O SNA, através dos componentes simpáticos e parassimpáticos promove respostas em todos sistemas. No sistema cardiovascular há um controle neural ligado intimamente à frequência cardíaca e a atividade reflexa barorreceptora por meio de nervos aferentes e eferentes (32). A partir de impulsos aferentes provenientes de barorreceptores, quimioceptores, receptores ventriculares e/ou atriais, modificações do sistema vasomotor e/ou respiratório, sistema termorregulador e renina-angiotensina-aldosterona (33, 34), formam-se respostas por uma interação complexa de estímulo e inibição(32, 35).

O SNA divide-se em fibras simpáticas e parassimpáticas, e essas possuem diferenças anatômicas e fisiológicas. No sistema nervoso simpático, os neurônios pré-ganglionares localizam-se na medula tóraco-lombar e são curtos, já os neurônios pós-ganglionares estão longe dos órgãos e suas fibras são longas. No sistema nervoso parassimpático é ao contrário, os neurônios pré-ganglionares localizam-se crânio-sacral e são fibras longas, e os pós-ganglionares estão próximo aos órgãos e vísceras por serem fibras curtas. Isso interfere no tempo de transmissão dos estímulos e reação de cada sistema, devido a essas particularidades o sistema nervoso parassimpático é mais rápido do que o sistema nervoso simpático (36, 37).

O sistema gastrointestinal possui um sistema nervoso próprio, localizado na parede intestinal, começando no esôfago e se estendendo até o ânus. O número de neurônios é de aproximadamente 100 milhões e este sistema nervoso entérico (SNE) é bastante desenvolvido, controlando as funções de movimentos e da secreção gastrointestinal. O SNE é composto por dois plexos, o mioentérico e o submucoso; O plexo mioentérico controla os movimentos gastrointestinais, já o plexo submucoso controla basicamente, a secreção gastrointestinal e o fluxo sanguíneo local (38).

As fibras extrínsecas parassimpáticas e simpáticas se conectam com esses dois plexos, e embora o sistema entérico possua suas funções independente desses nervos extrínsecos, a estimulação pelo SNP e SNS pode intensificar ou inibir as funções gastrointestinais. A estimulação parassimpática aumenta a atividade gastrointestinal e a estimulação simpática diminui essa atividade. Já no fígado, o efeito autonômico simpático é liberação da glicose e a modulação do parassimpático a síntese de glicogênio (38).

Já foi descrito na literatura sobre a interação entre o fígado e o sistema nervoso autônomo, e como alterações nesses sistemas e/ou patologias graves podem provocar disfunções, inclusive, disfunção autonômica no indivíduo. Em 1964, Walker e Thomas, descreveram a neuropatia somática na cirrose biliar primária em estágio avançado, e após duas décadas descrita como uma complicação comum nesse tipo de doença do fígado (39).

Os índices do domínio do tempo por análise estatística são compostos por SDNN (Desvio padrão dos intervalos normal a normal), SDANN (desvio padrão da média do comprimento dos ciclos de 5 minutos da gravação), SDNNi (média do desvio padrão dos intervalos dos ciclos de 5 minutos de toda a gravação) que representam o aumento da atividade simpática ou retirada vagal (45, 46), rMSSD ("*root mean square successive differences*"), em que cada diferença é elevada ao quadrado, somada, e tirada a média deste resultado e então, obtida a raiz quadrada da média obtida) e pNN50 (proporção de ciclos em que a diferença é menor que 50 milissegundos) são encontrados a partir dos intervalos RR adjacentes (47) e representam a modulação parassimpática (32, 48-50).

No método de análise geométrico (32, 35, 51), o índice triangular é calculado a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais, o qual mostra no eixo horizontal (eixo x) o comprimento dos intervalos RR e no eixo vertical (eixo y) a frequência com que cada um deles ocorreu. A união dos pontos das colunas do histograma forma uma figura semelhante a um triângulo e a largura da base deste triângulo expressa a variabilidade dos intervalos RR.

O índice triangular (correspondente à base do triângulo) pode ser calculado ao dividir a área (corresponde ao número total de intervalos RR utilizados para construir a figura) e a altura (corresponde ao número de intervalos RR com frequência modal) do triângulo (35, 52). São analisados de maneira quantitativa os índices: RRtri, TINN e plot de Poincaré (SD1, SD2, relação SD1/SD2). O RRtri é calculado a partir da construção do histograma de densidade dos intervalos RR normais, e é obtido pela divisão da integral do histograma (isto é, o número total de intervalos RR) pelo máximo da distribuição de densidade (frequência modal dos intervalos RR), mensurado em uma escala discreta com caixas de 7.8125 ms (1/128 segundos) (47).

O TINN consiste na largura da linha de base da distribuição medida como a base de um triângulo, aproximando a distribuição de todos os intervalos RR, no qual a diferença dos mínimos quadrados é utilizada para determinação do triângulo (40).

Na análise quantitativa, o SD1 (Desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento) 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 (Desvio-padrão em longo prazo dos intervalos R-R contínuos) – representa a dispersão dos pontos ao longo da linha de identidade e representa a VFC em registros de longa duração. A relação SD1/SD2 mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (35).

A análise qualitativa pelo plot de Poincaré é visual e realizada por meio da figura formada pelo seu atrator, e que demonstra o grau de complexidade dos intervalos RR (53), através dos índices SD1 e SD2. A análise qualitativa (visual) do plot de Poincaré foi classificada como: – *Cometa*, na qual um aumento na dispersão dos intervalos RR batimento a batimento é observado com aumento nos intervalos RR, característica de um plot normal; – *Torpedo*, com pequena dispersão global batimento a batimento (SD1) e sem aumento da dispersão dos intervalos RR a longo prazo; – *Complexa ou parabólica*, na qual duas ou mais extremidades distintas são separadas do corpo principal do plot, com pelo menos três pontos incluídos em cada extremidade (54).

Os índices do domínio da frequência são os mais utilizados quando se trata de estudos com indivíduos em condição de repouso. Estes decompõem-se em componentes oscilatórios fundamentais (35, 55-58) sendo eles, alta frequência (High Frequency-HF) que corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação vagal no miocárdio, baixa frequência (Low Frequency-LF) mostrando a atuação global, com predominância do simpático, muito baixa frequência (Very Low Frequency-VLF) e ultra baixa frequência (Ultra Low Frequency- ULF) cuja a explicação fisiológica não está clara (58-60).

Os índices não lineares derivam da teoria do caos. A teoria do caos foi desenvolvida em 1960 pelo físico Edward Lorenz (1917-2008), e estuda acontecimentos imprevisíveis e caóticos classificados como estocásticos, sendo assim, situações que ocorrem mudanças nas suas condições iniciais podem no futuro apresentar resultados completamente diferentes. Essa descoberta ocorreu durante um experimento, no qual, ele percebeu que pequenas mudanças numéricas podiam gerar grandes consequências e referiu a esse momento com a frase: “o *bater de asas de uma borboleta em Tóquio pode provocar um furacão em Nova Iorque*”, nomeando-a como **efeito borboleta**, e ainda é tópico de discussões (61, 62)

O índice de recorrência (REC) representa a porcentagem do ponto recorrente. Nos sistemas dinâmicos a recorrência é uma propriedade fundamental que pode caracterizar o comportamento de um sistema no espaço de fase. Esses sistemas não-lineares demonstram uma variedade de comportamentos qualitativamente diferentes, como regimes caóticos. Já o índice Determinismo (DET) é a porcentagem de pontos recorrentes que aparecem em sequência, formando linhas diagonais na trama de recorrência (66) e D2, que estima o número mínimo de variáveis necessárias para construir um modelo de dinâmica do sistema. Quanto mais variáveis forem necessárias para prever a série temporal, maior será sua complexidade.

A análise simbólica é um método dos índices não lineares aplicados nos intervalos R-R para analisar a variabilidade da frequência cardíaca. O método é baseado na conversão da série em uma sequência de símbolos (67). A série simbólica é convertida em uma série de padrões de três símbolos. Quatro diferentes famílias de padrões podem ser identificadas: 0V, 1V, 2LV e 2UV em valores absolutos e porcentagem, representando a modulação simpática e vagal (68). Na tabela 1 há uma descrição dos principais índices supracitados bem como se representam modulação simpática, parassimpática ou ambas.

Uma complicação frequente nas doenças hepáticas é a neuropatia autonômica (NA), que por sua vez é grave e apresenta um risco cinco vezes maior de mortalidade nesses pacientes (69). Sendo assim, a hipótese deste trabalho é que há uma alteração na modulação autonômica cardíaca nas crianças com AVB, e que os valores dos índices da VFC sejam menores comparados as crianças saudáveis, identificando assim, o desequilíbrio fisiológico desta população e a gravidade da disfunção autonômica sobre o coração. A atuação do SNA em doenças hepáticas vem sendo estudada, contudo o número de estudos sobre a temática ainda é pequeno, principalmente, na faixa etária selecionada para este estudo.

O comprometimento das funções autonômicas e o mau prognóstico é descrito na literatura (69-71), no entanto, o primeiro estudo realizado em cirrose biliar primária na avaliação da função autonômica, avaliada pelos testes padrão do reflexo cardiovascular e pela análise da VFC 24 horas foi em 2004 (72). E, até então, não era sabido muito sobre a importância prognóstica das doenças hepáticas crônicas. Deste modo, mostra-se necessário uma avaliação em outro âmbito desses pacientes, no qual, a análise da VFC, método não invasivo, pode auxiliar na compreensão do comportamento do SNA das

crianças, com vista a prover um instrumento que possa corroborar com a literatura sobre efeitos cardiovasculares em crianças com hepatopatia grave que serão submetidas ao transplante de fígado.

Tabela 1: Índices da Variabilidade da Frequência Cardíaca

ÍNDICES LINEARES		
ÍNDICE	DESCRIÇÃO	MODULAÇÃO
SDNN	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em milissegundos(ms).	Simpático e parassimpático
rMSSD	É a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos R-R normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms.	Parassimpático (predominância)
pNN50	Representa a porcentagem dos intervalos RR adjacentes com a diferença de duração maior que 50ms.	Parassimpático
NN50	Quantidade absoluta (contagem) de intervalos NN que diferem mais de 50ms em relação ao intervalo anterior.	Parassimpático
RRtri	Índice Triangular (calculado a partir da construção do histograma de densidade dos intervalos RR normais).	Global
TINN	Interpolação dos intervalos RR normais.	Global
SD1	Desvio-padrão em longo prazo dos intervalos R-R contínuos.	Parassimpático

SD2	Desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento.	Global
SD1/SD2	A relação de ambos mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR.	Simpatovagal
HF	Com variação de 0,15 a 0,4Hz, que corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação do nervo vago sobre o coração.	Parassimpático
LF	Com variação entre 0,04 e 0,15Hz, que é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração, com predominância do simpático.	Simpático
LF/HF	Reflete as alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático do SNA, e caracteriza o balanço simpatovagal sobre o coração.	Simpatovagal
VLF	Componente de muito baixa frequência - potência contida na faixa abaixo de 0,04Hz.	Simpático e parassimpático

ÍNDICES NÃO LINEARES

DFA($\alpha 1$)	Componente Flutuações depuradas de tendência – corresponde ao período de 4 a 11 batimentos.	Parassimpático
DFA($\alpha 2$)	Componente Flutuações depuradas de tendência - Corresponde a períodos longos, acima de 11 batimentos.	Simpático
REC	Índice de Recorrência – Porcentagem do ponto recorrente na parcela de recorrência.	Mensura complexibilidade

---

DET	Índice de Determinismo- Porcentagem de pontos recorrentes que aparecem em sequência, formando linhas diagonais na trama de recorrência.	Mensura complexibilidade
D2	Dimensão de correlação- índice que indica o grau de adaptação de um indivíduo.	Mensura complexibilidade
0V	Padrões sem variação, todos os símbolos são iguais.	Simpático
1V	Padrões com uma variação, dois símbolos consecutivos são iguais e o outro é diferente.	Não definida
2LV	Padrões com duas variações semelhantes, o segundo e o terceiro símbolo mudam em relação ao anterior e as mudanças têm o mesmo sinal.	Parassimpático
2UV	Padrões com duas variações diferentes, o segundo e o terceiro mudança de símbolo em relação ao anterior e as mudanças têm sinal oposto.	Parassimpático

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo é analisar a modulação autonômica cardíaca em crianças com doença hepática grave.

Os objetivos específicos são:

- Comparar os índices lineares e não lineares do grupo controle com o grupo de crianças com AVB.
- Associar a modulação autonômica das crianças com AVB com o grau de gravidade da doença definido pelo índice PELD.

3. MÉTODO

3.1 Tipo de Estudo

Estudo transversal quantitativo analítico com análise da modulação autonômica da frequência cardíaca de crianças diagnosticadas com cirrose hepática decorrente de AVB antes do transplante de fígado.

3.2 População / Aspectos Éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP (CEP: 13.752/2015) (anexo 1).

Foram analisadas crianças portadoras de AVB incluídas na lista de transplante e atendidas no ambulatório de Cirurgia Pediátrica e Transplante Hepático do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, de ambos os sexos, com idade entre 6 meses de vida até os 3 anos de idade.

O cálculo amostral foi realizado a partir de um estudo piloto com 5 crianças (Crianças com AVB média do PELD 39,4), idade média de 9,4 meses em cada grupo. Utilizou-se média e desvio padrão, no qual foram testadas três variáveis mais usuais. Teste bicaudal com significância de 5% e poder do teste de 90%. No cálculo amostral RMSSD $n=15$, SD1 $n=15$ e HF(ms^2) $n=19$. O programa utilizado para realizar o teste foi o Stata 12.0.

A amostra foi composta por dois grupos, o G1 (grupo de crianças com AVB) e o G2 (grupo de crianças saudáveis). No G1 (figura 3) foi verificado através do prontuário o valor do PELD e a classificação do mesmo na lista, se estivesse $\leq 15^a$ posição, realizou-se a coleta dos dados. Já o G2 (figura 4) foi constituído por crianças saudáveis atendidas no Ambulatório de Cirurgia Pediátrica da mesma instituição, portadoras de patologias leves em programação cirúrgica, como fimose ou hérnia inguinal/umbilical, sem

3.4 Critérios de Exclusão

Foram considerados como critérios de exclusão pacientes com distúrbios cardiopulmonares não decorrentes da cirrose, assim como distúrbios neurológicos, ou qualquer outro impedimento do paciente sobre a realização dos procedimentos.

3.5 Avaliação Inicial

Após identificação dos pacientes foram realizadas as coletas dos seguintes dados: idade, sexo, peso, altura, medicamentos e colocação na lista de espera para transplante com a pontuação do PELD. Estes dados foram acessados antes do procedimento da coleta da VFC com base nas informações disponíveis nos prontuários. As coletas foram realizadas no período diurno (9h às 15h) para não haver interferência do ciclo circadiano.

3.6 Instrumentos

(a) Prontuários Médicos: As informações dos prontuários médicos foram utilizadas para coleta de dados, histórico da doença e análise de critérios de inclusão e exclusão.

(b) Pediatric End-Stage Liver Disease (PELD):

O valor numérico do PELD estima prognóstico para pacientes pediátricos (menores de 12 anos) com doenças hepáticas, e é usado para priorizar pacientes na fila do transplante. Quanto maior o índice calculado, mais crítico é o estado do paciente e melhor a colocação na lista de espera. Para o cálculo deste índice são consideradas as taxas de bilirrubina, INR (fator de coagulação), albumina e também a idade do paciente e se o paciente tem déficit de crescimento. Neste estudo serão avaliadas as crianças que estiverem entre os quinze primeiros na fila para o transplante, ou seja, as maiores pontuações no score PELD.

Fórmula PELD:

$PELD = 10 \times [0,480 \times \text{Log}_e(\text{bilirrubina mg/dl}) + 1,857 \times \text{Log}_e(\text{INR}) - 0,687 \times \text{Log}_e(\text{albumina mg/dl}) + 0,436 \text{ se o paciente tiver até 24 meses de vida} + 0,667 \text{ se o paciente tiver déficit de crescimento} < 2] (27).$

3.7 Protocolo Experimental

Após a avaliação inicial, o receptor de frequência cardíaca (figura 5) Polar RS800CX (Polar Electro, Finlândia) (75), equipamento previamente validado (75, 76) para captação da frequência cardíaca batimento a batimento, foi posicionado no tórax das crianças, na região do terço distal do esterno com cinta de captação (figura 6).

A coleta de dados foi realizada em uma sala específica. No caso das crianças maiores, colaborativas, os voluntários foram orientados a manterem-se sentados em repouso, evitar conversas durante a coleta ou mesmo movimentos bruscos durante a coleta, que poderiam influenciar a modulação autonômica cardíaca. No caso das crianças pequenas e pouco colaborativas, permaneceram sentadas no colo da mãe (figura 7), em um ambiente e situação confortável para que não houvesse alteração dos parâmetros.

Os procedimentos necessários para a coleta de dados foram explicados de forma individual, para as mães e para as crianças, de forma mais simplificada para que conseguissem compreender. O protocolo foi aplicado com os voluntários sentados e os mesmos permaneceram em repouso com respiração espontânea durante 20 minutos. O procedimento foi realizado em consulta ambulatorial prévia ao transplante no G1 e à cirurgia eletiva no G2. Os cinco primeiros minutos da coleta não foram incluídos na avaliação, pois era um período de adaptação e estabilização da criança.

- pNN50- Representa a porcentagem dos intervalos RR adjacentes com a diferença de duração maior que 50ms;
- nn50- quantidade absoluta (contagem) de intervalos NN que diferem mais de 50ms em relação ao intervalo anterior;
- RRtri- Índice Triangular (calculado a partir da construção do histograma de densidade dos intervalos RR normais);
- TINN- Interpolação dos intervalos RR normais;
- SD1- Desvio-padrão em longo prazo dos intervalos R-R contínuos;
- SD2- Desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento;
- SD1/SD2- A relação de ambos mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR;
- Plot de Poincaré (SD1, SD2, relação SD1/SD2).

Na análise qualitativa (visual) do plot de Poincaré as figuras foram classificadas como no exemplo abaixo.

Cometa, na qual um aumento na dispersão dos intervalos RR batimento a batimento é observado com aumento nos intervalos RR, característica de um plot normal (47);

Figura 11: Análise do Plot de Poincaré em forma de cometa (41).

Torpedo, com pequena dispersão global batimento a batimento (SD1) e sem aumento da dispersão dos intervalos RR a longo prazo;

Figura 12: Análise do Plot de Poincaré em forma de torpedo.

Complexa ou parabólica, na qual duas ou mais extremidades distintas são separadas do corpo principal do plot, com pelo menos três pontos incluídos em cada extremidade.

Figura 13: Análise do Plot de Poincaré em forma complexa ou parabólica.

3.8.2 Análise dos Índices da Frequência da Variabilidade da Frequência Cardíaca

Para análise da VFC no domínio da frequência foram utilizados os componentes espectrais de baixa frequência, alta frequência e relação LF/HF, em ms² e unidades normalizadas.

- Componente de alta frequência (High Frequency – HF), com variação de 0,15 a 0,4Hz, que corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação do nervo vago sobre o coração;
- Componente de baixa frequência (Low Frequency – LF), com variação entre 0,04 e 0,15Hz, que é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração, com predominância do simpático;
- Relação LF/HF reflete as alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático do SNA, e caracteriza o balanço simpatovagal sobre o coração (56);
- VLF (Very Low Frequency) – componente de muito baixa frequência – potência contida na faixa abaixo de 0,04Hz.

Para obtenção dos índices espectrais o tacograma de frequência sofre processamento matemático, e forma um gráfico que expressa a variação dos intervalos RR em função do tempo. O tacograma contém um sinal aparentemente periódico que oscila no tempo e que é processado por algoritmos matemáticos, como a transformada rápida de Fourier (FFT) ou modelos auto-regressivos (AR) (32).

O método FFT é utilizado para obter uma estimativa de potência espectral da VFC durante fases estacionárias do experimento com a finalidade de permitir comparações entre os resultados de estudos (45). A facilidade de aplicação desse método e a boa apresentação gráfica são as principais razões para sua maior utilização(32).

3.8.3 Análises não lineares da Variabilidade da Frequência Cardíaca

A análise não linear da VFC possui poder prognóstico diferenciado dos índices da VFC, pois essa análise sugere que os mecanismos envolvidos na regulação cardiovascular interagem entre si de forma não linear (55, 66). Existem vários índices que foram utilizados neste trabalho:

- DFA (Flutuações depuradas de tendência) $\alpha 1$ – corresponde ao período de 4 a 11 batimentos;
- DFA (Flutuações depuradas de tendência) $\alpha 2$ – Corresponde a períodos longos, acima de 11 batimentos;
- REC (Recorrência) – Porcentagem do ponto recorrente na parcela de recorrência;
- DET (Determinismo) – Porcentagem de pontos recorrentes que aparecem em sequência, formando linhas diagonais na trama de recorrência;
- D2 – Dimensão de correlação, que estima o número mínimo de variáveis necessárias para construir um modelo de dinâmica do sistema.

3.8.4 Análise Simbólica da Variabilidade da Frequência Cardíaca - Índices não lineares

Análise simbólica converte os intervalos R-R da VFC em símbolos e avalia a frequência em que eles acontecem no período do registro. A dinâmica completa da série é distribuída por seis compartimentos, cada um dos quais é identificado por um número (símbolo) de 0 a 5. Os valores originais dentro de cada caixa são substituídos pelo símbolo que define a caixa específica, obtendo assim uma série simbólica. A série simbólica é convertida em uma série de padrões de três símbolos. Quatro diferentes famílias de padrões podem ser identificadas:

- 0V (padrões sem variação, todos os símbolos são iguais);

- 1V (padrões com uma variação, dois símbolos consecutivos são iguais e o outro é diferente);
- 2LV (padrões com duas variações semelhantes, o segundo e o terceiro símbolo mudam em relação ao anterior e as mudanças têm o mesmo sinal);
- 2UV (padrões com duas variações diferentes, o segundo e o terceiro mudança de símbolo em relação ao anterior e as mudanças têm sinal oposto) (67, 68, 77).

4. ANÁLISES DE DADOS

Neste trabalho foi realizada uma análise de comparação da VFC intergrupos, o G1 no qual foram alocadas as crianças com AVB e o G2 alocado as crianças do grupo controle. Realizou-se uma análise de correlação entre índices da VFC e os valores de PELD do G1. Para a análise dos dados com variáveis quantitativas, inicialmente realizamos o teste de Shapiro Wilk para verificar a presença de normalidade. Nas variáveis com dados com distribuição normal, utilizamos o teste t de Student não pareado. Já nos casos sem distribuição normal, utilizamos o teste de Mann-Whitney. Já na correlação foi verificada a normalidade, e utilizamos Person para variáveis paramétricas e Spearman para não-paramétricas.

A análise de regressão quantílica foi realizada para estimar o efeito dos valores da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com AVB em relação ao grupo controle, ou seja, se o valor da diferença entre os índices dos dois grupos era considerado de grande efeito. Os modelos de regressão quantílica apresentam efeitos causais das covariáveis sobre a resposta de diferentes quantis da distribuição da mesma, estudam o efeito de uma ou mais covariáveis exerce sobre o tempo até a ocorrência de um evento específico.

Os dados foram apresentados na forma de média e desvio padrão (DP), mediana e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando o “p” foi menor do que 0,05. E para mensurar o tamanho do efeito utilizou-se o teste de Cohen, para potencializar a análise estatística. O programa utilizado para a realização destas análises foi o STATA 12.0.

5. RESULTADOS

Nosso estudo apresenta os resultados de 42 pacientes: 21 crianças com AVB e 21 crianças do ambulatório sem doença relatada. A tabela 2 dos nossos resultados apresenta a caracterização da amostra. As crianças foram pareadas por sexo, sendo assim, em ambos os grupos 66,67% são meninos e 33,33 são meninas.

No grupo de doença hepática, eles usaram medicamentos para controlar os efeitos da hepatopatia: 15% utilizaram propranolol, 30% espironolactona, 10% furosemida, 30% rifamicina, 15% sulfametoxazol+trimetopim 35% ácido ursodesoxicólico, 5% Cloridrato de ciprofloxacina e 10% omeprazol.

Na tabela 3, na análise dos índices do domínio do tempo, observou-se diferença significativa com a diminuição dos índices SDNN, RMSSD, NN50 e pNN50 das crianças com hepatopatia comparado ao controle. Os índices do domínio da frequência da VFC, com o teste não paramétrico de *Mann-Whitney* apresentaram diferença estatística nos índices LF (ms^2), HF (ms^2) e VLF e a relação LF/HF que indica uma diminuição nos dois sistemas (simpático e parassimpático) comparando o grupo de crianças com hepatopatia e o controle. E a análise dos índices geométricos da VFC a partir do teste de *Mann-Whitney* indicou que há significância estatística nos índices RRTri, TINN, SD1 e SD2, indicando uma diminuição global da VFC no grupo de crianças com atresia de vias biliares, diminuição em índices parassimpáticos (rMSSD, NN50, pNN50, HF, SD1), globais (RRTri, TINN, SD2) índices simpáticos (SDNN e LF).

Tabela 2: Descrição da amostra do grupo de crianças com AVB (n=21) e do grupo controle (n=21).

Index	Mediana (I.C.)		P
	AVB (n=21)	Controle (n=21)	
Idade (meses)	14 (9.45; 23.09)	16 (10.80; 25.54)	0.89
Peso (kg)	9.29 (7.48; 11.11)	11.3 (9.50; 12.95)	0.11
Altura (cm)	0.73 (0.69; 0.80)	0.83 (0.72; 0.87)	0.12
PELD	16 (13; 19.77)	-	
PELD ajustado	48 (33.69; 59.30)	-	
Média FC	130.42 (126.18; 136.58)	132.97 (125.40; 140.11)	0.77

Mediana e intervalo de confiança para as variáveis. Teste de normalidade de ShapiroWilk. * Significado $p < 0,05$ (teste t de Student) # Significado $p < 0,05$ (Mann-Whitney). Média FC: Média da Frequência Cardíaca.

Tabela 3: Índices lineares de Variabilidade da Frequência Cardíaca – Domínio do Tempo, Domínio da Frequência e Geométricos.

Índices	Mediana (I.C.)		P	Cohen's d
	AVB (n=21)	Controle (n=21)		
SDNN (ms)	13.6 (11.23; 18.45)	22.8 (18.96; 26.50)	<0.01#	1.39
rMSSD(ms)	8.10 (5.97; 9.80)	11 (9.69; 14.77)	<0.01#	1.11
NN50	0 (0; 1)	2 (0; 4)	0.01#	0.38
pNN50	0 (0; 0.1)	0.2 (0; 0.35)	0.02#	0.55
LF (ms ²)	61 (27.45; 102.48)	146 (123.90; 200.72)	<0.001#	1.23
HF (ms ²)	11 (6; 33.55)	48 (41.80; 80.64)	<0.001#	1.01
VLF	80 (51; 113.60)	304 (152.59; 388.21)	<0.001#	1.31
LF/HF	3.23 (2.71; 5.73)	3.32 (2.71; 4.09)	0.01#	0.29
RRTri	4.38 (3.44; 5.19)	7.21 (5.97; 9.35)	0.01#	1.63
TINN	60 (52.26; 85)	110 (97.26; 132.74)	<0.001*	1.47
SD1	6 (4.34; 7)	7.80 (6.89; 10.46)	<0.01#	1.08
SD2	18.6 (15.29; 24.99)	31.40 (26.17; 36.18)	<0.001#	1.41
SD1/SD2	0.27 (0.24; 0.33)	0.27 (0.25; 0.31)	0.81	0.37

Mediana e intervalo de confiança para as variáveis. Teste normalidade de ShapiroWilk. * Significado $p < 0, 05$ (teste t de Student) # Significância $p < 0, 05$ (teste de Mann-Whitney) e d de Cohen (tamanho do efeito). SDNN: desvio padrão dos intervalos RR, RMSSD: quadrado médio da raiz quadrada das diferenças entre os intervalos RR adjacentes, NN50: número de intervalos RR com intervalos adjacentes maiores que 50ms, pNN50: porcentagem de intervalos RR adjacentes maiores que 50 ms. LF: baixa frequência, HF: alta frequência, VLF: frequência muito baixa, LF / HF: equilíbrio simpatoavagal, ms²: metros / segundos². RRtri: Índice Triangular, TINN: Interpolação de intervalos RR normais, SD1: Desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento, SD2: Desvio padrão a longo prazo de intervalos RR contínuos, SD1 / SD2: Equilíbrio simpatoavagal.

Nos índices não-lineares da VFC, foi observado significância estatística no índice D2 entre o grupo controle e o grupo de crianças com hepatopatia (tabela 4).

Tabela 4: Descrição dos índices não lineares de variabilidade da frequência cardíaca crianças com hepatopatias graves (n=21) comparado com controles (n=21) pareados por sexo, São Paulo, SP, 2015-2017.

Índices	Mediana (I.C)		
	AVB (n=21)	Controle (n=21)	P
REC	41,75 (38,87; 44,52)	39,85 (37,98; 41,94)	0,24
DET	99,28 (98,85; 99,39)	99,26 (99,01; 99,40)	0,99
DFA ($\alpha 1$)	1,26 (1,20; 1,35)	1,28 (1,20; 1,34)	0,68
DFA ($\alpha 2$)	1,10 (1,02; 1,16)	1,05 (0,98; 1,13)	0,26
D2	0,04 (0,00; 0,14)	0,30 (0,18; 0,45)	<0,01**

*Significância p <0,05 (Teste t de *Student*) **Significância p <0,05 (Teste de *Mann-Whitney*). REC: Recorrência, DET: Determinismo, DFA: *Detrend Fluctuation Analysis* (Análise de flutuações depuradas), D2: Dimensão de correlação (indica adaptação do indivíduo).

A tabela 5 demonstra a relação entre os índices da VFC e o PELD os pacientes com hepatopatia, não resultou em valores significativos de correlação, como segue na tabela 5 abaixo.

Tabela 5: Análise de Correlação do PELD com os Índices da Variabilidade da Frequência Cardíaca.

PELD		
	rho	p
SDNN (ms)	-0,16	0,51
rMSSD(ms)	-0,19	0,41
nn50	0,02	0,93
pNN50	0,02	0,94
rrTri	-0,39	0,09
TINN	-0,15	0,53

LF (ms ²)	-0,10	0,67
LF (nu)	0,19	0,43
HF (ms ²)	-0,12	0,62
HF (nu)	-0,11	0,64
VLF	-0,28	0,23
LFHF	-0,25	0,28
SD1	-0,21	0,38
SD2	- 0,20	0,39
REC	0,21	0,37
DET	0,07	0,76
DFA α 1	0,06	0,79
DFA α 2	0,17	0,46
D2	-0,11	0,64

*Significância $p < 0,05$. Teste de Correlação de Spearman. SDNN: desvio padrão dos intervalos RR, RMSSD: quadrado médio da raiz quadrada das diferenças entre os intervalos RR adjacentes, NN50: número de intervalos RR com intervalos adjacentes maiores que 50ms, pNN50: porcentagem de intervalos RR adjacentes maiores que 50 ms. LF: baixa frequência, HF: alta frequência, VLF: frequência muito baixa, LF / HF: equilíbrio simpátovagal, ms²: metros / segundos². RRtri: Índice Triangular, TINN: Interpolação de intervalos RR normais, SD1: Desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento, SD2: Desvio padrão a longo prazo de intervalos RR contínuos, SD1 / SD2: Equilíbrio simpátovagal. REC: Recorrência, DET: Determinismo, DFA: Detrend Fluctuation Analysis (Análise de flutuações depuradas), D2: Dimensão de correlação (indica adaptação do indivíduo).

Na tabela 6, observa-se a regressão interquartílica a partir da variável de desfecho PELD em escala logarítmica para comparar o grupo controle e o grupo com doença hepática e as variações dos índices. Nessa análise observamos o quanto a diferença nos valores dos dois grupos para o mesmo índice é significativa, e a capacidade de predição do modelo, quanto mais próximo de 1, mais adequado é o modelo.

Tabela 6: Regressão Quantílica na influência dos índices lineares de variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença hepática.

Índices	β (95% IC)	p	r ²
SDNN (ms)	9.19 (-15.26; -3.13)	0.004	0.16
rMSSD(ms)	-2.90 (-6.39; 0.59)	0.102	0.09
NN50	-2.00 (-3.88; -0.11)	0.038	0.04
pNN50	-0.20 (-0.38; -0.02)	0.034	0.04
LF (ms ²)	-85.00 (-149.13; -20.86)	0.011	0.18
HF (ms ²)	-37.00 (-65.78; -8.21)	0.013	0.16
VLF	-224.00 (-282.72; -165.27)	<0.001	0.22
LF/HF	2.42 (1.20; 3.63)	<0.001	0.0005
RRTri	-2.76 (-4.28; -1.24)	0.001	0.0002
TINN	-50.00 (-84.09; -15.90)	0.005	0.18
SD1	-1.80 (-4.01; 0.41)	0.108	0.09
SD2	-12.80 (-21.19; -4.40)	0.004	0.16
SD1/SD2	-	-	-

β : Coeficiente angular; IC95%: intervalo de confiança de 95% p: probabilidade; r: capacidade preditiva do modelo.

Nos gráficos abaixo, podemos observar a análise simbólica da VFC, o qual os índices 1V e 2LV valores absolutos e porcentagem apresentaram diferença estatística significativa ao comparar o grupo controle e o grupo hepatopata.

Média das variáveis. Teste normalidade de ShapiroWilk. * Significado p <0, 05 (teste t de Student). Software: CardioSeries v2.7

Figura 15: Análise simbólica da VFC - OV unidades absolutas e porcentagem.

Média das variáveis. Teste normalidade de ShapiroWilk. * Significado p <0, 05 (teste t de Student). Software: CardioSeries v2.7

Figura 16: Análise Simbólica da VFC – 1V unidades absolutas e porcentagem.

Figura 17: Análise Simbólica da VFC - 2LV unidades absolutas e porcentagem.

Figura 18: Análise Simbólica da VFC - 2UV unidades absolutas e porcentagem.

6. DISCUSSÃO

O Instituto da Criança (ICr) do Hospital das Clínicas da FMUSP é centro de referência em transplante de fígado pediátrico de São Paulo, e recebe pacientes de todo Brasil. Apesar da demanda dos pacientes ser grande e abrangente nos tipos e estágios de doenças hepáticas, para minimizar os possíveis vieses, neste estudo delimitamos a amostra pelo score de PELD dos pacientes, sendo assim, apenas pacientes entre os 15 primeiros lugares na lista de espera para transplante de fígado foram avaliados, comparamos os índices de VFC em crianças cirróticas com crianças saudáveis pareadas por sexo e idade.

Esta pesquisa teve como objetivo analisar a modulação autonômica cardíaca em crianças com doença hepática, para identificar o comportamento do sistema nervoso autonômico nessas crianças e compará-las com crianças saudáveis, e associar esse comportamento com o grau de gravidade da doença hepática. A ferramenta utilizada para este estudo foi o cardiofrequencímetro da marca Polar RS800CX®, instrumento validado na literatura (47, 76).

Apesar de existirem vários métodos de análise o SNA, como bloqueio farmacológico total das atividades simpáticas e vagal cardíacos (78), manobra de valsalva (79), teste de sensibilidade barorreflexa da FC induzidas por drogas (80, 81), teste da indução passiva da postura ortostática – “*Head-up tilt table test*” (82), o teste das respostas barorreflexas da FC induzidas por estimulação compressiva e descompressiva do seio carotídeo (83), teste de exercício dinâmico em esteira (84), resposta da pressão arterial ao frio – “*cold pressure test*” (85), esforço manual isométrico- “*handgrip test*” (86), indução do estresse mental (87), análise da variação barorreflexa dos intervalos RR do eletrocardiograma convencional (88), este estudo utilizou o aparelho cardiofrequencímetro, que é não-invasivo, de baixo-custo e prático, principalmente, por se tratarem de crianças não colaborativas, o instrumento mostrou-se a melhor ferramenta de avaliação.

A estimulação do sistema nervoso simpático (SNS) no fígado é de grande valia durante o exercício, pois promove a rápida degradação do glicogênio, formando glicose no fígado e fornecendo assim, suprimento de nutrientes a curto prazo. Contudo, em

momentos de repouso, o fisiológico é a atuação maior do sistema nervoso parassimpático (SNP), que atua no processo de digestão até a evacuação aumentando o peristaltismo dos órgãos e estimulando a secreção de substâncias, como o suco gástrico e a bile (89). Sendo assim, o esperado para as crianças saudáveis é uma maior modulação parassimpática, e em função da doença e desequilíbrio dos sistemas nas crianças com AVB uma maior modulação simpática.

Um estudo com 33 pacientes por 10 meses, constatou com a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, que os pacientes com neuropatia autonômica (NA) tiveram uma mortalidade significativamente maior (27%) comparados com aqueles sem NA (0%). Neste mesmo estudo, dois pacientes morreram logo após o transplante de fígado e ambos tiveram NA, apesar de, as várias razões por estas mortes, é possível que parcialmente estava relacionada a fatores metabólicos e respostas autonômicas não adequadas a eventos estressantes, sugerindo assim, considerar observação precoce para prognóstico (70). Essas observações precoces podem ser realizadas por meio de avaliações da modulação autonômica, como realizamos neste estudo.

O mau funcionamento do SNA é caracterizado pela disfunção autonômica que afeta a saúde. A prevalência de disfunção autonômica é de 71% em cirrose biliar primária (90). Uma alta variabilidade nos intervalos R-R indica uma boa condição física dos indivíduos, com exceção de comportamento patológicos como arritmias, fibrilações atriais, por exemplo. Desta forma é uma ferramenta capaz de prever complicações cardíacas por meio do sistema nervoso autônomo (47).

Os resultados demonstraram diferença significativa nos índices da VFC entre as crianças com AVB e o grupo controle. Na análise do domínio do tempo os valores dos índices SDNN, RMSSD, NN50 e pNN50 são menores no grupo de crianças com hepatopatia comparados ao grupo controle, isso representa uma diminuição da modulação parassimpática no SNA nas crianças com atresia de vias biliares. A atuação vagal em pacientes com doenças crônicas do fígado é deficitária, o que vai ao encontro de outros estudos da temática (3, 91-93).

Em um estudo longitudinal (93), foi investigada a modulação autonômica em adultos antes do transplante de fígado até 33 meses após, e foi comparada com adultos saudáveis. Encontrou-se uma normalização da VFC global após alguns meses do

transplante pelo índice SDNN, contudo, o comprometimento parassimpático não foi normalizado após o transplante de fígado. Já em estudo com crianças, foi investigado o impacto da má nutrição e a modulação autonômica cardíaca, os resultados apresentaram nos índices SDNN, rMSSD, NN50, pNN50, SD1, SD2, TINN, LF (ms²), e HF (ms²) diminuição em comparação a crianças saudáveis, concluindo que houve uma diminuição tanto na modulação simpática quanto na modulação parassimpática do SNA (94).

A função do SNA em pacientes com cirrose não alcoólica, seus possíveis desfechos e o trânsito intestinal anormal foi estudado em 32 crianças, e verificou-se que a disfunção autonômica parece predispor os pacientes cirróticos ao desenvolvimento da encefalopatia e pode estar associada a um mau prognóstico desses pacientes. Além disso, a disfunção autonômica e o trânsito intestinal tardio estão relacionados a gravidade da doença (3).

Um estudo sobre doença crônica do fígado, causada pelo vírus da hepatite C em adultos de 30 a 50 anos, identificou a disfunção autonômica cardiovagal nesses pacientes (95). A disfunção autonômica na cirrose hepática está associada a um mau prognóstico e maior mortalidade, segundo estudo de Negru et.al., que avaliou um grupo com pacientes com mais de 50 anos. Além disso, verificaram que os índices SDNN e SDANN podem ser utilizados como marcadores prognósticos, pois se correlacionam negativamente com o escore de *Child-Pugh*, independente da etiologia da cirrose (91). E nossos resultados mostraram uma diminuição no índice SDNN.

Ao investigar pacientes com cirrose hepática, o eixo hipotalâmico do SNA e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), por estes serem estimulados em paralelo a fatores de resposta de estresse, concluiu-se que os pacientes com cirrose hepática avançada são caracterizados por endotoxemia e uma circulação hiperdinâmica, promovendo uma perda dos hormônios dos eixos HPA em relação às citocinas pró-inflamatórias e dos neurotransmissores do sistema nervoso simpático, o que consequentemente, pode levar a uma regulação aumentada do tônus simpático (96).

Nos índices da frequência as diferenças significativas foram no LF (ms²) e no HF (ms²). O primeiro é decorrente da ação conjunta dos sistemas parassimpáticos e simpáticos, com predominância simpática, já o segundo corresponde a modulação respiratória, e é indicador do nervo vago (47). Os valores dos dois índices foram menores

no grupo de crianças com hepatopatia do que no grupo controle, demonstrando uma diminuição simpátovagal na modulação autonômica. No entanto, como não foi verificado a frequência respiratória das crianças a diminuição do índice HF (ms^2) no grupo com hepatopatia, tal diferença pode estar relacionada com dificuldade respiratória induzida pela gravidade da doença e/ou com a disfunção autonômica.

Nossos dados sugerem modulação vagal diminuída nas crianças com atresia de vias biliares. Ademais, existe uma associação mais forte com o prognóstico de doenças cardiovasculares, síndromes metabólicas e mortalidade; A diminuição do índice VLF tem sido associado ao aumento da inflamação crônica e essa banda representa o componente de "recuperação lenta" da VFC (97), o que fortalece nossos resultados, pois nossos achados mostram que nessa doença, que envolve uma inflamação crônica do fígado e um desequilíbrio do sistema da angiotensina, o VLF diminui comparado ao grupo controle.

Os índices geométricos apresentaram diferença estatisticamente significativa tanto na atividade simpática, quanto na atividade parassimpática, representadas pelos índices RRTri, TINN, SD1 e SD2, confirmando que a disfunção autonômica é global nas crianças com doença hepática grave. A representação do plot de Poincaré (figura 14) mostra visualmente a diferença entre os grupos.

Através de um teste de sensibilidade barorreflexa, Barron et.al. encontraram o tônus vagal deprimido em pacientes cirróticos em espera de transplante hepático (98). O que condiz com os nossos resultados e era o que esperávamos encontrar, apesar do pouco conteúdo na literatura em crianças. A explicação fisiopatológica de como se dá essa disfunção ainda não está muito bem clara e concisa no meio científico. Observamos também, que não houve correlação entre os índices da VFC testados e a doença hepática em questão, talvez porque nossa amostra não seja suficiente para tal análise, e não há nada na literatura descrevendo sobre essa questão.

Nos resultados dos índices não lineares foi encontrada diferença estatística em D2, que representa a complexibilidade do sistema e sugere que o sujeito está confortável e adaptado à situação ou não. Na análise simbólica, houve significância estatística no índice 1V, que representa a modulação global, e do índice 2LV de modulação parassimpática. O 1V está aumentado nos valores absolutos comparado ao grupo controle, porém diminuído ao observar a porcentagem comparado ao total daqueles indivíduos. Já no 2LV

apresenta diminuição tanto em valores absolutos quanto em porcentagem. E a análise de regressão interquartílica revela um aumento significativo entre o valor variáveis da VFC (SDNN, NN50, pNN50, LF, HF, VLF, RRTri, TINN e SD2) e na comparação dos dois grupos, demonstrando a capacidade preditiva deste modelo.

As implicações desse desequilíbrio ocorrem não só em âmbito cardiovascular, mas também cognitivo. Na disfunção autonômica independente da gravidade da doença hepática, há associação ao pior desempenho nos testes cognitivos e pode prever risco de declínio cognitivo (99). Além disso, as crianças com risco para transtornos do desenvolvimento motor e com atraso no desenvolvimento motor possuem menor complexidade do controle autonômico cardíaco e ajuste autonômico, e diminuição da modulação parassimpática em comparação às crianças tipicamente desenvolvidas (100). Salientando assim, a importância da avaliação precoce e diagnóstico dessa disfunção autonômica, para que as crianças possam ter acompanhamento adequado em sua totalidade e humanizado, e um melhor prognóstico não só em relação a doença hepática grave.

Nossa hipótese é baseada em estudos anteriores com adultos de que a baixa VFC nessas crianças é um efeito no sistema cardiovascular através de vários distúrbios: Primeiro, as inflamações hepáticas e a apoptose do tecido hepático contribuem para a perda da função hepática e o aumento de toxinas no sangue. Simultaneamente, na disfunção ocorre desequilíbrio hídrico, o progresso causa desequilíbrio na renina-angiotensina-aldosterona pelo aumento da angiotensina II, importante regulador da pressão arterial e homeostase dos eletrólitos renais. Nesta pesquisa, tentamos discutir sobre a doença hepática em crianças (não alcoólicas), mas há uma lacuna na literatura sobre esse tema nessa população, o que dificulta uma discussão profunda específica para essa faixa etária.

As limitações do estudo são devido à pouca literatura sobre a faixa etária em questão e também nós não avaliamos alguns dados como frequência respiratória, relação cintura/pescoço das crianças e pressão arterial diastólica e sistólica que poderiam auxiliar e corroborar com nossos resultados; Não tivemos um número muito grande na amostra e talvez por isso a falta de significância da associação entre os índices e o PELD; A faixa etária também reduz o tipo de desenho de pesquisa e intervenções adequadas e de fácil

---

execução e reprodução, como por exemplo, encontramos estudos com VFC e exercício físico, tilt teste, esforço mental, dentre outros.

Por fim, há poucos estudos sobre modulação autonômica cardíaca e doenças hepáticas graves em crianças, as pesquisas geralmente, são em adultos e idosos. Destaca-se assim a importância deste estudo pela novidade que ele traz no meio científico sobre a temática: os efeitos da doença hepática no sistema nervoso autônomo, a implicação clínica da disfunção autonômica e a morbidade cardiovascular nessa população.

7. CONCLUSÃO

Ao comparar as crianças com doença hepática grave (AVB) com crianças saudáveis concluiu-se que:

- Há alteração da variabilidade da frequência cardíaca nas crianças com atresia de vias biliares.
- Os índices lineares da VFC são estatisticamente diferentes comparando os grupos.
- Os índices não lineares da VFC são estatisticamente diferentes comparando os grupos (D2 e duas variáveis simbólicas).
- Não houve associação entre a modulação autonômica cardíaca e o grau de gravidade da doença no grupo de crianças com cirrose hepática.

Conclui-se assim, que há uma diminuição da variabilidade da frequência cardíaca na modulação parassimpática e simpática nas crianças com atresia de vias biliares.

8. ANEXOS

ANEXO 1. Parecer Consubstanciado do CEP

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM CRIANÇAS PORTADORAS DE ATRESIA DAS VIAS BILIARES ANTES E DEPOIS DO TRANSPLANTE HEPÁTICO

Pesquisador Responsável: Ana Cristina Aoun Tannuri

Versão: 1

Pesquisador Executante: Joice Anaíze Tonon do Amaral

CAAE: 46112615.9.0000.0068

Co-autores: Renata Salatini, Luiz Carlos de Abreu, Uenis Tannuri

Finalidade Acadêmica: Doutorado

Orientador: Ana Cristina Aoun Tannuri

Instituição: HCFMUSP

Departamento: CIRURGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 13752

Número do Parecer: 1.133.292

Data da Relatoria: 01/07/2015

Apresentação do Projeto: O projeto está apresentado com clareza, descrevendo a atresia das vias biliares e suas consequências.

Objetivo da Pesquisa: O objetivo da pesquisa é bem estabelecido e justificado. A investigação dos impactos da atresia e do tratamento por transplante hepático sobre o Sistema Nervoso Autônomo é proposta através da avaliação da variabilidade da frequência cardíaca.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: O método de avaliação da frequência cardíaca é não invasivo e o procedimento é breve. Os riscos são irrelevantes e o benefício, mesmo indireto de um melhor conhecimento da doença, é extremamente válido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: A pesquisa conta com métodos simples e de fácil execução e poderá atingir seus objetivos de forma rápida e eficiente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: O TCLE é completo e claro, cumprindo as suas funções determinadas.

Recomendações: Recomenda-se uma revisão do texto do TCLE para que tenha a forma de texto corrido.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: O projeto tem todas as condições para ser aprovado pela comissão.

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 01 de Julho de 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador

Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa – CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar

CEP 05403-010 - São Paulo - SP.

55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16 17 18 | cappel@hc.fm.usp.br

ANEXO 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE : .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M F
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO..... Nº..... APTO:.....
BAIRRO:..... CIDADE.....
CEP:..... TELEFONE:DDD(.....).....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA(grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE : ..... SEXO: M F
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO: ..... Nº..... APTO:.....
BAIRRO: ..... CIDADE:.....
CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM CRIANÇAS PORTADORAS DE ATRESIA DAS VIAS BILIARES ANTES E DEPOIS DO TRANSPLANTE HEPÁTICO

PESQUISADOR: Ana Cristina Aoun Tannuri

CARGO/FUNÇÃO: Médica Assistente

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL: CRM 93831

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

☒ **SEM RISCO**

RISCO MÍNIMO

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 12 Meses**III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:**

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa

As crianças como atresia de vias biliares (doença do fígado) possuem uma alteração fisiológica. Em decorrência da sua condição severa acabam cirróticas (destruição do tecido normal do fígado) e precisam de transplante. Essas mudanças do sistema nervoso autônomo ainda não foram estudadas, sendo assim, realizaremos uma avaliação do comportamento desse sistema com um método não invasivo, que ajudará a compreender melhor esses pacientes durante a espera do transplante e após a recuperação da cirurgia do transplante de fígado.

Objetivos

- Descrever o perfil clínico e epidemiológico de crianças com atresia de vias biliares;
- Descrever os índices lineares da variabilidade da frequência cardíaca de crianças com atresia de vias biliares (Variabilidade da frequência cardíaca é a medida do tempo entre os batimentos cardíacos, que nem sempre são iguais, essas diferenças entre os batimentos permitem saber se existe alguma alteração no sistema nervoso);
- Comparar os índices da variabilidade da frequência cardíaca de crianças portadoras de atresia de vias biliares antes e depois do transplante de fígado.

2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais

- a. Por meio do prontuário disponível no ICR iremos coletar os dados do histórico da doença, peso, altura, e os resultados dos exames laboratoriais do paciente.
- b. Utilizaremos um cardiofrequenciômetro (um relógio de pulso com um receptor em forma de cinta elástica) para fazer a avaliação do tempo entre os batimentos cardíacos, esta cinta será posicionada do tórax da criança. Para coleta ser bem sucedida será necessário que a criança fique sentada, sem realizar movimentos bruscos por 20 minutos, se for necessário e/ou melhor para a criança, ela poderá ficar no colo de um dos responsáveis. Este procedimento de coleta será realizado no Instituto da Criança – Faculdade de Medicina da USP, nos dias de consultas e/ou durante as internações, nos dias antecedentes à cirurgia e 60 dias após a mesma.

3

3. Desconfortos e riscos esperados

Esta coleta não oferece riscos ou desconforto ao paciente.

4. Benefícios que poderão ser obtidos

Essa pesquisa pode contribuir para o melhor entendimento das alterações do sistema nervoso autônomo nessas doenças hepáticas (doenças do fígado). E contribuir para que outras pesquisas sejam feitas para um melhor atendimento e entendimento do estado clínico dessas crianças.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para diminuir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

3

4

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. A principal investigadora é a **Ft. Joice Anaize Tonon do Amaral** que pode ser encontrada no endereço **Rua Oscar da Silva Barata, 82, Ipiranga, São Paulo- SP**, Telefone (11) 9.4440-4080, e-mail joiceatdoamaral@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661- 6442 ramais 16, 17, 18, ou (11) 2661-7585; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

---

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo,   de   de 2016

_____
assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

_____
assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

4

ANEXO 3. Autorização do Uso de Imagem

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE USO DE IMAGEM E VOZ

Neste ato, e para todos os fins em direito admitidos, Eu _____, responsável legal pelo(a) _____ autorizo expressamente a utilização da minha imagem e voz, em caráter definitivo e gratuito, constante em fotos e filmagens decorrentes da minha participação no projeto do Centro Universitário Senac, a seguir discriminado:

Título do projeto: Associação do PELD com a modulação autonômica cardíaca em crianças com hepatopatia grave.
Pesquisador(es): Joice Anaíze Tonon do Amaral, Renata Salatini
Orientadora: Dra. Ana Cristina Aoun Tannuri

As imagens e a voz poderão ser exibidas: nos relatórios parcial e final do referido projeto, na apresentação áudio-visual do mesmo, em publicações e divulgações acadêmicas, em festivais e premiações nacionais e internacionais, assim como disponibilizadas no banco de imagens resultante da pesquisa e na Internet, fazendo-se constar os devidos créditos.

O aluno fica autorizado a executar a edição e montagem das fotos e filmagens, conduzindo as reproduções que entender necessárias, bem como a produzir os respectivos materiais de comunicação, respeitando sempre os fins aqui estipulados.

Por ser esta a expressão de minha vontade, nada terei a reclamar a título de direitos conexos a minha imagem e voz ou qualquer outro.

_____ de _____ de 2017.

Assinatura

Nome: _____

RG: _____ CPF: _____

Telefone1: ( ) _____ Telefone2: ( ) _____

Endereço: _____

8. REFERÊNCIAS

1. Bezerra JA. Biliary atresia in Brazil: where we are and where we are going. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(6):445-7.
2. de Carvalho E, Ivantes CA, Bezerra JA. Extrahepatic biliary atresia: current concepts and future directions. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(2):105-20.
3. Nagasako CK, de Oliveira Figueiredo MJ, de Souza Almeida JR, Lorena SL, Akasaka HM, Pavan CR, et al. Investigation of autonomic function and orocecal transit time in patients with nonalcoholic cirrhosis and the potential influence of these factors on disease outcome. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43(9):884-9.
4. Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia. *Lancet*. 2009;374(9702):1704-13.
5. Bassett MD, Murray KF. Biliary atresia: recent progress. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42(6):720-9.
6. Jean-Bernard O. Approach to avoid and to manage vascular thrombosis and stenosis in pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2007;11(2):124-6.
7. Kasai M, Okamoto A, Ohi R, Yabe K, Matsumura Y. Changes of portal vein pressure and intrahepatic blood vessels after surgery for biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 1981;16(2):152-9.
8. Ohi R, Mochizuki I, Komatsu K, Kasai M. Portal hypertension after successful hepatic portoenterostomy in biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 1986;21(3):271-4.
9. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Tratado Gastrointestinal e Doenças do Fígado. 9 ed: GEN Guanabara Koogan; 2013. 2592 p.

10. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005;353(12):1261-73.
11. Kasahara M, Umeshita K, Sakamoto S, Fukuda A, Furukawa H, Uemoto S. Liver transplantation for biliary atresia: a systematic review. *Pediatr Surg Int*. 2017;33(12):1289-95.
12. Hoofnagle JH, Sokol RJ. Neonatal screening for biliary atresia. *Hepatology*. 2006;43(4):646.
13. Chardot C. Biliary atresia. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:28.
14. Cox KL, Berquist WE, Castillo RO. Paediatric liver transplantation: indications, timing and medical complications. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999;14 Suppl:S61-6.
15. Wildhaber BE. Biliary atresia: 50 years after the first kasai. *ISRN Surg*. 2012;2012:132089.
16. Czaja MJ, Ding WX, Donohue TM, Friedman SL, Kim JS, Komatsu M, et al. Functions of autophagy in normal and diseased liver. *Autophagy*. 2013;9(8):1131-58.
17. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008;88(1):125-72.
18. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7312-24.
19. Suk KT, Baik SK, Yoon JH, Cheong JY, Paik YH, Lee CH, et al. Revision and update on clinical practice guideline for liver cirrhosis. *Korean J Hepatol*. 2012;18(1):1-21.
20. Larson AM. Palliative care for patients with end-stage liver disease. *Curr Gastroenterol Rep*. 2015;17(5):440.

21. Piza F, Funovics J, Muhlbacher F. [Liver transplantation--indications and postoperative course]. *Wien Klin Wochenschr.* 1986;98(24):838-42.
22. Rigler B, Zalaudek G, Hermann W, Stenzl W, Tscheliessnigg KH, Tilz G, et al. [Clinical experience in a case of orthotopic liver transplantation by use of an atypical caval vein anastomosis (author's transl)]. *Langenbecks Arch Chir.* 1981;354(1):31-8.
23. Dunn SP, Weintraub W, Vinocur CD, Billmire DF, Falkenstein K. Is age less than 1 year a high-risk category for orthotopic liver transplantation? *J Pediatr Surg.* 1993;28(8):1048-50.
24. Beath S, Pearmain G, Kelly D, McMaster P, Mayer A, Buckels J. Liver transplantation in babies and children with extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg.* 1993;28(8):1044-7.
25. Hilmi IA, Damian D, Al-Khafaji A, Sakai T, Donaldson J, Winger DG, et al. Acute kidney injury after orthotopic liver transplantation using living donor versus deceased donor grafts: A propensity score-matched analysis. *Liver Transpl.* 2015;21(9):1179-85.
26. Chung HS, Lee YJ, Jo YS. Proposal for a New Predictive Model of Short-Term Mortality After Living Donor Liver Transplantation due to Acute Liver Failure. *Ann Transplant.* 2017;22:101-7.
27. Saúde Md. Transplante de fígado: O critério de gravidade clínica com base no modelo MELD/PELD. [PORTARIA N° 1.160, DE 29 DE MAIO DE 2006]. 2006 [Available from: http://www.adote.org.br/oque_meldpeld.htm].
28. Brandao A, Fuchs SC, Gleisner AL, Marroni C, Zanotelli ML, Cantisani G. MELD and other predictors of survival after liver transplantation. *Clin Transplant.* 2009;23(2):220-7.

-
29. Iacob S, Gheorghe L, Iacob R, Gheorghe C, Hrehoret D, Popescu I. MELD exceptions and new predictive score of death on long waiting lists for liver transplantation. *Chirurgia (Bucur)*. 2009;104(3):267-73.
30. Siegel JH, Goldwyn RM, Farrell EJ, Gallin P, Friedman HP. Hyperdynamic states and the physiologic determinants of survival in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Arch Surg*. 1974;108(3):282-92.
31. Lenz K, Hörtnagl H, Magometschnigg D, Kleinberger G, Druml W, Laggner A. Function of the autonomic nervous system in patients with hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 1985;5(5):831-6.
32. Aubert AE, Seps B, Beckers F. Heart rate variability in athletes. *Sports Med*. 2003;33(12):889-919.
33. Paschoal MA, Petrelluzzi KFS, Gonçalves NVO. Study of heart rate variability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Revista de Ciências Médicas (Campinas)* [Internet]. 2002; 11(1):[27-37 pp.].
34. Cooke WH, Cox JF, Diedrich AM, Taylor JA, Beightol LA, Ames JE, et al. Controlled breathing protocols probe human autonomic cardiovascular rhythms. *Am J Physiol*. 1998;274(2 Pt 2):H709-18.
35. Rajendra Acharya U, Paul Joseph K, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. Heart rate variability: a review. *Med Biol Eng Comput*. 2006;44(12):1031-51.
36. Lewis MJ. Heart rate variability analysis: a tool to assess cardiac autonomic function. *Comput Inform Nurs*. 2005;23(6):335-41.
37. Kiba T. The role of the autonomic nervous system in liver regeneration and apoptosis--recent developments. *Digestion*. 2002;66(2):79-88.
38. HALL G. *Tratado de Fisiologia Médica*. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011.

39. Walker JG, Thomas PK. XANTHOMATOUS NEUROPATHY IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS. *Tijdschr Gastroenterol*. 1964;7:84-6.
40. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*. 1996;93(5):1043-65.
41. Donders FC. Zur Physiologie des Nervus vagus. *Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*. 1868;1(1):331-61.
42. Einthoven W. Ueber die Form des menschlichen Electrocardiogramms. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menchen Tiere* [Internet]. 1895; 60:[101-23 pp.].
43. Billman GE. Heart rate variability - a historical perspective. *Front Physiol*. 2011;2:86.
44. Vanderlei LC, Pastre CM, Freitas Júnior IF, Godoy MF. Analysis of cardiac autonomic modulation in obese and eutrophic children. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65(8):789-92.
45. Niskanen JP, Tarvainen MP, Ranta-Aho PO, Karjalainen PA. Software for advanced HRV analysis. *Comput Methods Programs Biomed*. 2004;76(1):73-81.
46. Novais L, Sakabe D, Takahashi A, Gongora H, Taciro C, Martins L, et al. Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca em repouso de homens saudáveis sedentários e de hipertensos e coronariopatias em treinamento físico. *Braz J Phys Ther(Impr)* [Internet]. 2004; 8(3):[207-13 pp.].
47. Vanderlei LC, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009;24(2):205-17.

-
48. Pumpura J, Howorka K, Groves D, Chester M, Nolan J. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol.* 2002;84(1):1-14.
49. Bittencourt MI, Benchimol Barbosa PR, Drumond Neto C, Bedirian R, Barbosa EC, Brasil F, et al. [Assessing autonomic function in hypertrophic cardiomyopathy]. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(6):388-96.
50. Ribeiro JP, Moraes Filho RS. Heart rate variability as a tool for the investigation of the autonomic nervous system. *Revista brasileira de hipertensão* [Internet]. 2005; 12:[14-20 pp.].
51. Vanderlei LCM, Pastre CM, Freitas Junior IF, Godoy MFd. Geometric indexes of heart rate variability in obese and eutrophic children. *Arquivo brasileiro de cardiologia* [Internet]. 2010; 95:[35-40 pp.].
52. Rocha RM, Albuquerque DCd, Albanesi Filho FM. Heart rate variability and circadian rhythm in patients with stable angina. *Revista da SOCERJ* [Internet]. 2005; 18:[429-42 pp.].
53. De Vito G, Galloway SD, Nimmo MA, Maas P, McMurray JJ. Effects of central sympathetic inhibition on heart rate variability during steady-state exercise in healthy humans. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2002;22(1):32-8.
54. Tulppo MP, Makikallio TH, Seppanen T, Laukkanen RT, Huikuri HV. Vagal modulation of heart rate during exercise: effects of age and physical fitness. *Am J Physiol.* 1998;274(2 Pt 2):H424-9.
55. Godoy MF, Takakura IT, Correa PR. The relevance of nonlinear dynamic analysis (Chaos Theory) to predict morbidity and mortality in patients undergoing surgical myocardial revascularization. 2005. p. 167-71.

-
56. Novais LD, Sakabe DI, Takahashi ACM, Gongora H, Taciro C, Martins LEB, et al. Resting heart rate variability in sedentary healthy men and in trained men with hypertension and coronary heart disease. *Revista brasileira de fisioterapia* [Internet]. 2004; 8:[207-13 pp.].
57. Melo RC, Santos MD, Silva E, Quiterio RJ, Moreno MA, Reis MS, et al. Effects of age and physical activity on the autonomic control of heart rate in healthy men. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38(9):1331-8.
58. Javorka M, Zila I, Balharek T, Javorka K. Heart rate recovery after exercise: relations to heart rate variability and complexity. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35(8):991-1000.
59. Chua KC, Chandran V, Acharya UR, Lim CM. Cardiac state diagnosis using higher order spectra of heart rate variability. *J Med Eng Technol*. 2008;32(2):145-55.
60. Martinelli FS, Chacon-Mikahil MP, Martins LE, Lima-Filho EC, Golfetti R, Paschoal MA, et al. Heart rate variability in athletes and nonathletes at rest and during head-up tilt. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38(4):639-47.
61. Kellert SH. *In the wake of Chaos : Unpredictable order in dynamical systems*: University of Chicago Press; 1993. 190 p.
62. Werndl C. What Are the New Implications of Chaos for Unpredictability? *The British Journal for the Philosophy of Science*. 2009;60(1):195-220.
63. Godoy M. *Teoria do caos aplicada a medicina - tese de livre docência*. 2003.
64. Mäkikallio TH, Tapanainen JM, Tulppo MP, Huikuri HV. Clinical applicability of heart rate variability analysis by methods based on nonlinear dynamics. *Card Electrophysiol Rev*. 2002;6(3):250-5.

-
65. Ferreira MT, Messias M, Vanderlei LCM, Pastre CM. Caracterização do Comportamento Caótico de Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) em Jovens Saudáveis. Trends in Applied and Computational Mathematics [Internet]. 2010; 11:[141-50 pp.].
66. Arcentales A, Giraldo BF, Caminal P, Benito S, Voss A. Recurrence quantification analysis of heart rate variability and respiratory flow series in patients on weaning trials. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2011;2011:2724-7.
67. Porta A, Tobaldini E, Guzzetti S, Furlan R, Montano N, Gneccchi-Ruscione T. Assessment of cardiac autonomic modulation during graded head-up tilt by symbolic analysis of heart rate variability. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007;293(1):H702-8.
68. Porta A, Guzzetti S, Montano N, Furlan R, Pagani M, Malliani A, et al. Entropy, entropy rate, and pattern classification as tools to typify complexity in short heart period variability series. IEEE Trans Biomed Eng. 2001;48(11):1282-91.
69. Hendrickse MT, Thuluvath PJ, Triger DR. Natural history of autonomic neuropathy in chronic liver disease. Lancet. 1992;339(8807):1462-4.
70. Fleckenstein JF, Frank S, Thuluvath PJ. Presence of autonomic neuropathy is a poor prognostic indicator in patients with advanced liver disease. Hepatology. 1996;23(3):471-5.
71. Thuluvath PJ, Triger DR. Autonomic neuropathy and chronic liver disease. Q J Med. 1989;72(268):737-47.
72. Keresztes K, Istenes I, Folhoffer A, Lakatos PL, Horvath A, Csak T, et al. Autonomic and sensory nerve dysfunction in primary biliary cirrhosis. World Journal of Gastroenterology. 2004;10(20):3039-43.

-
73. Rezende JR, Alves AP, Oliveira FC, da Motta MS, Martins CH, Neto CPW. Diagnóstico da Deficiência da Vitamina K. Revista Científica do ITPAC [Internet]. 2012; 5(4).
74. Andrade Jr DRd, Galvão FHF, Santos SAd, Andrade DRd. Ascite -Estado da arte baseado em evidências. Revista da Associação Médica Brasileira [Internet]. 2009; 55(4):[489-96 pp.].
75. Barbosa MP, da Silva NT, de Azevedo FM, Pastre CM, Vanderlei LC. Comparison of Polar® RS800G3™ heart rate monitor with Polar® S810i™ and electrocardiogram to obtain the series of RR intervals and analysis of heart rate variability at rest. Clin Physiol Funct Imaging. 2016;36(2):112-7.
76. Vanderlei LC, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. Braz J Med Biol Res. 2008;41(10):854-9.
77. Guzzetti S, Borroni E, Garbelli PE, Ceriani E, Della Bella P, Montano N, et al. Symbolic dynamics of heart rate variability: a probe to investigate cardiac autonomic modulation. Circulation. 2005;112(4):465-70.
78. Amorim DS, Manco JC, Gallo L, Jr., Marin Neto JA. Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. Mayo Clin Proc. 1982;57 Suppl:48-60.
79. Manço J, Gallo L, Godoy R, Fernandes R, Amorim D. Degeneration of the cardiac nerves in Chaga's disease. Circulation [Internet]. 1969; 40:[879-85 pp.].
80. Junqueira Júnior LF, Gallo Júnior L, Manço JC, Marin-Neto JA, Amorim DS. Subtle cardiac autonomic impairment in Chagas' disease detected by baroreflex sensitivity testing. Braz J Med Biol Res. 1985;18(2):171-8.

81. Barron HV, Lesh MD. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(5):1053-60.
82. Rubin AM, Rials SJ, Marinchak RA, Kowey PR. The head-up tilt table test and cardiovascular neurogenic syncope. *Am Heart J.* 1993;125(2 Pt 1):476-82.
83. Eckberg DL. Parasympathetic cardiovascular control in human disease: a critical review of methods and results. *Am J Physiol.* 1980;239(5):H581-93.
84. Gallo Júnior L, Morelo Filho J, Maciel BC, Marin Neto JA, Martins LE, Lima Filho EC. Functional evaluation of sympathetic and parasympathetic system in Chagas' disease using dynamic exercise. *Cardiovasc Res.* 1987;21(12):922-7.
85. Hines E, Brown E. The cold pressor test for measuring the reactivity of the blood pressure: data concerning 571 normal and hypertensive patients. *American Heart Journal* [Internet]. 1936; 11:[1-9 pp.].
86. Maciel BC, Gallo Júnior L, Marin Neto JA, Martins LE. Autonomic nervous control of the heart rate during isometric exercise in normal man. *Pflugers Arch.* 1987;408(2):173-7.
87. Allen AR, Gullixson LR, Wolhart SC, Kost SL, Schroeder DR, Eisenach JH. Dietary sodium influences the effect of mental stress on heart rate variability: a randomized trial in healthy adults. *J Hypertens.* 2014;32(2):374-82.
88. Junqueira Júnior LF. Ambulatory assessment of cardiac autonomic function in Chagas' heart disease patients based on indexes of R-R interval variation in the Valsalva maneuver. *Braz J Med Biol Res.* 1990;23(11):1091-102.
89. GUYTON AC, HALL JE. *Tratado de Fisiologia Médica.* 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.

-
90. Frith J, Newton JL. Autonomic dysfunction in chronic liver disease. *Hepat Med.* 2011;3:81-7.
91. Negru RD, Cojocaru D-C, Mitu F, Aursulesei V, Trifan A. Contribution of the heart rate variability parameters in evaluation of liver cirrhosis severity and associated autonomic dysfunction. *Acta Medica Mediterranea* [Internet]. 2015; 31:[1087-92 pp.].
92. Bialkowska J, Poliwczak AR, Koziróg M, Dworniak K, Wozny J, Broncel M. Heart rate variability in patients with decompensated liver cirrhosis- a pilot study. *Prz Gastroenterol* [Internet]. 2012; 7(3):[149-55 pp.].
93. Baratta L, Tubani L, Merli M, Labbadia F, Facchini D, De Marco R, et al. Long-term effect of liver transplantation on cirrhotic autonomic cardiac dysfunction. *Dig Liver Dis.* 2010;42(2):131-6.
94. Barreto GS, Vanderlei FM, Vanderlei LC, Leite AJ. Impact of malnutrition on cardiac autonomic modulation in children. *J Pediatr (Rio J).* 2016;92(6):638-44.
95. Osztoivits J, Horvath T, Abonyi M, Toth T, Visnyei Z, Beko G, et al. Chronic hepatitis C virus infection associated with autonomic dysfunction. *Liver Int.* 2009;29(10):1473-8.
96. Wiest R, Moleda L, Zietz B, Hellerbrand C, Scholmerich J, Straub R. Uncoupling of sympathetic nervous system and hypothalamic-pituitary-adrenal axis in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23(12):1901-8.
97. Usui H, Nishida Y. The very low-frequency band of heart rate variability represents the slow recovery component after a mental stress task. *PLoS One.* 2017;12(8):e0182611.
98. Barron HV, Alam I, Lesh MD, Strunk A, Bass NM. Autonomic nervous system tone measured by baroreflex sensitivity is depressed in patients with end-stage liver disease. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(4):986-9.

-
99. Newton JL, Hollingsworth KG, Taylor R, El-Sharkawy AM, Khan ZU, Pearce R, et al. Cognitive impairment in primary biliary cirrhosis: symptom impact and potential etiology. *Hepatology*. 2008;48(2):541-9.
100. Cavalcante Neto JL, Zamuner AR, Moreno BC, Silva E, Tudella E. Linear and Nonlinear Analyses of the Cardiac Autonomic Control in Children With Developmental Coordination Disorder: A Case-Control Study. *Front Physiol*. 2018;9:267.