TESE DE DOUTORADO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

TESE DE DOUTORADO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE COMPUTAÇÃO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA

DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTAS PARA ANÁLISE DE SINAIS BIOLÓGICOS NOS DOMÍNIOS TEMPO, FREQÜÊNCIA E TEMPO-FREQÜÊNCIA: APLICAÇÃO AO ESTUDO DA REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Autor: MAURO ROBERTO USHIZIMA

Orientadores:

PROF. DR. EDUARDO TAVARES COSTA, DEB/FEEC/UNICAMP PROFA. DRA. IDÁGENE APARECIDA CESTARI, INCOR/FMUSP

Banca examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa (FEEC/UNICAMP) Prof. Dr. Eduardo Moacyr Krieger (InCor/FMUSP) Prof. Dr. André Fábio Kohn (Politécnica/USP) Prof. Dr. Jurandir Nadal (COPPE/UFRJ) Prof. Dra. Rosana Almada Bassani (CEB/UNICAMP)

> Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação para obtenção do título de Doutor em Engenharia Elétrica

Campinas, 2 de Março de 2000 BRASIL

Resumo

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um conjunto de ferramentas para o processamento de sinais nos domínios do tempo, da freqüência e tempo-freqüência e sua aplicação na análise de sinais biológicos. Foram desenvolvidos um editor de sinais para a preparação de séries temporais longas (1,35 10⁶ pontos) e algoritmos para análise espectral e de coerência usando método de banda larga. Apresentamos um novo método através do qual os coeficientes dos filtros utilizados na análise de banda larga são obtidos a partir da resolução em freqüência. Foram também desenvolvidos algoritmos para análise no domínio tempo-freqüência, nominalmente o espectrograma (STFT) e a distribuição de Wigner (DW). A distribuição de Wigner modificada (DWM), uma nova forma de análise tempo-freqüência (ATF), é apresentada e comparada com o STFT e a DW. Os algoritmos foram desenvolvidos em ambiente Matlab e testados quanto ao desempenho e à funcionalidade utilizando-se sinais sintetizados. O método desenvolvido foi aplicado ao estudo de sinais cardio-respiratórios: pressão arterial (PA), intervalo de pulso (IP), atividade nervosa simpática renal (ANS) e respiração (RESP, obtido do eletromiograma diafragmático). Estes sinais foram registrados (90 minutos) em ratos acordados antes (n=8) e na fase aguda da desnervação sinoaórtica (DSAa, n=8). Os algoritmos para análise tempofreqüência desenvolvidos foram aplicados à análise da PA e IP obtidos no rato durante administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio. O editor de sinais desenvolvido permitiu a visualização e pré-processamento dos sinais correspondentes a séries temporais de longa duração. A análise no domínio do tempo mostrou que a DSAa aumentou a PA e sua variabilidade, diminuiu o IP e sua variabilidade, aumentou a atividade simpática renal (integrada: ANSi e média: ANSp) e diminuiu a freqüência respiratória (determinada a partir da RESP). Foram identificadas as alterações nos espectros da PA, IP, ANS e RESP resultantes da remoção dos pressoreceptores e quimioceptores pela DSAa. As coerências entre PA, IP, ANS e RESP foram determinadas antes e após a DSAa. As modificações encontradas sugerem a existência de componentes em freqüência dos sinais PA, IP, ANS e RESP acoplados pelos pressoreceptores e quimioceptores. A aplicação da ATF de sinais sintetizados mostrou o melhor desempenho da DW em comparação com o STFT e que a utilização da DWM resultou em atenuação dos termos cruzados da DW. A análise da PA e do IP registrados durante aumento e diminuição da pressão mostraram uma evolução dinâmica das componentes espectrais estudadas. O editor de sinais, os algoritmos para análise espectral e de coerência de banda larga, incluindo o novo método para determinação dos coeficientes de filtragem, e os algoritmos para ATF representam um conjunto de ferramentas valiosas para o processamento de sinais e estudo dos sistemas cardiovascular e respiratório.

Palavras chaves: análise de sinais, análise espectral, análise de coerência, desnervação sinoaórtica, pressão arterial, respiração, atividade nervosa simpática renal, variabilidade de sinais, distribuição tempo-freqüência.

Abstract

This work describes the development of tools for signal processing in time, frequency and timefrequency domains and their application in biological signal analysis. A signal editor for preprocessing long time series $(1.35 \ 10^6 \text{ points})$ and algorithms for wide-band spectral and coherence analysis were developed. We present an innovative method to calculate filter coefficients for wide band analysis, based on frequency resolution. We also developed algorithms for analysis in the time-frequency domain, namely spectrogram (STFT) and the Wigner distribution (WD). The modified Wigner distribution (MWD), a new method for timefrequency analysis (TFA), is presented and its performance is compared to STFT and DW. The performance and functionality of the algorithms developed using Matlab were evaluated with synthetic signals. We applied the method developed to study cardio-respiratory signals: blood pressure (BP), pulse interval (PI), renal sympathetic nerve activity (SNA) and respiration (RESP, obtained from diaphragm electromyogram). These signals were recorded (90 minutes) in conscious rats before (n=8) and in the acute phase after sinoaortic denervation (SADa, n=8). The time-frequency algorithm developed was applied to the analysis of PA and IP signals obtained in rats during infusion of phenylephrine and sodium nitroprusside. The signal editor developed allowed visualization and pre-processing of signals corresponding to long time series. Timedomain analysis showed that SADa increased BP and its variability, reduced PI and its variability, increased sympathetic nerve activity (integrated: SNAi and mean: SNAp) and reduced respiratory frequency (determined from RESP). The changes identified in BP, PI, SNA and RESP power spectral profiles were attributed to baroreceptor and chemoreceptor removal after SADa. Coherences between BP, PI, SNA and RESP were determined and compared between rats before and after SADa. The changes observed suggest the existence of frequency components in BP, PI, SNA and RESP signals coupled by baroreceptors and chemoreceptors. The results of TFA of synthesized signals showed that the WD has a better performance when compared to the STFT and the utilization of the MWD attenuated the WD cross terms. The application of TFA to BP and PI signals recorded during blood pressure increase and decrease showed a dynamic evolution of the spectral components. The signal editor, algorithms for wide band spectral and coherence analysis including the novel determination of filter coefficients and algorithms for TFA, represent a valuable tool for signals processing and for the study of cardiovascular and respiratory systems.

Keywords: signal analysis, spectral analysis, coherence analysis, sinoaortic denervation, blood pressure, respiration, renal sympathetic nerve activity, signal variability, time-frequency distribution

À Gina

Aos meus pais, Marie e Mitomi,

À Sylvia, Nelson, Maria Clara, Carlos,

Mariana, Augusto, Marco e Caroline

Agradecimentos

Durante os quatro anos de trabalho, este projeto foi abraçado com dedicação e entusiamo por diversos pesquisadores, bioengenheiros, médicos, biólogos e técnicos em diversas instituições no país e no exterior. Este trabalho não teria sido possível sem a inestimável contribuição destes profissionais que deram a base multidisciplinar necessária ao desenvolvimento deste projeto. Em particular gostaria de fazer meus agradecimentos:

À Profa. Dra. Idágene Aparecida Cestari pelo seu entusiasmo pela ciência que muito incentivou meu interesse pela pesquisa. Pelo tema e pela oportunidade de realizar este trabalho sob sua orientação.

Ao Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa pelo estímulo durante o desenrolar de nossa pesquisa, pelo seu exemplo profissional e pela sua postura pessoal marcante. Também pelo tema e pela oportunidade de realizar este trabalho sob sua orientação

Ao Prof. Dr. Marco Di Rienzo pela orientação durante a minha permanência no Laboratório de Pesquisa Cardiovascular do Centro de Bioengenharia em Milão (LaRC/CBI-Politécnica de Milão), pela concisão e por seus comentários ao nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Moacyr Krieger pelo apoio e pelas sugestões que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao pesquisador Edson Dias Moreira, colaborador deste trabalho, por fornecer os dados analisados no protocolo 1 e pelas valiosas sugestões durante a difícil etapa de registro dos sinais.

Às pesquisadoras Katia D'Avila de Angelis e Mara Dias Pires por fornecerem os dados analisados no protocolo 2 deste trabalho, pela sugestões e apoio à realização deste trabalho.

Ao Dr. Paolo Castiglioni pelas contínuas discussões, pela disponibilidade e pelo incentivo durante minha permanência no LaRC em Milão.

Ao Dr. Ismar Cestari pelo apoio e pelas sugestões na etapa conclusiva deste trabalho.

Aos amigos da Divisão de Bioengenharia e do Laboratório de Experimentação do Serviço de Hipertensão do InCor/FMUSP pelo apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos professores do DEB/UNICAMP e à secretária Heloísa Quitério.

À CAPES pelo apoio financeiro através de bolsa de doutorado sanduíche em 1996 e bolsa de doutorado no primeiro semestre de 1997.

À FAPESP pelo apoio financeiro através de bolsa de doutorado entre 1997 e 1999.

Sumário

| RESUMO | I |
|--|-------------|
| ABSTRACT | Ш |
| SUMÁRIO | v |
| LISTA DE ABREVIATURAS | VIII |
| LISTA DE FIGURAS | IX |
| TABELA | |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 Análise de Sinais Aplicada ao Estudo do Sistema Cardiovascu | ılar1 |
| 1.2 Regulação da Pressão Arterial | |
| 1.3 Flutuações de Parâmetros do Sistema Cardiovascular | 7 |
| 1.3.1 Flutuações de alta freqüência ou ondas de Hering | |
| 1.3.2 Flutuações de média freqüência ou ondas de Mayer | |
| 1.3.3 Flutuações de baixa freqüência e muito baixa freqüência | a9 |
| 1.4 Motivação | 9 |
| 1.5 Objetivos | |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS (I) | |
| 2.1 Protocolos Experimentais | |
| 2.1.1 Obtenção dos sinais para estudo da variabilidade de sina | ais16 |
| 2.1.2 Obtenção dos sinais para análise tempo-freqüência | |
| 2.1.3 Técnica de desnervação sinoaórtica | |
| 2.2 Instrumentação | |
| 2.2.1 Condicionamento da pressão arterial | |
| 2.2.2 Condicionamento do eletroneurograma do nervo simpát | ico renal19 |
| 2.2.3 Condicionamento do eletromiograma do diafragma | 20 |
| 2.3 Registro Digital dos Sinais e Filtragem Anti-Aliasing dos Sina | uis20 |
| 2.4 Critérios Observados Para Registro e Utilização dos Sinais | |

| 3 I | MA | ferial e Métodos (II) | 23 |
|------------|------|--|----|
| 3.1 | Pré- | Processamento dos Sinais | 23 |
| 3 | .1.1 | Interpolação | 23 |
| 3 | .1.2 | Decimação | 24 |
| 3 | .1.3 | Obtenção das séries temporais da PA e do IP | 27 |
| 3 | .1.4 | Pré-processamento do eletroneurograma simpático renal | 27 |
| 3 | .1.5 | Pré-processamento do eletromiograma do diafragma | |
| 3.2 | Aná | lises no Domínio do Tempo | |
| 3.3 | Aná | ilise de Banda Larga | |
| 3 | .3.1 | Análise espectral de banda larga | |
| 3 | .3.2 | Análise de coerência de banda larga | |
| 3.4 | Aná | ilises Estatísticas Associadas à Análise de Banda Larga | 35 |
| 3.5 | Aná | ilise Tempo-Freqüência | 35 |
| 3 | .5.1 | Espectrograma | |
| 3 | .5.2 | Distribuição de Wigner | |
| 3 | .5.3 | Distribuição de Wigner modificada | |
| 4] | Res | ULTADOS | 41 |
| 4.1 | Pré- | Processamento dos Sinais: Desenvolvimento de um Editor de Sinais | 41 |
| 4 | .1.1 | Editor de Sinais | 42 |
| 4 | .1.2 | Calibração com múltiplos níveis | 44 |
| 4 | .1.3 | Obtenção dos picos e vales | 45 |
| 4 | .1.4 | Obtenção da série temporal do intervalo de pulso | 46 |
| 4.2 | Car | acterísticas da Análise de Banda Larga | 47 |
| 4 | .2.1 | Determinação dos coeficientes da filtragem de banda larga | 47 |
| 4 | .2.2 | Análise espectral | 49 |
| 4 | .2.3 | Análise de coerência | 50 |
| 4.3 | Aná | ilise no Domínio do Tempo | 51 |
| 4 | .3.1 | Estatísticas descritivas | 51 |
| 4 | .3.2 | Distribuição da atividade simpática | 54 |
| 4.4 | Res | ultados da Análise Espectral de Banda Larga | 56 |
| 4.5 | Res | ultados da Análise de Coerência de Banda Larga | 62 |
| 4.6 | Res | ultados da Análise Tempo-Freqüência | 77 |
| 4 | .6.1 | Análise de sinais sintetizados | 77 |
| 4 | .6.2 | Erro na Localização Tempo-Freqüência | 89 |
| 4 | .6.3 | Análise Tempo-Freqüência da PAS, PAD e do IP | 93 |

| 5 | DISCUSSÃO | 109 |
|-------|--|-----|
| 5.1 | Pré-Processamento dos Sinais: Editor de Sinais | 109 |
| 5.2 | Algoritmos de Análise | 111 |
| 4 | 5.2.1 A análise espectral de banda larga | 111 |
| 4 | 5.2.2 A análise de coerência de banda larga | 112 |
| 4 | 5.2.3 Coeficientes da filtragem de banda larga | 113 |
| 5.3 | Efeitos da DSAa sobre a PAS, PAD, IP, ANS e Resp no Rato | 113 |
| 5.4 | Efeitos da DSAa Sobre o Acoplamento Linear entre PAS, PAD, IP, ANS e Resp | 117 |
| 5.5 | Análises Tempo-Freqüência | 119 |
| 5.6 | Análises Tempo-Freqüência na Análise de Sinais Biológicos | 120 |
| APÊ | INDICES | 125 |
| Apé | êndice 1. Estimativa dos tempos de abertura e leitura de arquivos | 125 |
| Apé | êndice 2. Comparação qualitativa do intervalo de pulso estimado pela PA e pelo ECG | 127 |
| Apé | êndice 3. Coeficientes de alisamento da análise de banda larga | 128 |
| Apé | êndice 4. Dados individuais da estatística descritiva | 129 |
| Apé | êndice 5. Exemplos de Pulsos Gaussianos, exp(-w ² (t-to) ²), para w= 1, 2 e 3 | 132 |
| Apé | êndice 6. Comparação qualitativa dos espectros em diferentes modos de interpolação | 133 |
| Apé | êndice 7. Módulo condicionador de sinais (MCS98) | 134 |
| 1 | Apêndice 7a. Painel frontal do condicionador de sinais | 134 |
| 1 | Apêndice 7b . Guia rápido para escolha dos componente do filtro anti-aliasing. | 135 |
| Refer | RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 135 |

Lista de abreviaturas

| AF | Faixa de alta freqüência |
|---------------------------|---|
| ANS | Atividade nervosa simpática |
| ANSi | Atividade nervosa simpática renal integrada [%] |
| ANSp | Atividade nervosa simpática renal média [%] |
| AR | Autorregressivo |
| ARMA | Autoregressivo e média móvel |
| ATF | Análise tempo-freqüência |
| BF | Faixa de baixa freqüência |
| CTRL | Controle |
| DC | Desnervação carotídea |
| DSA | Desnervação sinoaórtica |
| DSAa | Desnervação sinoaórtica na fase aguda (6 horas pós operatório) |
| DSAc | Desnervação sinoaórtica na fase crônica (8 dias pós operatório) |
| DW | Distribuição de Wigner |
| DWM | Distribuição de Wigner modificada |
| EMG | Eletromiograma |
| ENG | Eletroneurograma |
| FC | Freqüência cardíaca [Hz ou bpm] |
| f_c | Freqüência de corte [Hz] |
| $\mathbf{f}_{\mathbf{i}}$ | Freqüência de interpolação [Hz] |
| FE | Fenilefrina |
| FR | Freqüência respiratória [Hz] |
| fs | Freqüência de amostragem [amostras/s] |
| IP | Intervalo de pulso cardíaco [ms] |
| MBF | Faixa de muito baixa freqüência |
| MF | Faixa de média freqüência |
| MPM | Média ponderada móvel |
| NI | Nitroprussiato de sódio |
| PA | Pressão arterial [mmHg] |
| PAD | Pressão arterial diastólica [mmHg] |
| PAS | Pressão arterial sistólica [mmHg] |
| PaO_2 | Pressão parcial de oxigênio [mmHg] |
| $PaCO_2$ | Pressão parcial de gás carbônico [mmHg] |
| pН | Logaritmo negativo do potencial hidrogeniônico |
| RESP | Respiração [unidade arbitrária] |
| SNC | Sistema nervoso central |
| STFT | Espectrograma |
| ATF | Análise tempo-freqüência |
| TRF | Transformada rápida de Fourier |
| WKY | W1star |

Lista de figuras

| Figura 1. Representação esquemática do mecanismo rápido de controle da PA5 |
|---|
| Figura 2. Faixas de flutuações de sinais do sistema cardiovascular. Faixa de alta freqüência (AF), de média |
| freqüência (MF) e de baixa freqüência (BF) para o rato e para o homem. As barras ilustram os |
| limites em freqüência das flutuações de cada faixa. O eixo inferior mostra o período equivalente |
| das flutuações7 |
| Figura 3. Exemplo do sinal registrado no estudo da atividade simpática no rato controle e após a DSAa. Na |
| parte superior da figura é ilustrado o ENG simpático renal, no centro a integração do ENG para |
| obtenção da atividade simpática integrada por barras e na parte inferior a pressão arterial |
| [modificada de Irigoyen e col, 1988]10 |
| Figura 4. Histograma da Atividade Simpática: Ocorrência percentual de ciclos cardíacos em função da |
| atividade simpática: Controle, DSAa e DSAc no rato WKY acordado em registro de 3 minutos |
| [modificada de Irigoyen e col., 1995]11 |
| Figura 5. Efeitos da desnervação carotídea (B) e DSAa (C) comparado com o controle (A) no rato WKY |
| anestesiado em registro de 3 minutos. Os gráficos à esquerda ilustram a PAS e a ANS renal. A |
| desnervação carotídea diminui a PA e a ANS enquanto a DSAa aumenta a PA e a ANS. Os |
| gráficos à direita ilustram a análise espectral da PAS no controle (A), após desnervação carotídea |
| (B) e após a DSAa (C) [modificado de Irigoyen e col, 1991]12 |
| Figura 6. Exemplo dos sinais estudados no rato acordado. A partir do topo da figura, tem-se a PA (mmHg), |
| o ENG simpático renal (unidades arbitrárias, ua) e o EMG do diafragma (ua) registrados em um |
| animal controle (esquerda) e após a DSAa (direita)17 |
| Figura 7. Curva típica da PA registrada durante administração de fenilefrina. O instante em que a bomba |
| volumétrica é acionada está ilustrado na parte inferior18 |
| Figura 8. Resposta do filtro passa-baixa pré decimação. A) resposta em freqüência e B) fase. Freqüência de |
| amostragem Fs=250 Hz, freqüência no limite superior da banda passagem Fp=4 Hz, oscilação na |
| banda de passagem Rp= 0,2 dB, freqüência no limite inferior da banda de rejeição Rc= 6,9 Hz e |
| oscilação na banda de rejeição Rc=20 dB25 |
| Figura 9. Segmentação e Re-amostragem das séries temporais |
| Figura 10. Obtenção da atividade simpática integrada (ANSi) e da atividade simpática média (ANSp). O |
| eletroneurograma é retificado e filtrado (passa-baixa, fc = 50 Hz). O sinal é então integrado para |
| obtenção da ANSi e dividido pelo intervalo de pulso para obtenção da ANSp |
| Figura 11. Obtenção do espectrograma. Por simplificação a sobreposição no deslocamento da janela h _N não |
| foi representada |
| Figura 12. Obtenção da Distribuição de Wigner (DW) |
| Figura 13. Obtenção da Distribuição de Wigner modificada (DWM) |

- Figura 20. Comprimento da janela da média ponderada móvel (L), resolução em freqüência (B_s e B_e) e fator de redução da variabilidade (EFV) considerando os coeficiente a = 48,1859 e b = 0,4581, comprimento de 65.536 pontos e intervalo de amostragem de 72 milisegundos......50

- Figura 24. Atividade nervosa simpática antes (barra vazia) e após a DSAa (barra cheia). A ANSi e ANSp são ilustradas no gráfico à esquerda e a variabilidade da ANSi e ANSp no gráfico à direita.......53

| Figura 26. Histograma de ocorrência (%) da atividade simpática renal integrada. Média e desvio padrão do |
|---|
| grupo acordado controle (barras vazias, n = 8) e do grupo acordados após DSAa (barras cheias, n |
| = 8). (* p < 0,05) |
| Figura 27. Densidade de potência espectral da pressão arterial sistólica (PAS). PAINEL A - média do grupo |
| acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha) e PAINEL |
| B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos56 |
| Figura 28. Densidade de potência espectral da pressão arterial diastólica (PAD) . PAINEL A - média do |
| grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordados após DSAa (linha vermelha) e |
| PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos |
| Figura 29. Densidade de potência espectral do IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média de 8 ratos acordados após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B - Significância p < |
| 0,05 indica diferença entre grupos |
| Figura 30. Densidade de potência espectral da atividade nervosa simpática renal integrada (ANSi). PAINEL |
| A - média do grupo acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordados após DSAa (linha |
| vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos |
| Figura 31. Densidade de potência espectral da atividade nervosa simpática renal média (ANSp). PAINEL A |
| - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha |
| vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos60 |
| Figura 32. Densidade de potência espectral da RESP . PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos61 |
| Figura 33. Análise de coerência entre PAS e PAD. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos62 |
| Figura 34. Análise de coerência entre PAS e IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e |
| média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica |
| diferença entre grupos |
| Figura 35. Análise de coerência entre PAS e ANSi. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos |
| Figura 36. Análise de coerência entre PAS e ANSp. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos |
| Figura 37. Análise de coerência entre PAS e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos66 |

| Figura 38. Análise de coerência entre PAD e IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) |
|---|
| e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos67 |
| Figura 39. Análise de coerência entre PAD e ANSi. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos68 |
| Figura 40. Análise de coerência entre PAD e ANSp. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos69 |
| Figura 41. Análise de coerência entre PAD e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos70 |
| Figura 42. Análise de coerência entre IP e ANSi. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos71 |
| Figura 43. Análise de coerência entre IP e ANSp. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos72 |
| Figura 44. Análise de coerência entre IP e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) |
| e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos73 |
| Figura 45. Análise de coerência entre ANSi e ANSp. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos74 |
| Figura 46. Análise de coerência entre ANSi e RESP. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha |
| azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 |
| indica diferença entre grupos75 |
| Figura 47. Análise de coerência entre ANSp e RESP. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos |
| (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p |
| < 0,05 indica diferença entre grupos76 |
| Figura 48. Espectrograma de um sinal <i>chirp</i> dado pela A) série temporal cos(2 <i>π</i> f ₀ t) para fo=0,2+0,03769t, B) |
| gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade |
| espectral de potência) e C) mapa de contorno da espectrograma onde a linha vermelha indica o |
| valor instantâneo da freqüência do sinal <i>chirp</i> |
| Figura 49. Distribuição de Wigner de um sinal <i>chirp</i> dado pela A) série temporal $\cos(2\pi f_0 t)$ para |
| fo=0,2+0,03769t, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na |

Figura 58. Erro da DW. A) O erro(t_o)_{DW}, B) erro em freqüência, erro(f_o) e C) erro no tempo, erro(t_o)......91 Figura 59. Erro da DWM. A) O erro(t_o)_{DWM}, B) erro em freqüência, erro(f_o) e C) erro no tempo, erro(t_o)92

- Figura 67. Análise tempo-freqüência da PAD na faixa de MF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e0,8 Hz (em vermelho). As análises

Tabela

1 Introdução

1.1 Análise de Sinais Aplicada ao Estudo do Sistema Cardiovascular

Dentre os avanços recentes da pesquisa cardiovascular está a obtenção não invasiva de índices da atividade simpática e parassimpática utilizando sinais de pressão arterial (PA) e freqüência cardíaca (FC). Espera-se que o desenvolvimento de ferramentas de processamento de sinais biológicos contribua para a identificação de novos índices ou marcadores para a avaliação quantitativa do funcionamento do sistema cardiovascular. Este tipo de abordagem abre a possibilidade do desenvolvimento de métodos não-invasivos de diagnóstico e pesquisa clínica.

A variabilidade de sinais extraídos do sistema cardiovascular pode ser estudada nos domínios do tempo (variância, desvio padrão, erro padrão da média) e da freqüência (análise espectral). O estudo da variabilidade da PA e da FC pela análise no domínio da freqüência ganhou destaque em fisiologia mostrando a ação de diferentes mecanismos envolvidos na regulação do sistema cardiovascular (Akselrod e col., 1981; Japundzic e col., 1990; Daffonchio e

col., 1995; Pagani e col., 1986). Na clínica médica, este tipo de análise foi aplicado ao estudo da variabilidade da freqüência cardíaca associada ao aumento do risco de mortalidade após infarto agudo do miocárdio (Kleiger e col., 1987), em pacientes chagásicos (Guzzetti e col., 1991), em pacientes diabéticos (Bianchi e col., 1990) e na validação de método não invasivo para medida ambulatorial da PA (Parati e col, 1989). No início da década de 70, estudos pioneiros mostraram a aplicação da análise espectral ao estudo da freqüência cardíaca (Hyndman e col., 1971; Sayers, 1973). Estes estudos mostraram a existência de flutuações rítmicas da FC que ocorrem na mesma freqüência da respiratória, conhecidas atualmente como ondas de Hering, e outra com freqüência menor que a respiratória, atualmente denominada ondas de Mayer. Posteriormente, estudos com bloqueios farmacológicos mostraram que estas flutuações estavam associadas a mecanismos nervosos e hormonais (Akselrod e col., 1981). A partir deste momento, as componentes da análise espectral deixaram de ter uma interpretação meramente física e passaram a ser consideradas como possíveis marcadores da regulação nervosa sobre o sistema cardiovascular. Parte das observações levantadas deram suporte à hipótese de Pagani (Pagani e col., 1986) de que a potência espectral normalizada na faixa de Mayer (0,06 a 0,15 Hz) estaria associada à modulação simpática e a faixa de Hering (0,15 a 0,5 Hz), à modulação parassimpática. A razão entre estas componentes estabelece um equilíbrio também conhecido como balanco simpatovagal. Esta hipótese para interpretação biológica das flutuações é bastante atraente mas também é controversa (Eckberg, 1997, Malliani e col., 1998, Malik e Eckberg, 1998). Algumas condições experimentais como exercício físico intenso ou insuficiência cardíaca severa impõem restrições à hipótese do balanço simpato-vagal (Malliani e col., 1994), mas ainda assim esta metodologia é amplamente utilizada. No rato, sob diferentes bloqueios farmacológicos, foi mostrado que a flutuação do intervalo de pulso (IP), inverso da FC, na faixa de Hering é mediada pelo vago e que o bloqueio pela atropina não modifica o espectro da PA nesta faixa (Japundzic e col., 1990).

Já a onda de Mayer encontrada no IP é diminuída por bloqueio β-simpático e bloqueio parassimpático. A onda de Hering observada na PA depende da variação do débito cardíaco e é atenuada por bloqueio simpático. Também a flutuação da PA na componente de Mayer reflete a modulação simpática sobre a resistência periférica (Japundzic e col., 1990, Daffonchio e col., 1995). Estes achados formam a base da interpretação das componentes espectrais da PA e do IP refletindo a ação dos mecanismos neurais de regulação sobre o sistema cardiovascular.

Basicamente, a estimativa espectral pode ser obtida por métodos paramétricos conhecidos como modelos autorregressivos (AR, ARMA) ou não paramétricos (método de Welch, transformada de Fourier da função de autocorrelação). Uma ampla descrição de métodos para análise em freqüência pode ser encontrada na literatura (Kay e Marple, 1981; Marple, 1987; Pinna e col., 1996). A AR permite determinar a freqüência de componentes rítmicas de forma analítica, sendo ainda mais apropriada quando o comprimento da série é pequeno pois a resolução em freqüência da AR é menos dependente do comprimento da série que a transformada rápida de Fourier (TRF) (Parati e col., 1995). Algumas características são específicas para cada método, por exemplo, a definição do tipo de janela e o algoritmo para filtragem do espectro na análise por TRF ou a definição da ordem do modelo AR na análise paramétrica. No entanto, resultados semelhantes podem ser obtidos pela utilização da TRF ou AR quando a ordem do modelo aproxima-se do número de pontos ou o espectro obtido por TRF é tratado (janela, segmentação e filtragem). De modo geral, não existe restrição quanto à utilização de uma ou outra abordagem e ambas são atualmente aplicadas no estudo do sistema cardiovascular. Neste trabalho optou-se por utilizar um método não paramétrico conhecido como método de banda larga. Este método utiliza a TRF e calcula a densidade de potência espectral considerando uma faixa ampla de flutuações (Di Rienzo e col., 1996; Parati e col., 1995).

Um sistema pode ser estudado em condições estáveis ou através de perturbações impostas ao mesmo. A análise tempo-freqüência permite identificar a evolução temporal do espectro. Este tipo de análise foi utilizado no estudo do comportamento da regulação da PA e do IP em registros com 24 horas de duração (Di Rienzo e col., 1989) e no estudo dos efeitos do exercício físico sobre as componentes espectrais da PA e do IP (Di Rienzo e col., 1992). A utilização da distribuição de Wigner, um algoritmo com melhor desempenho tempo-freqüência, foi apresentada no início da década de 90 no estudo da PA, da FC e do sinal respiratório (Novak e Novak, 1993). Posteriormente, diferentes métodos tempo-freqüência foram comparados na análise de sinais extraídos do sistema cardiovascular (Pola e col., 1996). Recentemente a utilização da freqüência central instantânea obtida pela análise tempo-freqüência foi proposta como um índice para a relação entre modulação simpática e parassimpática durante a mudança postural (Jasson e col., 1997).

1.2 Regulação da Pressão Arterial

A regulação da PA é realizada por mecanismos que atuam direta ou indiretamente sobre o sistema cardiovascular para corrigir os desvios dos valores normais, momento a momento. A ação destes mecanismos pode ser estudada através das respostas a estímulos fisiológicos como mudanças posturais, atividades físicas ou outros estímulos mais complexos, alguns deles reprodutíveis experimentalmente. Neste trabalho apresentamos os mecanismos de regulação da PA de forma simplificada, pois a apresentação detalhada dos mesmos foge ao escopo deste trabalho e pode ser encontrado em Michelini (1999).

A regulação rápida da PA é feita principalmente pelo sistema nervoso que age em diferentes níveis do sistema cardiovascular por meio de comandos transmitidos pelas eferências nervosas simpática e parassimpática. A Figura 1 ilustra esquematicamente o sistema de controle

neural da PA. De forma simplificada, o diagrama mostra que a partir da integração das informações aferentes provenientes dos pressoreceptores e quimioceptores pelo sistema nervoso central (SNC) são determinadas alterações nervosas sobre as eferências simpática e parassimpática que agem modificando resistência vascular periférica, retorno venoso, FC, contractilidade e débito cardíaco. O resultado final é a regulação da PA.



Figura 1. Representação esquemática do mecanismo rápido de controle da PA.

Os pressoreceptores representam a principal aferência na regulação rápida da PA. Os pressoreceptores são sensores de estiramento que estão localizados na bifurcação do seio carotídeo e na crossa da aorta. A sua ativação produz, inicialmente, diminuição da atividade simpática seguida de aumento da atividade vagal e liberação de hormônios resultando em queda da PA. A atividade dos quimioceptores, localizados no corpo carotídeo e no arco aórtico, aumenta com uma queda da pressão parcial de oxigênio (PaO₂), com um aumento da pressão

parcial de gás carbônico (PaCO₂) ou com a queda do potencial hidrogeniônico (pH) (Pelletier, 1972). No rato anestesiado, a remoção seletiva dos quimioceptores carotídeos (os mais ativos nesta espécie) pela desnervação carotídea (DC), resulta em diminuição da atividade simpática renal (Irigoyen e col., 1991; Cestari e col., 1996), sugerindo que os quimioceptores do corpo carotídeo exerçam influência excitatória tônica simpática. Também a remoção seletiva dos quimioceptores resulta em leve hipotensão (~10 mmHg) mantida cronicamente, o que comprova o efeito tônico excitatório dos quimioceptores arteriais sobre o tônus simpático (Franchini e Krieger, 1992). Ainda, o aumento da pO_2 do sangue arterial aumenta a PA em ratos acordados submetidos à desnervação sinoaórtica (Franchini e col., 1994), demonstrando a dependência do aumento da PA em função da pO₂ arterial em ratos desnervados. A ação simpática para o sistema cardiovascular pode ser dividida quanto aos receptores dos mediadores simpáticos que são do tipo α (alfa) e β (beta). Os receptores α -adrenérgicos localizam-se sobre os leitos vasculares arterial e venoso produzindo vasoconstrição quando ativados. Isto resulta em aumento da resistência periférica e do retorno venoso, respectivamente. Os receptores β-adrenérgicos, localizados no coração, apresentam ação excitatória das catecolaminas sobre os nódulos sinusal e átrio-ventricular produzindo aumento da FC e da contractilidade do músculo cardíaco. A ação do sistema nervoso parassimpático sobre o sistema cardiovascular se dá quase exclusivamente sobre o coração, pela redução da FC e pequena diminuição da contractilidade do músculo cardíaco. Estes mecanismos de regulação operam geralmente em malha com realimentação negativa e exibem complexidade e redundância que explicam em parte a dificuldade encontrada na investigação da regulação da PA.

1.3 Flutuações de Parâmetros do Sistema Cardiovascular

Diversos sinais do sistema cardiovascular, inclusive a PA e a FC, apresentam flutuações rítmicas e não rítmicas que integram suas variabilidade. Estas flutuações são tradicionalmente divididas em faixas de muito baixa freqüência (MBF), baixa freqüência (BF), média freqüência (MF) e alta freqüência (AF). Os limites em freqüência de cada faixa não são únicos e dependem da espécie estudada. Como ilustração é apresentado na Figura 2 as faixas de flutuações normalmente adotadas para o rato, espécie objeto deste estudo, e no homem no qual comparativamente as flutuações ocorrem em freqüências menores. Na parte inferior da figura é apresentada a freqüência (em Hz) e a ordem de grandeza da periodicidade das flutuações (tempo). Assim, flutuações entre 0,017 e 1 Hz correspondem a períodos entre 1 e 60 segundos, flutuações entre 0,00028 e 0,017 Hz correspondem a períodos entre 1 a 60 minutos e menores que 0,00028 Hz a horas.



Figura 2. Faixas de flutuações de sinais do sistema cardiovascular. Faixa de alta freqüência (AF), de média freqüência (MF) e de baixa freqüência (BF) para o rato e para o homem. As barras ilustram os limites em freqüência das flutuações de cada faixa. O eixo inferior mostra o período equivalente das flutuações.

1.3.1 Flutuações de alta freqüência ou ondas de Hering

O primeiro relato descrevendo a modulação respiratória da freqüência cardíaca foi apresentado por Ludwig em 1847. Mudanças da FC com a respiração, no homem, foram demonstradas por Hering em 1871 (Akselrod e col., 1981). Estas flutuações são denominadas flutuações de alta freqüência (AF) ou também ondas de Hering. Esta flutuações ocorrem na faixa de 0,15 a 0,5 Hz no homem e entre 0,8 e 3 Hz no rato. Duas hipóteses sugerem explicação para estas flutuações:

- Hipótese mecânica: a variação rítmica da pressão intra-torácica provocada pela respiração influencia o retorno venoso que, desconsiderando-se a capacidade de reserva dos pulmões, reduz o retorno para o lado esquerdo do coração e, por conseqüência, diminui a FC e a PA (Hirsch e Bishop, 1981).
- Hipótese central: há "vazamento" de informações do centro respiratório para o centro vasomotor e as informações responsáveis pelas flutuações (da PA e da FC em AF) estão contidas nas eferências nervosas (Gebber, 1980; Hirsch e Bishop, 1981).

1.3.2 Flutuações de média freqüência ou ondas de Mayer

As flutuações de média freqüência (MF) ocorrem entre 0,06 a 0,15 Hz no homem e entre 0,2 a 0,8 Hz no rato. Os mecanismos envolvidos nas ondas de Mayer estão associados com a atividade vasomotora. Duas hipóteses são propostas para as flutuações que ocorrem nesta faixa:

- Hipótese central: sugere a existência de um oscilador central que dá origem a estas ondas.
- Hipótese da ressonância: as flutuações resultam de uma ressonância que se instala na malha barorreflexa da regulação da PA (De Boer e col., 1987).

1.3.3 Flutuações de baixa freqüência e muito baixa freqüência

As principais hipóteses sugeridas para as flutuações de baixa freqüência (BF), menores que 0,06 Hz no homem e 0,2 Hz no rato, têm sido relatadas como modulações associadas a mecanismos lentos como a termoregulação e o sistema renina-angiotensina. (Akselrod e col., 1981). Mais recentemente, a análise de segmentos com algumas horas de duração mostrou a existência de flutuações não rítmicas de muito baixa freqüência (MBF) com freqüências menores que 0,02 Hz. Um comportamento $1/f^{\alpha}$, onde a potência espectral aumenta linear e inversamente com a freqüência (quando apresentadas em escala bi-logarítmica), vem sendo apresentado como típico desta faixa de flutuações (Musha, 1995; Di Rienzo e col., 1996). Alguns trabalhos sugerem associação do comportamento $1/f^{\alpha}$ com sistemas que integram múltiplas regulações ou comportamento caótico do sistema cardiovascular (Saul e col., 1988; Wagner e col., 1995). Uma revisão sobre a natureza caótica do sistema cardiovascular pode ser encontrada em trabalho de Wagner e Persson (1998).

1.4 Motivação

A desnervação sinoaórtica (DSA) remove as fibras nervosas aferentes pressoreceptoras e quimioceptoras do arco aórtico e do seio carotídeo. Na fase aguda da desnervação sinoaórtica (DSAa), entre 6 a 8 horas pós operatório, observa-se hipertensão, aumento da variabilidade da PA, taquicardia e redução da variabilidade do IP (Krieger, 1964). Há uma normalização da hipertensão na fase crônica da desnervação sinoaórtica (DSAc), 8 dias pós operatório, persistindo a grande variabilidade da PA e pequena variabilidade do IP.

Após padronização de registro direto da atividade nervosa simpática (ANS) no rato acordado a ANS passou a ser estudada através de metodologia especificamente desenvolvida para esta finalidade no Laboratório de Experimentação do Serviço de Hipertensão do InCor (Irigoyen e col, 1988). Resumidamente, o eletroneurograma simpático renal registrado foi amplificado e retificado em onda completa e integrado após subtração do ruído de linha de base. Utilizou-se um integrador reinicializável por limiar, gerando um sinal de saída semelhante à uma barra, permitindo que a atividade nervosa fosse estimada através do número de barras produzidas por ciclo cardíaco durante o período do registro. A Figura 3 traz um exemplo do registro da ANS e da atividade integrada.



Figura 3. Exemplo do sinal registrado no estudo da atividade simpática no rato controle e após a DSAa. Na parte superior da figura é ilustrado o ENG simpático renal, no centro a integração do ENG para obtenção da atividade simpática integrada por barras e na parte inferior a pressão arterial [modificada de Irigoyen e col, 1988].

Também pode ser observada na figura a modificação do padrão de descargas. Esta técnica permitiu demonstrar que a hipertensão observada na fase aguda ocorria simultaneamente a um aumento do tônus simpático (Irigoyen e col., 1991). Esta modificação foi confirmada em trabalho posterior onde constatou-se que a DSAa apresentava um aumento do número de ciclos

cardíacos com maior atividade simpática (Figura 4 - DSAa) e na fase crônica da DSA (Figura 4 - DSAc) um maior número de ciclos cardíacos silentes (Irigoyen e col., 1995).

As variabilidades na DSAa e DSAc foram extensivamente investigadas (Krieger, 1964; Franchini e Krieger, 1992; Irigoyen e col., 1995; Cestari e col., 1996; Di Rienzo e col., 1996; Mancia e col., 1999). No entanto, nestes trabalhos, as variabilidades foram estudadas separadamente no domínio do tempo (PA, FC, ANS) ou no domínio da freqüência (PA e IP).



Figura 4. Histograma da Atividade Simpática: Ocorrência percentual de ciclos cardíacos em função da atividade simpática: Controle, DSAa e DSAc no rato WKY acordado em registro de 3 minutos [modificada de Irigoyen e col., 1995]

Além da modificação do padrão de descargas da ANS a DSA altera o espectro da PA (Irigoyen e col., 1991). Neste trabalho também é apresentado o efeito da DC sobre o espectro da PAS, resultado ilustrado na Figura 5. A eliminação dos quimioceptores pela DC desloca o pico

localizado em 1,2 Hz no controle (espectro A) para 0,8 Hz (espectro B). Após a eliminação dos quimios e pressoreceptores pela DSA o pico em 1,2 Hz no controle é deslocado para 0,8 Hz (espectro C) e o pico observado em 0,35 Hz tanto no controle como no DC é eliminado pela DSAa. O aumento da variabilidade da PA após a DSAa é acompanhado por um deslocamento "para cima" das componentes do espectro da PA (espectro C). Este trabalho foi o primeiro a aplicar a análise espectral na análise da DSA e foi realizado em ratos anestesiados com registros de 3 minutos de duração.



Figura 5. Efeitos da desnervação carotídea (B) e DSAa (C) comparado com o controle (A) no rato WKY anestesiado em registro de 3 minutos. Os gráficos à esquerda ilustram a PAS e a ANS renal. A desnervação carotídea diminui a PA e a ANS enquanto a DSAa aumenta a PA e a ANS. Os gráficos à direita ilustram a análise espectral da PAS no controle (A), após desnervação carotídea (B) e após a DSAa (C) [modificado de Irigoyen e col, 1991]

Estas observações motivaram o aprofundamento dos estudos utilizando-se registros mais longos realizados em animais acordados. Para tanto, foi necessário desenvolver ferramentas que permitissem análise mais refinada e precisa dos sinais de interesse nos domínios tempo, freqüência e tempo-freqüência. A análise no domínio tempo-freqüência vem sendo aplicada no estudo da PA e do IP em diferentes condições (Di Rienzo e col., 1989; Novak e Novak, 1993; Pola e col., 1996 Jasson e col., 1997). Neste trabalho foi comparado diferentes métodos para análise tempo-freqüência e suas aplicações durante estímulos produzidos pela administração de drogas vasoativas partindo da experiência prévia da aplicação da análise tempo-freqüência em instrumentação (Costa, 1989; Costa e Leeman, 1989) e na análise do ECG (Nina-Huallpa e col, 1992).

1.5 Objetivos

De acordo com o exposto até aqui, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Desenvolver um editor de sinais e aplicá-lo nos pré-processamentos necessários às análises nos domínios tempo, freqüência e tempo-freqüência.
- Escrever os algoritmos para análise nos domínios do tempo (média e desvio padrão) e da freqüência (espectral e coerência de banda larga) utilizando-se programação para Matlab[®] (The Mathworks, USA).
- 3) Aplicar as análises nos domínios tempo e freqüência aos sinais da PA (sistólica PAS e diastólica PAD), do IP, da atividade nervosa simpática (ANS) e da respiração (RESP) obtidos em ratos WKY normais, acordados e identificar as modificações produzidas pela desnervação sinoaórtica na fase aguda (DSAa).
- Escrever os algoritmos para análise tempo-freqüência (espectrograma, distribuição de Wigner e distribuição de Wigner modificada) utilizando-se programação para Matlab[®] (The Mathworks, USA).

5) Estudar de forma qualitativa, através da análise tempo-freqüência, a evolução temporal do espectro de sinais sintetizados e sinais transitórios da PAS, PAD e IP obtidos durante a injeção de drogas vasoativas em ratos normais.

2 Material e Métodos (I)

Conforme vem sendo descrito, desenvolvemos algumas ferramentas que permitem a análise de sinais biológicos no domínio do tempo, freqüência e tempo-freqüência. Utilizamos a média e o desvio padrão para caracterizar os efeitos da DSAa sobre a PA, IP, ANS e FR e suas variabilidades. Utilizamos a análise espectral e de coerência para caracterizar os efeitos da DSAa sobre as componentes em freqüência da PA, IP, ANS e RESP e os acoplamentos lineares entre estas variáveis. Finalmente, utilizamos a análise no domínio tempo-freqüência para visualização da evolução espectral da PA e do IP durante administração de drogas vasoativas. Visando tornar mais didática a exposição das ferramentas desenvolvidas e suas aplicações, optamos por apresentar os procedimentos experimentais para obtenção e registro dos sinais a seguir no item 2.1, "Protocolos Experimentais", e em seguida as técnicas de processamento propriamente ditas no item 3, "Material e Métodos (II)".

2.1 **Protocolos Experimentais**

2.1.1 Obtenção dos sinais para estudo da variabilidade de sinais

A obtenção dos sinais para estudo da variabilidade dos sinais no tempo e para aplicação das análises espectral e de coerência é descrita a seguir. No restante do texto referiremos a este protocolo como protocolo 1.

Foram estudados ratos Wistar (WKY) machos, acordados, com pesos entre 250 e 300 g provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo mantidos em ciclos alternados de luminosidade de 12 horas. Dois grupos experimentais foram estudados e consistiram de animais DSAa (n=8) e ratos controles (n=8, CTRL), acordados, alojados individualmente, livres no espaço da gaiola, com ração e água *ad libitum*. No dia anterior ao experimento o animal é anestesiado (pentobarbital sódico, 40 mg/kg, ip) e catéteres de polietileno são implantados na artéria carótida e na veia jugular. A cânula arterial (preenchida com soro heparinizado) é utilizada para registro da PA e a cânula venosa para administração de drogas (solução fisiológica e anestésico). Um dia após o implante dos catéteres, os animais são novamente anestesiados (pentobartial sódico, 40 mg/kg, iv), submetidos à desnervação sinoaórtica e recebem implante dos eletrodos para registro do eletroneurograma simpático renal e do eletromiograma do diafragma. Os sinais foram registrados por 90 minutos ininterruptos, sempre no mesmo período do dia, após 6 horas de recuperação pós-operatória. A Figura 6 ilustra um exemplo das séries temporais observadas antes e após a DSAa.



Figura 6. Exemplo dos sinais estudados no rato acordado. A partir do topo da figura, tem-se a PA (mmHg), o ENG simpático renal (unidades arbitrárias, ua) e o EMG do diafragma (ua) registrados em um animal controle (esquerda) e após a DSAa (direita).

2.1.2 Obtenção dos sinais para análise tempo-freqüência

O sinal de PA foi registrado durante aumento de pressão obtido pela administração de fenilefrina (100 µg/ml, Sigma Chemical Co.) e durante a queda da pressão obtida pela administração de nitroprussiato de sódio (100 µg/ml, Sigma Chemical Co.). O procedimento para implante das cânulas é similar ao descrito no protocolo 1. Foram estudados ratos WKY normais acordados. O registro consistiu de 10 segundos controle seguidos de 30 segundos com utilização de drogas vasoativas (2,5 ml/hora) administradas por bomba volumétrica (modelo 55-2222, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA). A Figura 7 apresenta uma curva típica da PA registrada durante administração de fenilefrina. No restante do texto, referiremos a este protocolo como protocolo 2.



Figura 7. Curva típica da PA registrada durante administração de fenilefrina. O instante em que a bomba volumétrica é acionada está ilustrado na parte inferior.

2.1.3 Técnica de desnervação sinoaórtica

A desnervação sinoaórtica (DSA) no rato foi realizada utilizando-se o método descrito por Krieger (Krieger, 1964). Resumidamente, faz-se uma incisão de aproximadamente 3 cm na linha média da região cervical anterior, seguida da separação dos músculos pré-traqueais e localização bi-lateral do conjunto vásculo-nervoso constituído pela artéria carótida, nervo vago e tronco simpático. A desnervação propriamente dita consiste na secção das fibras pressoreceptoras aórticas que trafegam junto ao tronco simpático ou podem ainda ser encontradas como nervo isolado. Em alguns animais pode-se observar um contingente de fibras aórticas junto ao nervo laringeo inferior. Este feixe é interrompido quando o nervo laringeo superior é seccionado ou seccionando-se fibras isoladas que aparecem juntas ao laringeo inferior. Para completar a DSA a bifurcação carotídea é localizada, exposta e dissecada completamente nos dois lados seccionando-se as fibras carotídeas e destruindo-se o corpúsculo carotídeo (Irigoyen, 1991). Após a DSA, administram-se drogas vasoativas para alterar a PA considerando-se a DSA completa quando esta alteração não é acompanhada por reflexo na FC correspondente à variação maior que 5 bpm. O procedimento experimental foi realizado por pesquisador do Laboratório de Experimentação do Serviço de Hipertensão do InCor, colaborador deste projeto.

2.2 Instrumentação

A PA carotídea, o eletroneurograma (ENG) simpático renal e o eletromiograma (EMG) do músculo diafragmático foram registrados em ratos normais e ratos DSAa acordados. Os procedimentos utilizados para obtenção dos sinais são descritos a seguir:

2.2.1 Condicionamento da pressão arterial

Para registro da PA a cânula arterial, tunelada subcutaneamente e exteriorizada na base do crânio do rato, é conectada a um transdutor de pressão Statham P23 Db (Gould-Statham, Oxnard, CA, USA). O sinal do transdutor é amplificado por um condicionador de sinais (Stemtech, USA) e filtrado (passa-baixas com fc = 50 Hz, Bioengenharia-InCor, São Paulo).

2.2.2 Condicionamento do eletroneurograma do nervo simpático renal

Para registro do eletroneurograma (ENG) um eletrodo bipolar de platina (diâmetro $\phi = 50$ µm, Degusa, Guarulhos) é fixado ao redor do nervo simpático renal. A preparação é cuidadosamente isolada com borracha de silicone (Wacker Sil-Gel 604). Os fios dos eletrodos são tunelados subcutaneamente e os terminais livres exteriorizados junto às cânulas na base do crânio do rato. O ENG é amplificado (amplificador diferencial, Tektronix 5A22N, ganho = 5.000) e filtrado (passa faixa 100 Hz < fc < 3.000 Hz). Posteriormente o sinal é retificado em onda completa (Bioengenharia-InCor, São Paulo).
2.2.3 Condicionamento do eletromiograma do diafragma

Para registro do eletromiograma (EMG) do diafragma, um eletrodo bipolar de aço inoxidável (diâmetro $\phi = 100 \mu m$, Degusa, Guarulhos) é implantado diretamente no músculo diafragmático. Os terminais livres dos eletrodos são tunelados subcutaneamente e exteriorizados na base do crânio do rato. O sinal é amplificado (amplificador diferencial, Tektronix 5A22N, ganho = 5.000), filtrado (passa faixa 100 Hz < fc < 3.000 Hz) e retificado (Bioengenharia-InCor, São Paulo).

2.3 Registro Digital dos Sinais e Filtragem Anti-Aliasing dos Sinais

Para análise no tempo e freqüência os sinais de PA, ENG e EMG foram digitalizados simultaneamente, cada sinal com freqüência de amostragem $f_s = 250$ Hz (DI220, 12-bits, WinDAC-Dataq Instruments, USA.). A digitalização foi precedida por filtragem analógica para reduzir o efeito de sobreposição espectral, *aliasing*, do sinal (filtro passa-baixa 4^a ordem, tipo Butterworth, freqüência de corte $f_c = 50$ Hz, InCor-Bioengenharia, São Paulo). Outras informações referentes ao filtro utilizado são apresentadas no Apêndice 7 (módulo condicionador de sinais).

Para análise tempo-freqüência o sinal da PA foi registrado com freqüência de amostragem, $f_s = 800$ Hz (DI220, 12-bits, WinDAC-Dataq Instruments, USA). A digitalização foi precedida por filtragem analógica (passa-baixa, $f_c = 50$ Hz)

2.4 Critérios Observados Para Registro e Utilização dos Sinais

As ferramentas computacionais para manipulação e pré-processamento dos sinais desenvolvidas neste trabalho não exigem que os sinais estejam livres de ruído. Ainda assim, as

condições para registro dos sinais foram padronizadas visando reduzir a interferência do ambiente observando-se que:

- O nível sonoro no ambiente de experimento fosse mantido o menor possível
- A organização física e funcional dos equipamentos de condicionamento e registro de sinais fosse mantida
- O conjunto de equipamentos de registro não ficasse próximo de possíveis fontes de ruído
- Todos os equipamentos utilizados fossem conectados a tomadas com aterramento comum.
- Os cabos de sinais fossem blindados e fossem utilizados amplificadores diferenciais para condicionamento do ENG e do EMG
- Fosse adotada gaiola de Faraday
- O tempo de registro fosse igual ou maior que 4800 segundos.
- O período de registro fosse ininterrupto sem perda da base de tempo dos sinais
- O ENG não apresentasse flutuações da linha de base ou saturação do sinal
- O EMG não apresentasse flutuações da linha de base ou saturação
- Coeficiente de ajuste $r^2 > 0,999$ para um mínimo de 3 pontos na calibração do sinal de PA.

3 Material e Métodos (II)

3.1 Pré-Processamento dos Sinais

A seguir, descrevemos as técnicas de pré-processamento e processamento de sinais desenvolvidas. Os sinais foram preparados digitalmente para as análises nos domínios tempo, freqüência e tempo-freqüência. Para este fim, desenvolvemos um editor de sinais para automatizar a detecção dos eventos batimento a batimento e permitir a visualização dos eventos detectados.

3.1.1 Interpolação

A interpolação de sinais tem como objetivo regularizar a periodicidade dos eventos definidos a cada batimento cardíaco. Definimos uma freqüência de interpolação, f_i , 5 vezes maior que a freqüência de corte do filtro *anti-aliasing*. Assim, consideramos $f_i = 250$ Hz. Existem diversos modos de interpolação de sinais. A interpolação *spline* cúbica é

tradicionalmente a mais utilizada e foi adotada no editor desenvolvido. No Apêndice 6 apresentamos uma comparação qualitativa entre diferentes modos de interpolação.

3.1.2 Decimação

A taxa de amostragem de um sinal pode ser diminuída com fator M sem *aliasing* se a taxa de amostragem do sinal original for pelo menos M vezes a freqüência de Nyquist ou se o conteúdo em freqüência do sinal for primeiramente reduzido por um fator M por meio de filtragem discreta (Oppenheim e Schafer, 1989). Para tanto, previamente à compressão do sinal, utilizamos um filtro digital passa baixa para reduzir o efeito de *aliasing*.

A estrutura do filtro IIR utilizado é dada pela seguinte equação (eq. 1)

$$H(z) = \frac{\sum_{k=0}^{P} b_{k} z^{-k}}{1 - \sum_{k=1}^{P} a_{k} z^{-k}} , \text{ sendo P=3.}$$
eq. 1

A equação de diferenças do filtro IIR apresentado na (eq. 1) é dada pela equação (eq. 2):

$$a_0y(n) = b_1x(n) + b_2x(n-1) + b_3x(n-2) - (a_1y(n-1) + a_2y(n-2) + a_3y(n-3))$$
 eq. 2

O tempo utilizado na filtragem de um sinal é função da ordem do filtro utilizado, sendo que quanto maior a ordem do filtro maior o tempo consumido no processamento. Para uma dada especificação de filtragem, estudos comparativos mostram que filtros do tipo elíptico apresentam melhor desempenho computacional se comparados com os filtros do tipo Butterworth ou Bessel. Considerando-se a freqüência de amostragem $f_s=250$ Hz, freqüência no limite superior da banda de passagem $f_p=4$ Hz, oscilação na banda de passagem $R_p=0,2$ dB, freqüência no limite inferior da banda de rejeição $f_c=6,9$ Hz e oscilação na banda de rejeição $R_c=20$ dB, é possível obter-se um filtro de terceira ordem do tipo elíptico que satisfaz estes critérios. Os coeficientes deste filtro são apresentados na Tabela 1.

| Coeficiente | Valor |
|-----------------------|-------------------|
| a_0 | 1 |
| a ₁ | -2.83441636570308 |
| a ₂ | 2.68895794280032 |
| a ₃ | -0.85324993237615 |
| b_0 | 0.01998826742383 |
| b_1 | -0.01934244506328 |
| b_2 | -0.01934244506328 |
| b ₃ | 0.01998826742383 |

Tabela 1. Coeficientes do filtro digital passa-baixa pré-compressão

A resposta em freqüência e a fase do filtro pode ser visto a seguir na Figura 8:



Figura 8. Resposta do filtro passa-baixa pré decimação. A) resposta em freqüência e B) fase. Freqüência de amostragem Fs=250 Hz, freqüência no limite superior da banda passagem Fp=4 Hz, oscilação na banda de passagem Rp= 0,2 dB, freqüência no limite inferior da banda de rejeição Rc= 6,9 Hz e oscilação na banda de rejeição Rc=20 dB.

Adicionalmente à especificação do tipo do filtro, aplicamos uma filtragem direta e reversa que permite compensar a defasagem em freqüência produzida na utilização do filtro em um sentido com a aplicação do mesmo filtro no sentido inverso. Isto resulta em uma filtragem com defasagem igual a zero e amplitude modificada pelo quadrado da função de transferência do filtro. Após a filtragem realizamos a compressão do sinal (Oppenheim e Schafer, 1989) de acordo com a seguinte equação (eq. 3):

$$x_d(n) = x(nM)$$
; sendo M=18 eq. 3

Para diminuir o tempo gasto durante a interpolação e decimação da série temporal contendo os eventos batimento a batimento (~40.000 batimentos) adotamos um processamento por segmentos (ver Figura 9). Este processamento consistiu em quebrar a série temporal total em pequenas sub-séries parcialmente sobrepostas com comprimentos definidos de modo que as séries resultantes das interpolações tivessem 65.536 pontos.



Figura 9. Segmentação e Re-amostragem das séries temporais

Cada sub-série interpolada é decimada e imediatamente descartada para não ocupar espaço em memória. O processo é repetido preservando-se apenas as séries decimadas até finalizar a análise de toda a série temporal.

As distorções nas bordas de interpolação são compensadas pela sobreposição adotada entre os segmentos permitindo descartar os trechos com distorção sem perda da base de tempo. O

resultado final de todo este processamento é a obtenção de nova série temporal com pontos regularmente espaçados no tempo.

3.1.3 Obtenção das séries temporais da PA e do IP

Protocolo 1 – Para análise do sinal de PA batimento a batimento, os eventos sistólicos (PAS) e diastólicos (PAD) da PA foram identificados e marcados. O IP foi estimado pelo intervalo entre diástoles consecutivas. Após inspeção visual de todas as séries obtidas fez-se a regularização da periodicidade por interpolação *spline* cúbica (f_i=250 Hz) e, após isto, a redução do número de pontos por decimação (18 vezes). Para a análise espectral foram utilizados os primeiros 65.536 pontos de cada série temporal decimada o que compreende aproximadamente 80 minutos de registro.

Protocolo 2 – Para a análise do sinal de PA batimento a batimento, os eventos sistólicos (PAS) e diastólicos (PAD) da PA foram identificados e marcados. O IP foi estimado pelo intervalo entre diástoles consecutivas. Após inspeção visual de todas as séries obtidas faz-se a regularização da periodicidade por interpolação *spline* cúbica (f_i =800 Hz), após o que o número de pontos foi reduzido por decimação (54 vezes). Para a análise tempo-freqüência foram utilizados os primeiros 512 pontos de cada série temporal decimada, o que compreende aproximadamente 35 segundos de registro.

3.1.4 Pré-processamento do eletroneurograma simpático renal

A medição da atividade nervosa simpática direta pelo registro do eletroneurograma (ENG) em animais acordados tem sido descrita em diferentes situações experimentais (Persson e col., 1992; Ninomiya e col., 1993, Irigoyen e col., 1995). A atividade multi-fibra do ENG depende da atividade individual de cada fibra, do acoplamento entre eletrodo e nervo e do

número de fibras nervosas existente no feixe nervoso (Hoop e col., 1986). Normalmente, utilizase algum tipo de filtragem como procedimento para cálculo da atividade nervosa (Irigoyen e col., 1988, Hoop e col., 1986, Irigoyen e col., 1995; Lundin e col., 1984). Neste trabalho a ANS foi determinada batimento a batimento através: 1) do valor de pico da atividade nervosa simpática integrada (ANSi); e 2) do valor médio da atividade nervosa simpática (ANSp). A seqüência de processamento adotada para obtenção da ANSi e ANSp é ilustrada na Figura 10.



Figura 10. Obtenção da atividade simpática integrada (ANSi) e da atividade simpática média (ANSp). O eletroneurograma é retificado e filtrado (passa-baixa, fc = 50 Hz). O sinal é então integrado para obtenção da ANSi e dividido pelo intervalo de pulso para obtenção da ANSp.

Primeiramente o ENG original é retificado em onda completa, filtrado, digitalizado e integrado no intervalo definido por eventos diastólicos consecutivos. Para a obtenção da ANSi os valores obtidos pela integração (μVs) são normalizados pelo método descrito por Lundin (Lundin e col., 1984). Nesta normalização foi adotado 1% mínimo e máximo da distribuição da ANS como 0 e 100% da atividade de ciclo, respectivamente (Irigoyen e col., 1995).

A ANSi definida batimento a batimento é dada pela seguinte equação (eq. 4):

ANSi(n) = L
$$\left[\frac{1}{f_s}\sum_{k=t_n}^{t_{n+1}} ENG(k)\right]$$
 eq. 4

onde: ANSi é a integral da atividade nervosa no batimento n em valores percentuais (%)

ENG é o eletroneurograma retificado e filtrado (μ V)

- L indica normalização pelo método multi-fibra de Lundin
- f_s é a freqüência de amostragem do sinal (Hz)
- t_n é o instante de ocorrência de um evento diastólico
- t_{n+1} é o instante de ocorrência do evento diastólico consecutivo

A ANSp foi obtida dividindo-se os valores obtidos pela integração do ENG pelos respectivos intervalos de integração (equivalente ao intervalo de pulso do batimento) e normalizando o resultado pelo método de Lundin de acordo com a seguinte equação (eq. 5):

$$ANSp(n) = L\left[\frac{1}{t_{n+1} - t_n} \sum_{k=t_n}^{t_{n+1}} ENG(k)\right]$$
eq. 5

onde: ANSp é a média da atividade nervosa no batimento n em valores percentuais (%)

ENG é o eletroneurograma retificado e filtrado (μ V)

L indica normalização pelo método multi-fibra de Lundin

t_n é o instante de ocorrência de um evento diastólico

t_{n+1} é o instante de ocorrência do evento diastólico consecutivo

 t_{n+1} - t_n é o intervalo de pulso cardíaco (ms) do batimento n

Após a inspeção visual das séries ANSi e ANSp, a regularização da periodicidade foi feita por interpolação *spline* cúbica ($f_i=250$ Hz) e a redução do número de pontos foi feita por decimação

(18 vezes). Para a análise espectral foram utilizados os primeiros 65.536 pontos de cada série decimada.

3.1.5 Pré-processamento do eletromiograma do diafragma

O eletromiograma (EMG) do músculo diafragmático mostra a ativação do músculo durante a inspiração e o relaxamento durante a expiração (ver Figura 6). A partir do EMG do diafragma foram extraídas duas séries temporais: a freqüência respiratória, FR (Hz), para análise no domínio do tempo e a RESP analisada no domínio da freqüência. A FR foi obtida pelo inverso do intervalo entre inspirações consecutivas determinadas por máximo do EMG retificado e filtrado (passa baixa, fc = 3 Hz). A RESP foi obtida por decimação (M = 18 vezes) do EMG retificado e filtrado (passa baixa, fc = 50 Hz). Para a análise espectral foram utilizados os primeiros 65.536 pontos da série decimada normalizada pelo desvio padrão.

3.2 Análises no Domínio do Tempo

As séries temporais obtidas PAS, PAD, IP, ANSi, ANSp e FR foram analisadas no domínio do tempo pela média e desvio padrão. As variabilidades dos sinais são apresentadas pelo desvio padrão. Para comparação entre os grupos foi utilizado teste t-Student (t-teste) não pareado ou Rank teste (Mann-Whitney). A significância p < 0,05 foi considerada nos testes estatísticos.

3.3 Análise de Banda Larga

A análise de banda larga foi implementada seguindo-se a metodologia estabelecida por Di Rienzo (Di Rienzo e col., 1996). Anteriormente, Saul (Saul e col., 1988) e também Musha (Musha, 1995) estudaram as flutuações lentas apresentando os espectros em escala bilogarítmica. Esta abordagem, que mostra o espectro em escala bi-logarítmica, expande visualmente a faixa de freqüência das componentes lentas. Na análise tradicional, onde os resultados são apresentados em escala linear, a medida que os segmentos temporais analisados são ampliados, as linhas espectrais relativas às componentes mais lentas são visualmente comprimidas contra o eixo y na freqüência zero.

3.3.1 Análise espectral de banda larga

A análise espectral de banda larga (AEBL) foi utilizada no estudo dos efeitos da DSAa sobre as componentes espectrais da PS, PD, IP, ANS e RESP. A faixa de freqüência investigada neste trabalho está compreendida entre 0,0002 e 3 Hz. Após remoção da tendência linear do sinal e da utilização de uma janela temporal cossenoidal nos 10% iniciais e finais (eq. 7) é calculado um único espectro por TRF para a série com 65.536 pontos de acordo com (eq. 6):

$$P(f_k) = \frac{2}{If_s} \left(\sum_{n=0}^{I-1} h(n) x(n) e^{-j2\pi nk/I} \right)^2 para \ k = 0 \ a \ I/2$$
eq. 6

onde I é o número de pontos analisados por TRF

f_s é a freqüência de amostragem

r

e h(n) é calculada por uma janela (Di Rienzo e col., 1996) descrita por

$$h(n) = \begin{cases} 1 - \cos(n\pi/6.553) & n = 0,...,6.553 \\ 1 & n = 6.554,...,58.982 \\ -1 + \cos((n-58.982)\pi/6.553) & n = 58.982,...,65.535 \end{cases}$$
eq. 7

A unidade da potência espectral $P(f_k)$ é dada pela razão entre o quadrado da unidade e a freqüência [unidade²/Hz] e utilizando-se o teorema de Parseval tem-se que:

$$\sum_{k=0}^{1/2} P(f_k) \frac{f_s}{I} = \frac{1}{I} \sum_{n=0}^{I} \left| x(n)^2 \right|$$
 eq. 8

Na AEBL a variância da estimativa é diminuída, de forma progressiva, das componentes de baixa freqüência para as de alta freqüência. A progressão da filtragem é obtida variando-se o tamanho da janela de um filtro do tipo média ponderada móvel (MPM) em função da equação af^{b} , onde f é a freqüência e "a" e "b" são os coeficientes que definem a progressão da filtragem. Estes coeficientes definem uma filtragem com máxima resolução em baixa freqüência e redução progressiva da variância nas altas freqüências. A variável N(f_k) assume valores inteiros maiores que zero e é obtida pela seguinte equação (eq. 9):

$$N(f_k) = int(af_k^b) - 1$$
 eq. 9

onde: f_k é a componente de freqüência

"a" e "b" são coeficientes que definem a progressão da filtragem.

Neste trabalho apresentamos um método simplificado para cálculo dos coeficientes de filtragem "a" e "b" a partir da resolução em freqüência em 1 Hz (item 4.2.1). Os coeficientes "a" e "b" adotados para determinação do comprimento da janela de média móvel para análise espectral foram calculados conforme este método. A resolução em freqüência para a análise espectral foi definida em $B_e(1Hz)_{AE} = 0,010$ Hz resultando em a = 48,1859 e b = 0,4581. O comprimento da janela triangular do filtro MPM é calculado pela seguinte equação (eq. 10):

$$L(f_k) = 2N(f_k) + 1$$
 eq. 10

A potência estimada com variabilidade controlada pelo método de banda larga, $P_s(f_k)$, é calculada pela equação (eq. 11). O cálculo consiste da média ponderada dos valores estimados $P(f_k)$ multiplicados pelos pesos w_i.

$$P_{s}(f_{k}) = \sum_{i=-N(f_{k})}^{N(f_{k})} P(f_{k+i})$$
 eq. 11

Os pesos w_i da janela triangular são calculados pela seguinte equação (eq. 12):

$$w_{i} = \frac{N(f_{k}) + 1 - |i|}{(N(f_{k}) + 1)^{2}} \qquad \text{com: -N}(f_{k}) \le i \le N(f_{k}) \qquad \text{eq. 12}$$

A resolução em freqüência da AEBL definida pela largura de banda equivalente, B_e , é calculada pelo produto da largura da janela de média móvel e do intervalo de freqüência, Δf (eq. 13). (Di Rienzo e col., 1996), O valor de Δf é calculado pela razão entre a freqüência do sinal reamostrado (250/18 Hz) e o número de pontos analisados por TRF (65.536 pontos).

$$\mathbf{B}_{e}(\mathbf{f}_{k}) = (\mathbf{N}(\mathbf{f}_{k}) + 1)\Delta\mathbf{f}$$
 eq. 13

A resolução em freqüência definida pela largura de banda estatística efetiva, B_s , é calculada a partir da B_e pela seguinte equação (eq. 14):

$$B_{s}(f_{k}) = 1.5B_{e}(f_{k})$$
 eq. 14

A estimativa do fator de variância, EFV é dada por (eq. 15):

$$EFV = \sum_{i=-N(f_k)}^{N(f_k)} w_i^2$$
 eq. 15

3.3.2 Análise de coerência de banda larga

A análise de coerência de banda larga (ACBL) permite analisar o acoplamento linear entre dois sinais. Neste trabalho investigamos as coerências entre PS, PD, IP, AN e RESP (dois a dois) na faixa de freqüência entre 0,0017 a 3 Hz e a influência da DSAa sobre estas coerências. Em contraste com a análise espectral, a análise de coerência exige alguma segmentação prévia para evitar uma estimativa invariável igual a um. Considerando-se os sinais x(n) e y(n), a segmentação é obtida pela divisão dos sinais originais em 8 segmentos com 8192 pontos. A TRF de cada segmento $x_i e y_i$ é calculada resultando em $X_i(f_k) e Y_i(f_k)$. Para cada par do sinal transformado, o autoespectro $G_{xx} e G_{yy} e$ o espectro cruzado G_{xy} são calculados como segue (eq. 16):

$$G_{xx}(f_{k}) = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^{8} |X_{i}(f_{k})|^{2}$$

$$G_{yy}(f_{k}) = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^{8} |Y_{i}(f_{k})|^{2}$$

$$G_{xy}(f_{k}) = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^{8} X_{i}(f_{k}) Y_{i}^{*}(f_{k})$$

eq. 16

A divisão dos sinais originais em 8 segmentos reduz homogeneamente o erro da estimativa em função da freqüência. Na seqüência, os termos G_{xx} , G_{yy} e G_{xy} são adicionalmente filtrados de forma progressiva a partir das componentes de baixa freqüência para as de alta freqüência, de acordo com a equação descrita a seguir (eq. 17):

$$\widetilde{G}_{xx}(f_{k}) = \sum_{i=-N_{c}(f_{k})}^{N_{c}(f_{k})} w_{i}G_{xx}(f_{k+i})$$

$$\widetilde{G}_{yy}(f_{k}) = \sum_{i=-N_{c}(f_{k})}^{N_{c}(f_{k})} w_{i}G_{yy}(f_{k+i})$$

$$\widetilde{G}_{xy}(f_{k}) = \sum_{i=-N_{c}(f_{k})}^{N_{c}(f_{k})} w_{i}G_{xy}(f_{k+i})$$
eq. 17

O comprimento da janela de filtragem e os pesos utilizados na MPM são determinados pelas equações (eq. 10) e (eq. 12) substituindo-se o termo $N(f_k)$ por $N_c(f_k)$ de acordo com a eq. 18. A variável $N_c(f_k)$ assume valores inteiros maiores que zero dados pela seguinte equação:

$$N_{c}(f_{k}) = int(af_{k}^{b}) - 1 \qquad eq. 18$$

A resolução em freqüência para a análise de coerência foi definida em $B_e(1Hz)_{AC} = 0,05$ Hz. Os coeficientes adotados para determinação do comprimento da janela de média móvel para a análise de coerência foram calculados conforme item 4.2.1 e resultaram em a = 30,4912 e b = 0,5357. A coerência, $|k(f_k)|^2$, é estimada à partir dos termos \tilde{G}_{xx} , $\tilde{G}_{yy}e$ \tilde{G}_{xy} substituídos na seguinte equação (eq. 19):

$$\left|\mathbf{k}(\mathbf{f}_{k})\right|^{2} = \frac{\left|\widetilde{\mathbf{G}}_{xy}(\mathbf{f}_{k})\right|^{2}}{\widetilde{\mathbf{G}}_{xx}(\mathbf{f}_{k})\widetilde{\mathbf{G}}_{yy}(\mathbf{f}_{k})}$$
eq. 19

3.4 Análises Estatísticas Associadas à Análise de Banda Larga

Para cada grupo experimental a média da densidade de potência espectral foi calculada considerando-se os valores individuais da AEBL obtida em cada rato. A diferença estatística da densidade de potência espectral foi determinada por teste t não pareado após normalização por transformação logarítmica dos espectros individuais, $P_n(f_k)$, como mostrado a seguir (eq. 20):

$$P_n(f_k) = \log[P_s(f_k)]$$
 eq. 20

Para cada grupo experimental a média da coerência foi calculada utilizando-se os valores individuais de cada rato obtidos pela ACBL. A diferença estatística da coerência entre os grupos foi determinada por t-teste não pareado após normalização por transformação arcotangente hiperbólica dos valores de coerência individuais (Di Rienzo e col., 1996) conforme eq. 21: $w(f) = \arctan h[|k(f_k)|]$ eq. 21

3.5 Análise Tempo-Freqüência

A análise espectral permite decompor uma série temporal em suas componentes em freqüência e quantificar a amplitude relativa das mesmas, mas não permite determinar o instante em que estas componentes ocorrem. Uma análise tempo-freqüência (ATF) permite determinar as componentes espectrais e suas respectivas amplitudes no instante onde estas ocorreram, ou seja, fornece um retrato da evolução do espectro no tempo. Uma ampla revisão sobre conceitos e métodos para obtenção de distribuições tempo-freqüência é apresentada por Cohen (Cohen, 1989). Neste trabalho a ATF é aplicada na análise de sinais sintetizados e sinais biológicos. A

seguir são descritos o espectrograma (STFT), a distribuição de Wigner (DW) e distribuição de Wigner modificada (DWM).

3.5.1 Espectrograma

O espectrograma (STFT) é calculado pela TRF de segmentos do sinal definidos pelo produto entre uma janela, h_N e o sinal original, x(n). Cada espectro obtido é posicionado consecutivamente formando o eixo do tempo (Kitney e Darvish, 1995). O comprimento da janela móvel e o número de pontos utilizados na TRF impõem um compromisso na relação de resolução tempo-freqüência (Oppenhein e Schaffer, 1989). Para x(n) real a STFT resulta em um matriz bi-dimensional que assume somente valores positivos (ver Figura 11). Alguma sobreposição pode ser adotada no deslocamento da janela h_N. Adotamos neste trabalho uma sobreposição igual a 90%.



Figura 11. Obtenção do espectrograma. Por simplificação a sobreposição no deslocamento da janela h_N não foi representada.

A resolução tempo-freqüência é definida empiricamente, a partir das características desejadas para o sinal analisado. O espectrograma é obtido através da equação descrita a seguir (eq. 22):

$$STFT(n,w) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} x[n+m]h_{N}[m]e^{-jwm}$$
eq. 22

onde: n é o índice da base de tempo

w é a variável freqüência

 h_N é a janela temporal

3.5.2 Distribuição de Wigner

A distribuição de Wigner (DW) pertence à classe de Cohen de distribuições conjuntas no domínio tempo-freqüência (Cohen, 1989). A DW foi originalmente proposta e aplicada na mecânica quântica por Wigner (Wigner, 1932), daí o termo distribuição, bastante apropriado para estimativas probabilísticas. O seu uso na análise de sinais foi posteriormente proposto por Ville (Ville, 1948) permanecendo relativamente obscura até a publicação dos trabalhos de Claasen e Mecklenbrauker (Claasen and Mecklenbrauker, 1980-a; b; c). A DW possibilita mostrar, em uma única representação gráfica, a evolução temporal do conteúdo em freqüência de um sinal, é uma transformação quadrática de um sinal unidimensional (ver Figura 12) e tem-se mostrado superior quanto a resolução tempo-freqüência quando comparada com a STFT. É importante notar que o cálculo da DW apresenta como resultado não só componentes positivas mas também negativas e também componentes localizadas entre os termos principais conhecidos como termos cruzados. As componentes negativas e os termos cruzados são inerentes ao método e prejudicam a visualização e a interpretação da DW como uma ATF ideal. Estas componentes podem ser minimizadas pela filtragem da distribuição ou pela utilização de kernels (Cohen, 1989). A equação para obtenção da DW discreta por TRF é descrita a seguir (eq. 23):

$$DW(n,w) = 2\sum_{m=-\infty}^{\infty} x(n+m)x^{*}(n-m)e^{-2jwm}$$
 eq. 23

onde: x^* é o complexo conjugado do sinal x(t).

n é o índice da base de tempo

w é a variável freqüência

A DW será calculada seguindo descrição anterior (Costa, 1989). Após remoção da tendência linear o sinal original é multiplicado por uma janela cossenoidal nos 10% iniciais e finais e por valor unitário no segmento restante. O sinal analítico, x(n) é calculado pela transformada de Hilbert e uma matriz bidimensional, $r_{xx}(m,n)$, é construída multiplicando-se para cada linha "m", a série x(n) com deslocamento "m" à direita pelo seu complexo conjugado $x^*(n)$ com deslocamento "m" à esquerda. A DW é obtida tomando-se a parte real da TRF das colunas da matriz r_{xx} .



Figura 12. Obtenção da Distribuição de Wigner (DW).

3.5.3 Distribuição de Wigner modificada

A distribuição de Wigner modificada (DWM) foi calculada filtrando-se a DW em freqüência e no tempo. A Figura 13 ilustra a obtenção da DWM a partir da DW.



Figura 13. Obtenção da Distribuição de Wigner modificada (DWM).

Foi utilizado um filtro do tipo média ponderada móvel com pesos h(i) e g(i) definidos por uma janela triangular descritos pelas seguintes equações (eq. 24)

$$DWM_{f}(n,w) = \sum_{i=-N}^{N} g(i)DW(n,w+i), \qquad g(i) = \frac{L_{N} + 1 - i}{(L_{N} + 1)^{2}}$$
$$DWM(n,w) = \sum_{i=-M}^{M} h(i)DWM_{f}(n+i,w), \qquad h(i) = \frac{L_{M} + 1 - i}{(L_{M} + 1)^{2}}$$
eq. 24

Os pesos h(i) e g(i) são definidos a partir do comprimento da janela utilizada. O controle dos termos cruzados é função do comprimento da janela triangular utilizado e neste trabalho foi utilizado N = 3 e M = 3.

4 Resultados

4.1 Pré-Processamento dos Sinais: Desenvolvimento de um Editor de Sinais

A preparação de sinais para análise consiste da associação de tarefas que consomem a maior parcela do tempo gasto na análise. Grande parte destas tarefas pode ser automatizada. Também as interações do usuário com o sinal podem ser simplificadas. As especificações adotadas na preparação dos sinais e o método de programação foram estabelecidos durante o desenvolvimento do editor de sinais e consistem de:

- Manter o sinal digitalizado no formato binário para melhor desempenho em velocidade. Uma comparação do tempo de abertura e recuperação de dados de arquivo armazenados nos formatos binário, *ASCII* e planilha é apresentada no Apêndice 1.
- Evitar conversões dos sinais para reduzir o efeito de arredondamentos em cascata.
- Processar o sinal e extrair informações do sinal no formato *double* (8 bytes)

- Implementar os algoritmos de análise para permitir execução direta na linha de comando do Matlab[®] ou através de arquivo auto executável
- Possibilitar a análise de longos registros (> 60 minutos) por processamento em segmentos.
- Possibilitar o processamento de arquivos com vários sinais.
- Possibilitar a editoração de artefatos.
- Desenvolver rotinas para automatizar a detecção de máximos e mínimos
- Disponibilizar um ambiente amigável para preparação dos sinais por meio de interfaces gráficas contendo menus, botões de ferramentas, teclas rápidas e o uso do apontador (*mouse*).

4.1.1 Editor de Sinais

O editor de sinais é fundamental para a verificação visual das séries preparadas para as análises posteriores. A Figura 14 ilustra a interface gráfica desenvolvida e integrada ao editor de sinais.



Figura 14. Janela principal do editor de sinais. Na janela menor é apresentada a visulização de sinal e na janela maior as séries de picos, vales e intervalo.

Esta interface permite a visualização simultânea das séries temporais digitalizadas (PA, ENG simpático renal ou EMG diafragmático) e das séries temporais aperiódicas (PAS, PAD, IP, ANS) extraídas batimento a batimento.

O comprimento do segmento da série temporal visualizado na janela do editor é configurável, assim como o canal, a apresentação visual das séries (cor e espessura da linha, tipo e tamanho do marcador), limites do eixo Y, entre outros.



Figura 15. Caixa de diálogos da visualização das séries temporais. Os ítens configuráveis são: visibilidade, estilo, cor e tamanho do marcador, estilo e espessura das linhas que unem os marcadores.

Para cada elemento configurável foi criada uma caixa de diálogos acessível pelo menu ou, em alguns casos, pela seleção do objeto desejado diretamente com o apontador. A disponibilização de caixas de ferramentas e da interface gráfica auxilia a editoração das séries temporais em todas as suas etapas, desde a detecção das sístoles e diástoles da PA até a interpolação e decimação dos sinais. Todas as ferramentas para preparação dos sinais foram agrupadas em uma caixa de ferramentas de fácil acesso, com rotinas iniciadas pelo apontador, ilustrada na Figura 16. Estas mesmas ferramentas podem ser acessadas pelo menu. Os eventos batimento a batimento de máximos e mínimos podem ser inseridos ou removidos de modo individual ou em segmentos definidos pelo apontador. A regularização da periodicidade do sinal (interpolação e decimação) também pode ser iniciada por esta caixa de ferramentas ou pelo menu.



Figura 16. Caixa de ferramentas. Permite iniciar todos as funções disponíveis no editor envolvidas no préprocessamendo dos sinais como inserir ou apagar picos e vales e intervalos. A ação dá-se de modo individual, sobre a página visível, a partir da página visível ou em segmento selecionado pelo apontador.

4.1.2 Calibração com múltiplos níveis

A forma de calibração criada permite a utilização de múltiplos de níveis calibração. Cada segmento é selecionado com o apontador e a média de cada segmento é correlacionado com valores conhecidos. Os coeficiente da regressão linear são utilizados no ajuste da escala do sinal calibrado e o coeficiente de regressão adotado para aceitação da calibração foi $r^2 > 0,999$. Por exemplo a calibração do sinal de pressão é feita por medidas realizadas simultaneamente por um transdutor de pressão (em Volts) e os valores lidos em coluna de mercúrio devidamente calibrada (realizada pelo mesmo indivíduo). A média dos segmentos selecionados e os valores conhecidos de pressão medidos com coluna de mercúrio são correlacionados e os coeficientes da equação

linear obtido por regressão são utilizados no ajuste da escala para apresentação do sinal da PA em mmHg. A calibração é re-calculada toda vez que o coeficiente de ajuste r² é inferior a 0,999 considerando-se um mínimo de pelo menos 3 segmentos. A calibração por múltiplos níveis dos sinal da PA é ilustrado a seguir na Figura 17.



Figura 17. Janela principal mostrando um sinal de calibração de pressão com múltiplos níveis. Cada segmento (S1, S2,..., S6) é selecionado pelo apontador e a média de cada segmento é correlacionado com valores conhecidos. A obtenção de coeficiente de regressão inferior a 0,999 é alertada por caixa de diálogos que solicita confirmação da calibração.

4.1.3 Obtenção dos picos e vales

Para detecção das séries PAS e PAD foi utilizada uma janela para identificação dos máximos e mínimos definida pelo intervalo onde a PA é maior e menor que uma pressão média (PAM), respectivamente. A PAM é obtida pela filtragem digital aplicada no sentido direto e

reverso da PA. Foi utilizado um filtro passa-baixa (tipo Butterworth, 2[°] ordem) com freqüência de corte igual a 1 Hz (configurável). Os máximos e mínimos assim obtidos estão localizados em tempos discretos que são múltiplos do período de amostragem (inverso da freqüência de amostragem). Para melhorar a estimativa dos máximos e mínimos o valor de pico foi determinado igualando-se a zero a primeira derivada da parábola (5 pontos, configurável) ajustada a cada máximo e mínimo discreto conforme ilustrado no detalhe da Figura 18 para um evento mínimo (diástole).



Figura 18. Obtenção dos eventos de pressão sistólica, pressão diastólica e intervalo de pulso. Pressão arterial (linha azul) e pressão média (linha vermelha). As janelas para procura dos máximos (janela +) e mínimos (janelas -) são definidas pela comparação entre PA e PAM. No detalhe é apresentado a obtenção de um mínimo pelo ajuste de uma parábola f(x) em cinco pontos e igualando a derivada primeira de f(x) a zero.

4.1.4 Obtenção da série temporal do intervalo de pulso

A estimativa do intervalo de pulso cardíaco, IP, pelo intervalo entre diástoles (ou sístoles) consecutivas é uma abordagem amplamente utilizada que não resulta em distorções espectrais significativas (Parati e col., 1990; Daffonchio e col., 1995). O IP entre diástoles é comparável com o intervalo entre as ondas R do eletrocardiograma (ECG). A utilização do IP estimado pela

PA apresenta uma vantagem eliminando os eletrodos de ECG da montagem experimental. Para melhorar a estimativa do intervalo de pulso discreto foi utilizado o instante de ocorrência do mínimo da parábola ajustada ao mínimo discreto (5 pontos, configurável) conforme detalhe ilustrado na Figura 18.

4.2 Características da Análise de Banda Larga

4.2.1 Determinação dos coeficientes da filtragem de banda larga

Neste trabalho apresentamos um método que permite determinar os coeficientes "a" e "b" a partir da resolução em freqüência, $B_e(f_o)$, na componente $f_o=1$ Hz. Os coeficientes "a" e "b" são obtidos pela eq. 25 e eq. 26, respectivamente. O método simplifica a obtenção dos coeficientes de alisamento e têm como significado físico a resolução da análise na freqüência unitária. Para a análise espectral, os coeficientes a = 48,1859 e b = 0,4581 foram obtidos a partir deste conceito, considerando-se o menor valor de N(f_k) como sendo unitário. A resolução utilizada para análise espectral no rato em $f_o=1$ Hz é $B_e(1Hz)_{AE} = 0,01$ Hz. Os coeficientes a = 30,4912 e b = 0,5357 para a análise de coerência foram obtidos considerando-se a resolução em $f_o=1$ Hz igual a $B_e(1Hz)_{AC} = 0,05$ Hz:

$$a = \left(\frac{I}{f_s}\right)^{b}$$

$$eq. 25$$

$$b = \frac{\log\left(\frac{B_e I}{f_s}\right)}{\log\left(\frac{f_o I}{f_s}\right)}$$

$$eq. 26$$

onde f_s é a freqüência de amostragem da série analisada

I é o número de pontos utilizados na análise por TRF

A dedução matemática para a obtenção dos coeficientes de filtragem da análise de banda larga, "a" e "b", é descrita a seguir. Consideramos o comprimento da janela na freqüência f_s/I como unitário, onde f_s é a freqüência de (re-)amostragem do sinal e I o número de pontos analisados por TRF. Partimos do pressuposto que a resolução em freqüência em f_o , $B_e(f_o)$, é conhecida.

O coeficiente "a" foi obtido a partir da equação (eq. 10) que define o comprimento da janela de filtragem na primeira componente em freqüência f_s/I igual à unidade:

$$L\left(\frac{f_s}{I}\right) = 2N\left(\frac{f_s}{I}\right) + 1 = 1$$
 eq. 27

Da eq. 27 depreende-se que:

$$N(f_s/I) = 0 eq. 28$$

Substituindo o resultado da eq. 28 na eq. 9 e desconsiderando-se o arredondamento temos que "a" é dado por:

$$a = \left(\frac{I}{f_s}\right)^b$$
 eq. 29

Para obter o coeficiente "b" consideramos a resolução em freqüência em f_o conhecida. Substituindo f_o na eq. 9 temos:

$$N(f_o) = int(af_o^b) - 1$$
 eq. 30

Considerando-se a eq. 13 em f_o e substituindo-se $\Delta f = f_s/I$ temos:

$$B_{e}(f_{o}) = \frac{(N(f_{o})+1)f_{s}}{I}$$
eq. 31

Da eq. 30 e da eq. 31 temos que:

$$N(f_o) + 1 = int(af_o^b) = \frac{B_eI}{f_s}$$
eq. 32

Re-arranjando e desconsiderando o arredondamento da eq. 32 temos "b" em função da resolução na freqüência f_o conhecendo-se B_e , f_s e I:

$$b = \frac{\log\left(\frac{B_e I}{f_s}\right)}{\log\left(\frac{f_o I}{f_s}\right)}$$
eq. 33

A partir das equações eq. 29 e eq. 33 é possível determinar os coeficientes de filtragem da análise de banda larga conhecendo a resolução em freqüência $B_e(f_o)$. Particularmente nesta dedução a resolução em B_e da menor componente em freqüência estudada foi f_s/I . O Apêndice 3 apresenta um exemplo para obtenção dos coeficientes "a" e "b".

4.2.2 Análise espectral

A análise espectral de ruído branco apresenta, teoricamente, um espectro "plano". Para avaliar o controle da variabilidade espectral proposto pelo método da AEBL utilizamos a análise de segmentos de ruído branco (n = 8) com média zero. A Figura 19 ilustrada a média e o intervalo de confiança da análise de ruído branco calculada pelo método de banda larga.



Figura 19. Densidade de potência espectral (linha cheia) e intervalo de confiabilidade de 95% (linha pontilhada) calculado pelo método de banda larga. O sinal analisado consiste de ruído branco (média zero) com comprimento de 65.536 pontos, intervalo de amostragem de 72 milisegundos e coeficientes de alisamento a = 48 ,1859 e b = 0,4581.

O comprimento dos segmentos de ruído branco utilizados e a regularidade dos pontos no tempo apresentam características similares às dos sinais biológicos processados neste trabalho (número de pontos I = 65.536 e intervalo de amostragem igual 72 milisegundos entre amostras).

A análise espectral de banda larga é caracterizada por alguns parâmentros com o comprimento da janela (L), a resolução equivalente (B_s), a resolução estatística (B_e) e o fator de variância (EFV). A Figura 20 ilustra estes parâmetros em função da freqüência.



Figura 20. Comprimento da janela da média ponderada móvel (L), resolução em freqüência (B_s e B_e) e fator de redução da variabilidade (EFV) considerando os coeficiente a = 48,1859 e b = 0,4581, comprimento de 65.536 pontos e intervalo de amostragem de 72 milisegundos.

4.2.3 Análise de coerência

A análise de coerência entre dois segmentos de ruído branco resulta, teoricamente, em valor invariável igual a zero. Na prática, por restrições metodológicas, o resultado é diferente de zero e pode ser interpretado como erro de tendência (*bias*) da estimativa de coerência. O comprimento dos segmentos de ruído branco utilizados e a regularidade dos pontos no tempo

apresentam as mesmas características dos sinais biológicos processados neste trabalho (comprimento I = 65.536 pontos e intervalo de amostragem igual 72 milisegundos). A Figura 21 ilustra a média e a parte positiva do intervalo de confiança da coerência calculada pelo método de banda larga entre pares de ruído branco (n=8).



Figura 21. Estimativa do *bias* (b[|k|²]) da coerência calculado pelo método de banda larga. Análise de coerência entre ruídos brancos (média zero, variância igual a um) com comprimento de 65536 pontos e intervalo de amostragem 72 milisegundos. Os coeficientes de alisamento adotados foram a = 30 e b = 0,5331. A estimativa do *bias* da coerência (linha cheia) e a parte positiva do intervalo de confiança 95% (linha pontilhada) é ilustrada.

4.3 Análise no Domínio do Tempo

A seguir são apresentados os resultados obtidos na análise dos sinais no domínio do tempo. Os dados são apresentados pelas médias \pm desvios padrões. A variabilidade é apresentada pelo desvio padrão. A seguinte legenda foi adotada para significância: * para p<0,05, ** para p<0,01 e *** para p<0,001. Os dados individuais podem ser encontrados no Apêndice 4.

4.3.1 Estatísticas descritivas

Pressão arterial – O efeito da DSAa sobre a PA é ilustrado na Figura 22. A DSAa aumenta a PAS (120,4±14,5 vs. 154,7±7,5*** mmHg) e a PAD (90,9±11,8 v. 128,2±8,1*** mmHg) como ilustrado na Figura 22 - painel esquerdo. A variabilidade também encontra-se aumentada após a

DSAa tanto para a PAS $(6,3\pm2,2 \text{ vs. } 15,0\pm5,0^{***} \text{ mmHg})$ como para a PAD $(6,9\pm2,4 \text{ vs.} 11,1\pm4,8^{*} \text{ mmHg})$ como ilustrado na Figura 22 - painel direito.



Figura 22. Pressão arterial antes (barra vazia) e após a DSAa (barra cheia). As médias das PAS e a PAD são ilustradas no gráfico à esquerda e as variabilidades da PAS e da PAD são ilustradas no gráfico à direita.

Intervalo de pulso – O efeito da DSAa sobre o IP está ilustrado na Figura 23. A DSAa diminui o IP (143,4 \pm 19,6 vs. 125,6 \pm 10,8*, painel esquerdo) e diminui a variabilidade do IP (8,2 \pm 3,1 vs. 3,8 \pm 1,3** ms, painel direito).



Figura 23. Intervalo de pulso antes (barra vazia) e após a DSAa (barra cheia). A média do IP é ilustrado no gráfico à esquerda e a variabilidade do IP no gráfico à direita.

Atividade nervosa simpática renal - A atividade simpática renal (Figura 24) estimada pela atividade integrada, ANSi, está aumentada após a DSAa ($45,3\pm2,7$ vs. $48,7\pm3,3*$ %). De forma similar a atividade simpática média, ANSp, encontra-se aumentada após a DSAa ($42,5\pm3,0$ vs. $47,9\pm3,7**$ %). A variabilidade para ANSi ($97,4\pm53,7$ vs. $78,6\pm29,8$ %, p=0,4) e ANSp ($39,1\pm9$ vs. $43,5\pm22,1$ %, p=0,6) não está modificada para a DSAa.



Figura 24. Atividade nervosa simpática antes (barra vazia) e após a DSAa (barra cheia). A ANSi e ANSp são ilustradas no gráfico à esquerda e a variabilidade da ANSi e ANSp no gráfico à direita.

Freqüência respiratória - A FR (Figura 25) estimada pelo inverso do intervalo entre inspirações consecutivas está diminuída após a DSAa ($1,86\pm0,3$ vs. $1,46\pm0,21^{**}$ Hz). A variabilidade da FR calculada pelo desvio padrão não é modificada de forma significativa pela DSAa ($0,49\pm0,15$ vs. $0,37\pm0,07$ Hz, p=0,07).



Figura 25. Respiração antes (barra vazia) e após a DSAa (barra cheia). A FR é ilustrada no gráfico à esquerda e a variabilidade da FR ilustrada no gráfico à direita.

4.3.2 Distribuição da atividade simpática

O histograma da ANSi mostra o número percentual de ciclos cardíacos em classes de atividade nervosa entre 0 e 110%. O número de ciclos com atividade nas classes 0 e 10% da ANSi observadas no grupo DSAa é menor que no grupo CTRL (p<0,05 para ambas classes) enquanto o número de ciclos de atividade na classe 40% da ANSi no grupo DSAa é maior que no grupo CTRL (p<0,05).



Figura 26. Histograma de ocorrência (%) da atividade simpática renal integrada. Média e desvio padrão do grupo acordado controle (barras vazias, n = 8) e do grupo acordados após DSAa (barras cheias, n = 8). (* p < 0,05)

Este comportamento indica um deslocamento do pico da distribuição da ANSi no grupo DSAa para a direita e mostra que a hiperatividade simpática é decorrente de uma mudança do padrão de descargas nervosas pela redução das atividades de baixa intensidade (classes 0 e 10%) e aumento da atividade de maior intensidade (classe 40%). A Figura 26 apresenta o histogramas de ocorrência da ANSi. Embora não tenhamos observado aumento significativo da ocorrência percentual das classes de ANSi de maior intensidade (>50%) observamos uma tendência destas componentes serem mais freqüentes no grupo DSAa do que no grupo CTRL.
4.4 Resultados da Análise Espectral de Banda Larga

Houve aumento da densidade de potência espectral nas componentes de freqüência entre 0,7 e 1,5 Hz e entre 0,001 e 0,15 Hz na PAS no grupo DSAa conforme ilustrado na Figura 27-A. A variabilidade observada na PAS na análise no domínio do tempo reflete o aumento da potência espectral nas faixas de freqüência acima citadas.



Figura 27. Densidade de potência espectral da pressão arterial sistólica (PAS). PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B -Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

Houve aumento da densidade de potência espectral nas componentes de freqüência entre 0,8 a 1,5 Hz e entre 0,0015 a 0,05 Hz da PAD no grupo DSAa conforme ilustrado na Figura 28-A. O aumento da variabilidade observada para PAD na análise no domínio do tempo reflete o aumento da potência espectral nas faixas de freqüência acima citadas. O espectro da PAD também apresenta uma inversão na tendência a aumento da potência espectral na faixa de freqüência entre 0,2 a 0,5 Hz o que explica em parte a menor variabilidade observada no domínio do tempo.



Figura 28. Densidade de potência espectral da pressão arterial diastólica (PAD) . PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordados após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

Houve uma consistente diminuição da densidade de potência espectral do IP no grupo DSAa em toda faixa de freqüência estudada. Esta diminuição foi significativa na faixa de freqüência entre 0,007 a 2 Hz e entre 0,0002 e 0,001 Hz conforme ilustrado na Figura 29. A menor potência espectral do IP no grupo DSAa reflete a menor a variabilidade do IP na análise no domínio do tempo.



Figura 29. Densidade de potência espectral do IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média de 8 ratos acordados após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

A densidade de potência espectral da ANSi apresenta pequenas faixas onde observa-se diferença significativa entre DSAa e controle. Conforme ilustrado na Figura 30 estas faixas são praticamente pontuais e ocorrem em 0,003 Hz, 0,007 Hz e em 0,4 Hz. Embora a faixa onde se observa a diferença não seja ampla, a ritmicidade observada em 0,4 Hz no controle está diminuída no grupo DSAa.



Figura 30. Densidade de potência espectral da atividade nervosa simpática renal integrada (ANSi). PAINEL A - média do grupo acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordados após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

Semelhantemente à ANSi, a densidade de potência espectral da ANSp apresenta pequenas faixas onde observam-se diferenças significativas entre DSAa e controle. Conforme ilustrado na Figura 31 estas faixas são pontuais em 0,003 Hz e em 0,4 Hz. Também, a ritmicidade observada em 0,4 Hz no controle é parcialmente abolida na DSAa.



Figura 31. Densidade de potência espectral da atividade nervosa simpática renal média (ANSp). PAINEL A média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha) e PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

A densidade de potência espectral da RESP no DSAa é significativamente diferente do controle na faixa de freqüência entre 1,1 a 1,2 Hz conforme ilustrado na Figura 32. Esta diferença está relacionada com um deslocamento do pico da freqüência respiratória do controle (em 1,7 Hz) para o DSAa (1,35 Hz) na freqüência respiratória. Este deslocamento do pico de AF na RESP é similar ao obtido pela análise no domínio do tempo da FR estimada pelo intervalo entre inspirações consecutivas.



Figura 32. Densidade de potência espectral da RESP . PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

4.5 Resultados da Análise de Coerência de Banda Larga

A DSAa aumenta de forma significativa o acoplamento entre PAS e PAD nas faixas entre 0,7 a 1,5 Hz (flutuações entre 0,67 a 1,43 s) e entre 0,01 a 0,03 Hz (33 a 100 s). Como ilustrado na Figura 33 o acoplamento entre PAS e PAD é superior a 0,5 para as componentes menores que 0,7 Hz tanto no grupo controle como no grupo DSAa.



Figura 33. Análise de coerência entre PAS e PAD. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAS e IP no grupo controle apresenta um pico com máximo na freqüência respiratória (~ 2 Hz) e outro com máximo em aproximadamente 0,07 Hz (Figura 34). No grupo DSAa é possível observar o pico na freqüência respiratória mas não o pico em 0,07 suprimido de forma significativa (0,06 e 0,1 Hz). O acoplamento é inferior a 0,5 para toda faixa estudada para ambos grupos experimentais.



Figura 34. Análise de coerência entre PAS e IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAS e ANSi está diminuído de forma significativa entre 0,08 a 0,1 e 0,18 a 0,6 Hz. Outra faixa que mostra acoplamento entre PAS e ANSi encontra-se entre 1 e 2 Hz, com tendência a diminuição do acoplamento após a DSAa (Figura 35).



Figura 35. Análise de coerência entre PAS e ANSi. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAS e ANSp é similar ao obtido para PAS e ANSi. Apresenta um pico entre 0,8 e 3,0 Hz e outro entre 0,02 e 0,8 Hz. Após a DSAa estes dois picos são diminuídos, apresentando significância apenas segmentos na faixa de menor freqüência (0,08 a 0,1 e 0,18 a 0,6 Hz), que não são completamente removidos (Figura 36).



Figura 36. Análise de coerência entre PAS e ANSp. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

A análise de coerência entre PAS e RESP não mostra uma faixa consistente onde haja diferença entre DSAa e CTRL (Figura 37). Uma diferença significativa é encontrada apenas na freqüência 0,003 Hz e uma tendência de aumento do acoplamento na faixa respiratória nos grupo DSAa.



Figura 37. Análise de coerência entre PAS e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAD e IP após DSAa diminui na faixa entre 0,07 e 0,13 Hz e na freqüência respiratória desloca-se para a esquerda (Figura 38).



Figura 38. Análise de coerência entre PAD e IP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAD e ANSi apresenta um pico na freqüência respiratória e outro entre 0,02 e 0,8 Hz. Após a DSAa o acoplamento entre PAD e ANSi é diminuído de forma significante na freqüência 0,1 Hz e na faixa entre 0,2 a 0,7 Hz. Neste último o acoplamento não é completamente abolido após a DSAa (Figura 39).



Figura 39. Análise de coerência entre PAD e ANSi. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre PAD e ANSp é similar ao observado entre PAD e ANSi . Apresenta um pico entre 0,02 e 0,8 Hz e outro na freqüência respiratória (~2 Hz). Após a DSAa o acoplamento entre PAD e ANSp diminui de forma significativa na freqüência de 0,1 Hz e na faixa entre 0,2 a 0,7 Hz. Nesta última faixa o acoplamento não é completamente abolido após a DSAa (Figura 40).



Figura 40. Análise de coerência entre PAD e ANSp. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

A coerência entre PAD e RESP mostra o aumento do acoplamento na faixa da freqüência respiratória e na freqüência 0,003 Hz após a DSAa (Figura 41).



Figura 41. Análise de coerência entre PAD e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre IP e ANSi é diminuído pela DSAa entre 0,005 e 0,03 Hz e modificado na freqüência respiratória conforme ilustrado na Figura 42.



Figura 42. Análise de coerência entre IP e ANSi. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre IP e ANSp é diminuído pela DSAa entre 0,005 e 0,03 Hz e modificado na freqüência respiratória conforme ilustrado na Figura 43.



Figura 43. Análise de coerência entre IP e ANSp. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre IP e RESP aumenta na freqüência respiratória após DSAa (Figura 44).



Figura 44. Análise de coerência entre IP e RESP. PAINEL A - média do grupo acordado intacto (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre ANSi e ANSp é superior a 80% tanto no grupo controle quanto no grupo DSAa em toda faixa de freqüência estudada (Figura 45). A coerência entre ANSi e ANSp tende a aumentar nas componentes de menor freqüência após a DSAa.



Figura 45. Análise de coerência entre ANSi e ANSp. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento linear entre ANSi e RESP antes e após a DSAa é inferior a 0,3 em toda a faixa de freqüência estudada (Figura 46). No entanto, é interessante notar que o perfil de acoplamento não é modificado de forma expressiva e que o acoplamento observado na freqüência respiratória mantêm a mesma magnitude após a DSAa com deslocamento do pico para a esquerda.



Figura 46. Análise de coerência entre ANSi e RESP. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

O acoplamento entre ANSp e RESP antes e após a DSAa é inferior a 0,3 em toda faixa de freqüência estudada (Figura 47). O perfil de acoplamento não é modificado e o acoplamento observado na freqüência respiratória mantêm a mesma magnitude após a DSAa, com deslocamento do pico para a esquerda.



Figura 47. Análise de coerência entre ANSp e RESP. PAINEL A - média de 8 ratos acordados intactos (linha azul) e média do grupo acordado após DSAa (linha vermelha). PAINEL B - Significância p < 0,05 indica diferença entre grupos.

4.6 Resultados da Análise Tempo-Freqüência

As análises de sinais sintetizados do tipo *chirp* e pulso gaussiano foram utilizadas para ilustrar as características das análises tempo-freqüência (espectrograma, DW e DWM) estudadas neste trabalho e são apresentadas a seguir (item 4.6.1). Posteriormente no item 4.6.2. é apresentada a aplicação da ATF na análise de sinais biológicos.

4.6.1 Análise de sinais sintetizados

O sinal ilustrado na Figura 48-A consiste de um sinal *chirp* com freqüência inicial 0,2 Hz evoluindo linearmente até atingir 1,5 Hz no instante 34,5 segundos. O espectrograma deste sinal é ilustrada em perspectiva na Figura 48-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno do espectrograma é ilustrado na Figura 48-C, onde a linha vermelha indica a função f(t) = 0,2+0,03769t correspondente à freqüência utilizado na síntese do sinal *chirp*.

O mesmo sinal *chirp* (Figura 49-A) foi analisado pela DW. A representação em perspectiva da análise DW deste sinal é ilustrada na Figura 49-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno da DW é ilustrado na Figura 49-C, onde a linha vermelha indica a função f(t) = 0,2+0,03769t da onda *chirp*.

A análise pela DWM do sinal *chirp* é ilustrada em perspectiva na Figura 50-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno é ilustrado na Figura 50-C, onde a linha vermelha indica a função f(t) = 0.2+0.03769t da onda *chirp*.



Figura 48. Espectrograma de um sinal *chirp* dado pela A) série temporal cos(2πf₀t) para fo=0,2+0,03769t, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno da espectrograma onde a linha vermelha indica o valor instantâneo da freqüência do sinal *chirp*.



Figura 49. Distribuição de Wigner de um sinal *chirp* dado pela A) série temporal cos(2πf₀t) para fo=0,2+0,03769t, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno da DW onde a linha vermelha indica o valor instantâneo da freqüência do sinal *chirp*.



Figura 50. Distribuição de Wigner modificada de um sinal *chirp* dado pela A) série temporal cos(2πf₀t) para fo=0,2+0,03769t, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde a linha vermelha indica o valor instantâneo da freqüência do sinal *chirp*.

O sinal ilustrado na Figura 51-A consiste da soma de dois sinais *chirps*, um iniciando com 0,2 Hz evoluindo linearmente para 1,0 Hz em 34,5 segundos e outro com freqüência inicial de 1,5 Hz evoluindo para freqüência de 3,5 Hz no instante 34,5 segundos. O espectrograma deste sinal é ilustrada em perspectiva na Figura 51-parte B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno do espectrograma é ilustrado na Figura 51-parte C, onde as linhas vermelhas indicam as função $f_o(t)$ = 0,2+0.02319t e $f_1(t) = 1,5+0,05798t$ utilizadas na síntese das *chirps* que compõem o sinal analisado.

O mesmo sinal (Figura 52-parte A) é analisado pela DW. A representação em perspectiva da análise DW é ilustrada na Figura 52-parte B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno da DW é ilustrado na Figura 52-parte C, onde as linhas vermelhas indicam as função $f_0(t) = 0,2+0.02319t$ e $f_1(t) = 1,5+0,05798t$ das *chirps*.

A análise pela DWM da soma de duas *chirps* é ilustrado em perspectiva na Figura 53parte B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno da DWM é ilustrado na Figura 53-parte C, onde as linhas vermelhas indicam as função $f_0(t) = 0.2+0.02319t$ e $f_1(t) = 1.5+0.05798t$ das *chirps*.



Figura 51. Espectrograma da soma de dois sinais *chirps* dado por A) cos(2πf₀t) + cos(2πf₁t) para f₀ = 0,2+0.02319t e f₁ = 1,5+0,05798t, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno do espectrograma onde as linhas vermelhas indicam os valores instantâneos das freqüências dos sinais *chirps*.



Figura 52. Distribuição de Wigner da soma de dois sinais *chirps* dada por A) $\cos(2\pi f_0 t) + \cos(2\pi f_1 t)$ para $f_0 = 0,2+0.02319t$ e $f_1 = 1,5+0,05798t$, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde as linhas vermelhas indicam os valores instantâneos das freqüências dos sinais *chirps*.



Figura 53. Distribuição de Wigner modificada da soma de dois sinais chirps dada por A) $\cos(2\pi f_0 t) + \cos(2\pi f_1 t)$ para $f_0 = 0,2+0.02319t$ e $f_1 = 1,5+0,05798t$, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde as linhas vermelhas indicam os valores instantâneos das freqüências dos sinais *chirps*.

O terceiro sinal analisado consiste de 3 pulsos gaussianos com picos nas freqüências 2, 3 e 1,5 Hz com máximos nos instantes 8, 16 e 24 segundos, respectivamente. Este sinal é ilustrado na Figura 54-A. O espectrograma deste sinal é ilustrada em perspectiva na Figura 54-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno do espectrograma é ilustrado na Figura 54-C, onde as marcas '+' indicam as combinações tempo freqüência utilizadas na síntese dos pulsos gaussianos, (to,fo) = (8, 2), (16, 3) e (24, 1,5).

O mesmo sinal analisado é ilustrado na Figura 55-A, a sua DW é ilustrada em perspectiva na Figura 55-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno da DW é ilustrado na Figura 55-C, onde as marcas '+' indicam as combinações tempo freqüência utilizadas na síntese dos pulsos gaussianos, (to,fo) = (8, 2), (16, 3) e (24, 1,5).

O mesmo sinal analisado é ilustrado na Figura 56-A, a sua DWM é ilustrada em perspectiva na Figura 56-B com as marginais no tempo e em freqüência rebatidas ao fundo em f = 0 Hz e t = 35 s, respectivamente. O mapa de contorno da DWM é ilustrado na Figura 56-C, onde as marcas '+' indicam as combinações tempo freqüência utilizadas na síntese dos pulsos gaussianos, (to,fo) = (8, 2), (16, 3) e (24, 1, 5).



Figura 54. Espectrograma da A) soma de 3 pulsos gaussianos $e^{-2(t-to)}sin(2\pi f_0 t)$ onde $t_0 = 8$, 16 e 24 segundos e $f_0 = 2$, 3 e 1 Hz respectivamente, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde os marcadores '+' indicam os valores utilizados na síntese do sinal.



Figura 55. Distribuição de Wigner da A) soma de 3 pulsos gaussianos $e^{-2(t-to)}sin(2\pi f_0 t)$ onde $t_0 = 8$, 16 e 24 segundos e $f_0 = 2$, 3 e 1 Hz respectivamente, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde os marcadores '+' indicam os valores utilizados na síntese do sinal.



Figura 56. Distribuição de Wigner Modificada da A) soma de 3 pulsos gaussianos e^{-2(t-to)}sin(2πf₀t) onde t₀ =8, 16 e 24 segundos e f₀ = 2, 3 e 1 Hz respectivamente, B) gráfico em perspectiva ilustrando as marginais no tempo (envelope) e na freqüência (densidade espectral de potência) e C) mapa de contorno onde os marcadores '+' indicam os valores utilizados na síntese do sinal.

4.6.2 Erro na Localização Tempo-Freqüência

Para estimar o erro do espectrograma utilizamos uma varredura no plano tempofreqüência para gerar pulsos gaussianos (PG) combinando instantes conhecidos, t_o, entre 0 e 34 segundos com incremento de 0,5 segundos e freqüências conhecidas, f_o, entre 0,2 e 7,4 Hz com incremento de 0,2 Hz. Foi calculado o espectrograma para cada PG e o erro no tempo foi calculado pelas diferenças entre t_o e os instantes dos máximos do espectrogramas dos PGs. O erro no tempo é ilustrado na Figura 57-C. O erro em freqüência foi calculado pela diferença entre f_o e a freqüência do máximo do espectrograma de cada PG. O erro em freqüência é ilustrado na Figura 57-B. O erro tempo-freqüência foi calculado pelas distâncias definidas pelas combinações dos erros no tempo e em freqüência e é calculado por $(\text{erro}(t_o)^2 + \text{erro}(f_o)^2)^{1/2}$. O erro tempofreqüência, $\text{erro}(t_o, f_o)_{\text{STFT}}$, é ilustrado na Figura 57-A.

De forma similar, para estimar o erro da DW foram gerados PG nos instantes t_o, f_o como especificados anteriormente. O erro no tempo para a DW é ilustrado na Figura 58-C e foi calculado pela diferença entre to e o instante do máximo da DW para cada PG. O erro em freqüência para a DW é ilustrado na Figura 58-B e foi calculado pela diferença entre f_o e a freqüência do máximo da DW de cada PG. O erro tempo-freqüência, $erro(t_o, f_o)_{DW}$, foi calculado por $(erro(t_o)^2 + erro(f_o)^2)^{1/2}$ e é ilustrado na Figura 58-A.

Para estimar o erro da DWM foi utilizado o mesmo procedimento descrito anteriormente. O erro no tempo é ilustrado na Figura 59-C e foi calculado pela diferença entre to e o instante do máximo da DWM de cada PG. O erro em freqüência é ilustrado na Figura 59-B e foi calculado pela diferença entre f_o e a freqüência do máximo da DWM de cada PG. O erro tempo-freqüência, $erro(t_o, f_o)_{DWM}$, foi calculado por $(erro(t_o)^2 + erro(f_o)^2)^{1/2}$ e é ilustrado na Figura 59-A.



Figura 57. Erro do espectrograma. A) O erro(t_o)_{STFT}, B) erro em freqüência, erro(f_o) e C) erro no tempo, erro(t_o)



Figura 58. Erro da DW. A) O erro(t_o)_{DW}, B) erro em freqüência, erro(f_o) e C) erro no tempo, erro(t_o)


Figura 59. Erro da DWM. A) O erro(t_o)_{DWM}, B) erro em freqüência, erro(f_o) e C) erro no tempo, erro(t_o)

4.6.3 Análise Tempo-Freqüência da PAS, PAD e do IP

O aumento da PAS durante o transitório de fenilefrina (FE) e os efeitos sobre as regiões de AF e MF são apresentados a seguir (Figura 60 e Figura 61, respectivamente). Na parte superior de cada figura é apresentada a série temporal obtida com eixo Y à esquerda e esta mesma série após filtragem em AF (0,8 < fc < 3 Hz) e MF (0,1 < Fc < 0,8 Hz) com eixo Y à direita. Os mapas de contorno resultantes das análises espectrograma, DW e DWM são apresentados nas figuras nesta ordem de cima para baixo. A componente rítmica em AF da PAS é facilmente identificada nos mapas de contorno obtidos pelos três métodos tempo-freqüência no transitório por FE. A visualização da componente de AF analisada pela DW é prejudicada pela presença de termos cruzados. A componente rítmica da PAS na faixa de MF não é claramente identificada no transitório FE e está localizada no limite inferior da faixa MF estudada.

A queda da PAS durante transitório de nitroprussiato de sódio (NI) e os efeitos sobre as regiões de AF e MF são apresentados a seguir (Figura 62 e Figura 63, respectivamente). Na parte superior de cada figura é apresentada a série temporal obtida com eixo Y à esquerda e esta mesma série após filtragem em AF (0,8 < fc < 3 Hz) e MF (0,1 < Fc < 0,8 Hz) com eixo Y à direita. Os mapas de contorno resultantes das análises pelos espectrograma, DW e DWM são apresentados nesta seqüência de cima para baixo. A componente rítmica em AF na PAS é claramente identificável durante o transitório NI. A visualização da componente de AF analisada pela DW é prejudicada pela presença de termos cruzados. A componente rítmica em MF no transitório NI é parcialmente identificável e apresenta um pico em 8 segundos identificado pelo espectrograma e em 10 segundos pela DW e DWM.



Figura 60. Análise tempo-freqüência da PAS na faixa de AF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 61. Análise tempo-freqüência da PAS na faixa de MF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e 0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 62. Análise tempo-freqüência da PAS na faixa de AF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 63. Análise tempo-freqüência da PAS na faixa de MF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e 0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.

O aumento da PAD durante transitório de FE e os efeitos sobre as regiões de AF e MF são apresentados a seguir (Figura 64 e Figura 65, respectivamente). Na parte superior de cada figura é apresentada a série temporal obtida com eixo Y à esquerda e esta mesma série após filtragem em AF (0,8 < fc < 3 Hz) e MF (0,1 < Fc < 0,8 Hz) com eixo Y à direita. Os mapas de contorno resultantes das análises pelo espectrograma, DW e DWM são apresentados nesta seqüência de cima para baixo. A componente rítmica em AF observada na PAD é facilmente identificável durante o transitório de FE. A componente rítmica da PAD na faixa de MF não é clara no transitório de FE e está localizada no limite inferior da freqüência da análise pelo espectrograma, não sendo identificável pelas análise DW e DWM.

Os mapas de contorno resultantes das análises pelo espectrograma, DW e DWM durante transitório de NI sobre a PAD em AF e MF são apresentados a seguir (Figura 66 e Figura 67, respectivamente). A componente rítmica em AF observada na PAD é bastante clara durante transitório de NI. Os termos cruzados da DW dificultam a observação da componente rítmica em AF na PAD. A componente rítmica em MF na PAD no transitório de NI é parcialmente identificável e apresenta um pico em 8 segundos identificado pelo espectrograma e em 10 segundos pela DW e DWM.



Figura 64. Análise tempo-freqüência da PAD na faixa de AF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 65. Análise tempo-freqüência da PAS na faixa de MF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e 0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 66. Análise tempo-freqüência da PAD na faixa de AF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 67. Análise tempo-freqüência da PAD na faixa de MF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.

O aumento do IP durante transitório de FE e os efeitos sobre as regiões de AF e MF são apresentados a seguir (Figura 68 e Figura 69, respectivamente). Na parte superior de cada figura é apresentada a série temporal obtida com eixo Y à esquerda e esta mesma série após filtragem em AF (0,8 < fc < 3 Hz) e MF (0,1 < Fc < 0,8 Hz) com eixo Y à direita. Os mapas de contorno resultantes das análises pelos espectrograma, DW e DWM são apresentados nas figuras nesta ordem de cima para baixo. A componente rítmica em AF observada no IP é bastante clara durante o transitório FE. A visualização da componente de AF do IP analisada pela DW é prejudicada pelos termos cruzados. Neste animal o espectrograma e a DWM mostram um aumento da amplitude da componente de AF com pico entre 27 e 30 segundos durante FE, respectivamente.

A queda do IP durante NI e os efeitos sobre as regiões de AF e MF são apresentados a seguir (Figura 70 e Figura 71, respectivamente). Na parte superior de cada figura é apresentada a série temporal obtida com eixo Y à esquerda e esta mesma série após filtragem em AF (0,8 < fc < 3 Hz) e MF (0,1 < Fc < 0,8 Hz) com eixo Y à direita. Os mapas de contorno resultantes das análises pelo espectrograma, DW e DWM são apresentados nesta ordem de cima para baixo. A componente rítmica em AF observada no IP é bastante clara durante o transitório NI. A visualização da componente de AF do IP analisada pela DW é muito prejudicada pelos termos cruzados. Neste animal um aumento da amplitude da componente de AF do IP durante NI pode ser observado após o instante 10 segundos tanto pelo espectrograma como pela DWM. Os



Figura 68. Análise tempo-freqüência do IP na faixa de AF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 69. Análise tempo-freqüência do IP na faixa de MF durante administração de FE com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,1 e 0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 70. Análise tempo-freqüência do IP na faixa de AF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de AF entre 0,8 e 3,0 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.



Figura 71. Análise tempo-freqüência do IP na faixa de MF durante administração de NI com início em 10 segundos. Na parte superior da figura são ilustradas a série temporal sistólica (em preto) e a série temporal sistólica após filtragem na faixa de MF entre 0,1 e 0,8 Hz (em vermelho). As análises obtidas pelo espectrograma (STFT), Wigner (DW) e Wigner modificada (DWM) são ilustradas pelos mapas de contornos.

5 Discussão

5.1 Pré-Processamento dos Sinais: Editor de Sinais

O editor de sinais desenvolvido neste trabalho possibilitou a preparação dos sinais de PAS, PAD, IP, ANSi, ANSp e RESP e envolveu rotinas para determinação automática de máximos e mínimos, inserção e remoção manual de eventos, interpolação parabólica e reamostragens. A editoração de outros sinais (ECG e a atividade do nervo depressor aórtico) também foi avaliada (resultados não apresentados) e confirma a generalidade dos algoritmos adotados no editor. O algoritmo de re-amostragem (interpolação e decimação) foi desenvolvido de forma a efetuar processamento por segmentos, permitindo a regularização da periodicidade das séries temporais com duração superior a 90 minutos. Esta abordagem preenche uma lacuna metodológica importante no processamento de sinais, sendo mais eficiente na preparação de séries longas que os algoritmos que armazenam toda série em memória. As bibliotecas do Matlab[®] não dispõem de um editor de sinais com interface gráfica e nem suportam

processamento por segmentos. Comercialmente existem editores que permitem extrair informações como máximos e mínimos, integrar e derivar sinais, realizar cálculos aritméticos e Waveform BrowserTM-Dataq¹; AcqKnowledge[™]-Biopac², realizar filtragens (WinDag Labview[™]-National Instruments³). No entanto, estes editores não dispõem da versatilidade do editor apresentado neste trabalho, não fornecem um ambiente aberto, apresentam limitada possibilidade de configuração das análises e quase nenhuma possibilidade de extensão das ferramentas. Com os editores disponíveis as possibilidades na busca de informações contidas nos sinais podem estar sendo limitadas mais pelo alcance dos editores do que pelas limitações impostas pelo protocolo experimental. O desenvolvimento deste editor de sinais tendo como base o Matlab permite a constante atualização das funções existentes e a criação de novas funções adaptadas às necessidades de cada análise. O editor reúne recursos de interface como menus, teclas rápidas e caixas de diálogos. As especificações finais que resultam das características integradas ao editor são: ambiente amigável para preparação dos sinais, diminui o número de interações manuais entre usuário e sinal, permite a padronização do processo de preparação dos sinais e é expansível. Assim, todo o processo para detecção de máximos e mínimos, integração de sinais, re-amostragem por segmentos de dados e a apresentação dos sinais de forma gráfica torna-se interativo e semi-automatizado. Estas características fazem do procedimento exaustivo de editoração dos sinais um processo simples, não exige o conhecimento prévio da linguagem Matlab[®] e requer do usuário apenas o conhecimento mínimo das facilidades encontradas em programas com janelas. O impacto do processamento de grande quantidade de dados é

¹ Marca registrada por Dataq Instruments, Inc., Akron, OH, USA, (www.dataq.com)

² Marca registrada por Biopac System, Inc., Santa Barbara, CA, USA, (www.biopac.com)

³ Marca registrada por National Instruments Corporation, Austin, TX, USA, (www.ni.com)

minimizado e ordenado. Grande parte do tempo consumido na análise dos sinais durante a editoração, mais especificamente, na fase de verificação e validação das séries temporais é diminuído pelo uso da interface gráfica que permite visualização e gerenciamento das séries temporais analisadas. O resultado final do processo de editoração é a obtenção de séries extensivamente verificadas e padronizadas para as análises posteriores.

5.2 Algoritmos de Análise

O escopo da análise no domínio da freqüência é bastante amplo e permite, além das análises focalizadas neste trabalho, a análise espectral e a análise de coerência, a abordagem de outras informações como a da função de transferência, o diagrama de fase, distribuição de Wigner cruzada, entre outras. Estas análises são potenciais ferramentas para estender o entendimento sobre o sistema em estudo e não foram incluídos no presente trabalho. Os sinais da forma como foram preparados não restringem a realização destas análises e poderão ser exploradas em trabalhos subseqüentes ficando como sugestão para estudos futuros.

5.2.1 A análise espectral de banda larga

O método de banda larga proposto por Di Rienzo, por não utilizar segmentação da série temporal, é o que permite extrair por TRF a mais ampla faixa de informação contida na variabilidade de um sinal. Este método diminui a variabilidade da estimativa espectral de forma progressiva, das componentes de baixa para as de alta freqüência. Deste modo, as informações contidas nas freqüências mais baixas são preservadas enquanto as informações nas altas freqüências, normalmente prejudicadas pela grande variabilidade espectral, são ressaltadas por uma filtragem mais acentuada. O método de banda larga estende a interpretação do perfil espectral para as componentes lentas e independe de faixas pré estabelecidas para a interpretação

do espectro. Pelo método tradicional a potência espectral é calculada e interpretada por faixas de freqüências. A existência de mecanismos de regulação que agem simultaneamente em mais de uma faixa de freqüência e da existência de diferentes mecanismos que agem sobre uma mesma faixa espectral favorecem a utilização do método de banda larga (Japundizic e col., 1990; Parati e col., 1992; Daffonchio e col., 1995; Persson, 1997). Um dos principais focos da análise espectral é demonstrar a relação entre flutuações do IP e da PA com mecanismos de regulação neural, ou ainda, definir possíveis marcadores da atividade simpática e parassimpática. Por outro lado os mecanismos que relacionam os valores médios da ANS, PA e IP (componente tônica) com as oscilações (componente fásica) destes mesmos sinais são ainda desconhecidos. Interpretar quantitativamente os resultados obtidos através da análise espectral com a atividade simpática ou parassimpática (tônus ou modulação) deve ser ainda testado em modelos experimentais que permitam consubstanciar tal associação.

5.2.2 A análise de coerência de banda larga

A análise de coerência de banda larga (ACBL) permite estimar o acoplamento linear entre duas variáveis em função da freqüência. Desta forma, quando existe uma relação linear entre duas variáveis e ruído insignificante, a coerência será próxima a um. A existência de ruídos ou uma relação não linear diminui a coerência até zero. Pelo método de banda larga a variabilidade da estimativa da coerência é diminuída de forma progressiva das componentes de baixa para as componentes de alta freqüência. Uma característica importante do método de ACBL é a sua associação com a análise estatística. Esta abordagem permite comparar cada componente da coerência de forma individualizada, possibilitando a interpretação da coerência componentes em freqüência que são acopladas e desacopladas em conseqüência do protocolo experimental.

5.2.3 Coeficientes da filtragem de banda larga

A obtenção dos coeficientes de filtragem de banda larga "a" e "b" requer, além do conhecimento do método de banda larga, certa experiência para obtenção da melhor combinação entre a resolução e a redução da variabilidade espectral. O significado físico destes coeficientes pode ser traduzido pela resolução em freqüência aplicando-se a eq. 13. Desta forma define-se, a partir de dois coeficientes empíricos que não apresentam um significado físico, uma função que representa a resolução em freqüência. Para facilitar a obtenção destes coeficientes, essenciais na análise de banda larga, invertemos a ordem normalmente adotada para determinação dos mesmos. Assim, partimos da resolução em freqüência para determinarmos os coeficientes de filtragem "a" e "b". Esta abordagem parte de um parâmetro com significado físico claro e resulta na obtenção matemática dos coeficientes de filtragem. Os coeficientes de filtragem são diferentes para cada espécie. No rato os coeficientes foram a = 48,1859 e b = 0,4581, e para a análise de coerência a = 30,4912 e b = 0,5357. No gato, os coeficientes adotados em descrição anterior foram a = 65,0 e b = 0,44 enquanto para a análise de coerência de banda larga foram a = 31,2 e b = 0,47 [Di Rienzo e col, 1996].

5.3 Efeitos da DSAa sobre a PAS, PAD, IP, ANS e Resp no Rato.

Pressão Arterial – Após a DSAa houve aumento de 28% na PAS e 41% na PAD. O aumento na PA foi acompanhado de aumento de variabilidade sendo 138% na PAS e 61% na PAD. Estas duas características, aumento da PA e da variabilidade da PA, são esperadas na fase aguda da DSA (Franchini e Krieger, 1994; Irigoyen e col., 1995). Na fase crônica da DSA (8 dias pós

DSA), tem-se observado uma normalização dos níveis de pressão permanecendo, no entanto, uma maior variabilidade similar à encontrada da fase aguda (Franchini e Krieger, 1994; Irigoyen e col., 1995). Evidências hemodinâmicas (Krieger, 1967; Zhang e col., 1995), alteração da atividade simpática (Irigoyen e col., 1995) e alterações bioquímicas (Saavedra e Krieger, 1987) indicam uma hiperatividade simpática levando a um aumento da PA na fase aguda da DSAa. Foi demonstrado por Franchini que a eliminação dos pressoreceptores resulta em hipertensão enquanto a eliminação dos quimioceptores (Franchini e Krieger, 1992) resulta em queda (~10 mmHg) da pressão.

O aumento da variabilidade da PA no grupo DSAa sugere uma predominância das componentes de potência de maior intensidade se comparado com grupo controle. De fato, a análise espectral mostra que, no rato, os mecanismos modificados pela DSAa agem como um filtro ou de forma contra-oscilatória na PAS (Figura 27). Isto também ocorre na PAD (Figura 28), havendo no entanto, uma inversão desta tendência entre 0,2 e 0,5 Hz. A presença da modulação respiratória tanto na PAS como na PAD, após a DSAa, sugere que a integridade da malha reflexa não é necessária para manutenção desta flutuação rítmica. Isto favorece a hipótese mecânica que considera a modulação da pressão intra-torácica sobre o retorno venoso (Julien e col., 1995) como responsável por esta componente rítmica da PA ou ainda a hipótese central da influência do centro respiratório sobre o centro vasomotor. A componente de AF observada na PA no grupo DSAa é maior que a observada no grupo controle e o pico espectral em AF está deslocado para a esquerda. A eliminação dos quimioceptores inibe o centro respiratório e aumenta a densidade de potência espectral em AF conforme ilustra a Figura 5 (Irigoyen e col., 1991), o que explica o deslocamento do pico respiratório para a esquerda e o aumento da densidade de potência espectral em AF no grupo DSAa. Pitzalis observou uma relação inversa entre a freqüência respiratória e densidade de potência espectral em AF, podendo ser uma

explicação alternativa para o aumento da densidade de potência espectral da PA em AF no DSAa (Pitzalis e col., 1998). Observamos que a flutuação rítmica na região de Mayer (0,1 a 0,8 Hz) é claramente observada no animal controle e menos nítida na DSAa. Isto ocorre tanto para a PAS como para a PAD. As componentes espectrais da PAS não são modificadas na faixa central de MF entre 0,2 e 0,7 Hz enquanto as componentes do espectro da PAD entre 0,2 e 0,7 Hz invertem a tendência de maior densidade de potência espectral no DSAa. Nas componentes espectrais menores que 0,02 Hz não foi observada nenhuma tendência de saturação ou achatamento do comportamento 1/f^{α} no espectro da PA. Os resultados mostram que os pressoreceptores agem em uma ampla faixa de freqüência atenuando a variabilidade da PA, desde componentes rápidas entre segundos a minutos, como também nas componentes mais lentas entre minutos e horas concordando com dados publicados anteriormente no gato (Di Rienzo e col., 1996).

Intervalo de pulso - O IP observado na DSAa é 12% menor que valores basais e é acompanhado de redução de 54% na variabilidade. A taquicardia está relacionada com a hiperatividade simpática existente na fase aguda da DSA. O desvio padrão do IP indica uma prevalência de componentes espectrais com menor densidade de potência espectral. De fato, a DSAa diminui a variabilidade espectral do IP (Figura 29) em toda faixa de freqüência estudada. Isto mostra a importância da integridade da malha reflexa para a regulação da ritmicidade cardíaca e sugere que a alta variabilidade do IP é extensamente solicitada reflexamente para manter a regulação da PA. O pico de AF no IP é deslocado para a esquerda e a densidade de potência espectral nesta faixa é menor no grupo DSAa. A componente em AF no IP pode ser observada nos dois grupos experimentais, o que mostra a existência de mecanismos independentes da malha reflexa na manutenção desta componente rítmica. Neste trabalho não foi possível observar uma

componente rítmica em MF no IP ou mesmo em freqüências mais baixas. Este fato é característico da análise espectral do IP obtido em registros de longa duração e já foi observado no homem (Saul e col., 1988), no gato (Di Rienzo e col., 1996) e no rato (Ushizima e col., 1997).

Atividade nervosa simpática renal - A atividade simpática renal estimada pela atividade simpática integrada (ANSi) apresentou aumento de 8% no grupo DSAa e de 13% quando estimada pela atividade simpática média (ANSp). As variabilidades da ANSi e da ANSp não foram modificadas pela DSAa e concordam com dados previamente publicados (Irigoyen e col., 1995, Cestari e cols., 1996). O histograma de descarga da ANSi mostra um deslocamento do pico do histograma da atividade nervosa para a direita indicando uma modificação do padrão de descargas nervosas e a prevalência de ciclos com maior atividade concordando com dados previamente publicados (Irigoven e col., 1995). A hiperatividade simpática observada no presente trabalho foi menor que a encontrada por Irigoyen, possivelmente pelo diferente tempo de registro (3 vs. 80 minutos no trabalho atual). A análise espectral da ANSi (Figura 30) e ANSp (Figura 31) no grupo controle apresentou duas componentes rítmicas: uma em AF (1,8 Hz) e outra em MF (0,4 Hz). No grupo DSAa a componente rítmica em AF manteve-se inalterada enquanto a componente em MF, embora mantida a potência espectral em níveis equivalentes, deixou de apresentar a ritmicidade observada no grupo controle. Isto sugere que a integridade da malha baro e quimiorreflexa é importante para a manutenção desta componente rítmica. Preiss e Polosa, utilizando um aparato específico para controlar as flutuações da PA, mostraram a persistência das flutuações de Mayer na ANS (Preiss e Polosa, 1974). Isto sugere que a hipótese central das flutuações de Mayer não pode ser descartada e pode explicar a manutenção da potência espectral em 0,4 Hz mesmo após a DSAa. As componentes de BF e MBF apresentam uma tendência a aumento significativo apenas em alguns segmentos nestas faixas. Os resultados obtidos não permitem identificar as contribuições específicas do sistema nervoso simpático e parassimpático na regulação da PA e do IP. A ferramenta desenvolvida permitirá a realização de outros estudos, por exemplo, utilizando bloqueios farmacológicos no rato DSA. Isto possibilitará individualizar a ação da atividade simpática e parassimpática sobre a regulação das variabilidades da PA e do IP.

Existem diferentes métodos para estimar a atividade nervosa e a análise das componentes espectrais da PA e do IP é proposto como um deles. No entanto, a validade de qualquer estimador deve ser cuidadosamente verificada e no caso da atividade nervosa não existe um padrão específico. Métodos diretos (eletroneurograma, microneurografia) e indiretos (captura de noradrenalina marcada) são utilizados para se estimar a atividade nervosa simpática (Esler e col., 1984; Kingwell e col., 1995) mas todos apresentam restrições que devem ser consideradas (Lundin e col., 1984; Hoop e col., 1986; Irigoyen e col., 1988).

Freqüência respiratória - A DSAa provoca uma inibição do centro respiratório o que resulta em uma freqüência respiratória 22% menor quando estimada pelo intervalo entre inspirações consecutivas (Figura 25) e 20% menor quando estimado pelo pico em AF do espectro da RESP (Figura 32). A desnervação seletiva mostra que a eliminação dos quimioceptores é responsável pela inibição do centro respiratório o que resulta em redução da freqüência respiratória (Martin-Body e col., 1986; Franchini e Krieger, 1992; Franchini e col., 1994).

5.4 Efeitos da DSAa Sobre o Acoplamento Linear entre PAS, PAD, IP, ANS e Resp.

Nos ratos estudados o acoplamento foi, em diversos segmentos, inferior a $|\mathbf{k}|^2 = 0,5$, valor tradicionalmente adotado como limiar de significância em sinais biológicos. No entanto, o erro da coerência estimada pelo método de banda larga na análise de segmentos de ruído branco

mostra valores inferiores a $|\mathbf{k}|^2 = 0,15$ para freqüência $f_k = 0,0002$ Hz e inferiores a $|\mathbf{k}|^2 = 0,02$ na maior freqüência estudada $f_k = 3$ Hz. Embora estes valores sejam diferentes do valor nulo idealmente esperado para a análise de ruído branco, eles demonstram a possível utilização de limiares de significância inferiores a 0.5 para a interpretação dos resultados da coerência. O acoplamento linear em MF (pico em 0,4 Hz) entre PAS e ANSi (Figura 35), PAS e ANSp (Figura 36), PAD e ANSi (Figura 39) e PAD e ANSp (Figura 40) foi 40 a 75% menor no grupo DSAa comparado ao grupo controle. O acoplamento linear entre IP e ANSi (Figura 42) e IP e ANSp (Figura 43) foi consistentemente menor que $|\mathbf{k}|^2 = 0.35$ e relativamente menor que a coerência observada entre PA e ANS. Este comportamento também foi observado por Brown (Brown e col., 1994) que sugere que no rato as flutuações da PA em 0,4 Hz refletem melhor a modulação simpática do que as flutuações do IP nesta freqüência. Uma observação importante é a diminuição do acoplamento entre PA e ANS em 0,4 Hz após a DSAa. Isto mostra que o acoplamento nesta freqüência é parcialmente dependente da malha reflexa pressoreceptora e quimioceptora. O acoplamento residual na DSA é provavelmente estabelecido pela ANS controlando a PA uma vez que a modulação da PA sobre a ANS está interrompida no DSA.

O acoplamento IP x RESP em AF aumenta com a DSAa. Isto mostra que os pressoreceptores agem dasacoplando a modulação respiratória imposta à FC, diminuindo o efeito da ação mecânica normalmente responsável pela flutuação do IP em AF (Figura 44). Após a DSAa o acoplamento linear entre PAS e PAD aumenta sugerindo que a malha presso e quimiorreflexa agem desacoplando PAS e PAD. O acoplamento linear em 0,1 Hz entre PAS e IP e entre PAD e IP é menor no grupo DSAa que no grupo controle sugerindo que esta componente em 0,1 Hz seja um possível marcador de sensibilidade dos pressoreceptores como também é sugerido por Robbe (Robbe e col., 1987). A anestesia com pentobarbital não modifica o acoplamento entre PA e ANS em 0,4 Hz mas diminui a densidade de potência espectral da PA, da ANS e da FC

(Brown e col., 1994). Neste trabalho os sinais foram coletados em animais acordados mas a influência da anestesia não deve ser desconsiderada em possíveis diferenças encontradas na potência espectral embora as coerências se mantenham preservadas.

5.5 Análises Tempo-Freqüência

As análises tempo-freqüência estudadas neste trabalho foram caracterizadas pela análise de sinais sintetizados. Esta análise permitiu demonstrar a potencialidade do espectrograma, da DW e da DWM na caracterização da evolução espectral de sinais *chirps* e pulsos gaussianos. A análise de sinais do tipo chirp mostra que o espectrograma (Figura 48) apresenta um desempenho inferior que a DW e DWM quando a informação desejada é a freqüência do sinal original (Figura 49 e Figura 50). Embora as condições marginais (a densidade de potência espectral e o envelope) no tempo e em freqüência sejam satisfeitas (Figura 49) a DW do sinal chirp apresenta valores instantâneos positivos e negativos que dificultam a interpretação intuitiva de uma distribuição tempo-freqüência (Cohen, 1989). A DWM, na análise do sinal chirp, associa o melhor do espectrograma e da DW na estimativa da freqüência central instantânea e na representação da amplitude da distribuição tempo-freqüência. A análise de sinais compostos pela soma de *chirps* ou soma de pulsos gaussianos mostra outra limitação da DW quando comparada com o STFT. A presença de termos cruzados, componentes que aparecem entre os termos principais, dificulta a interpretação da DW, muitas vezes impossibilitando a visualização dos termos principais (Figura 52 e Figura 55). Para melhor entendimento da DW, faz-se necessário diminuir a influência dos termos cruzados que pode ser conseguido utilizando-se filtragem da distribuição tempo-freqüência ou utilizando janelas bidimensionais (kernels). Neste trabalho utilizamos a filtragem da DW que pode ser ajustada definindo-se o comprimento da janela utilizada na média móvel aplicada na distribuição fornecida pela DW em freqüência e no tempo.

A DWM representa melhor a amplitude da distribuição (Figura 50) quando comparada com a DW, reduzindo os termos cruzados na soma de chirps (Figura 53) e facilitando a interpretação da soma de pulsos gaussianos (Figura 56). A caracterização do erro utilizando pulsos gaussianos fazendo uma varredura no plano tempo-freqüência mostra que o erro da STFT (512 pontos, 128, 0,9 sobreposição) apresenta maior dependência no tempo (Figura 57-C) do que em freqüência (Figura 57-B). Este erro é menor quando a DW (Figura 58) ou a DWM (Figura 59) é utilizada. A utilização de pulsos gaussianos não evidencia o erro em freqüência que se observa na análise de chirps (Figura 48 e Figura 51) o que indica uma limitação da utilização de pulsos gaussianos na estimativa do erro para localização instantânea tempo e freqüência das componentes de um sinal. Atualmente é possível encontrar uma biblioteca para análise tempo-freqüência implementada por Swami (Swami e col., 1998) e comercializada pela Mathworks. Comparando de forma qualitativa os resultados da análise DW dos sinais sintetizados por Swami e a análise feita com o algoritmo DW descrito por Costa (Costa, 1989) e adotado neste trabalho, observamos respostas similares. Não foi realizado um teste comparativo rigoroso, mas a diminuição dos termos cruzados observada para a DWM descrita neste trabalho e pela ATF utilizando kernel exponencial (Choi e Williams, 1989) apresentada por Swami é qualitativamente similar na análise de sinais sintetizados.

5.6 Análises Tempo-Freqüência na Análise de Sinais Biológicos

O amplo conhecimento já reunido para a aplicação da análise espectral no estudo do sistema cardiovascular não se repete para a análise tempo-freqüência. Esta vem sendo aplicada de forma exploratória e utiliza como base teórica a relevância fisiológica já estabelecida para a análise espectral. Os dados práticos para o entendimento da regulação da PA e do IP durante estímulos ainda são escassos mas são potencialmente importantes para a compreensão dos mecanismos

nervosos agindo durante um transitório. Apesar de preliminares, os resultados obtidos na aplicação das ATFs nas alterações produzidas por drogas vasoativas sobre a PAS, PAD e IP permitem mostrar que durante o transitório as componentes espectrais modificam-se extensivamente no tempo. Neste trabalho, analisamos apenas um transitório hipertensor e um hipotensor, o que não permite conclusão sobre a ação efetiva das drogas vasoativas. Para uma análise mais aprofundada será necessário estabelecer metodologia que permita reunir e comparar, quantitativamente, as informações extraídas pela ATF com informações obtidas por outros métodos.

6 Conclusão

O editor de sinais desenvolvido possibilitou a visualização das diversas etapas envolvidas na preparação de sinais, forneceu uma plataforma de trabalho aberta e extensível, e é suficientemente versátil para a pesquisa e o desenvolvimento de novas técnicas de processamento de sinais biológicos. O editor de sinais desenvolvido foi amplamente testado e permitiu a preparação de sete sinais registrados no rato durante 90 minutos a uma taxa de amostragem de 250 Hz (PAS, PAD, IP, ANSi, ANSp, RESP, FR, n=16 em dois grupos). Estas características ilustram o potencial do editor desenvolvido.

Desenvolvemos os algoritmos para análise no domínio da freqüência como funções para Matlab e apresentamos metodologia inédita para determinação dos coeficientes de filtragem utilizados no método de banda larga. Os algoritmos para análise tempo-freqüência também foram desenvolvidos para Matlab. Apresentamos a distribuição de Wigner modificada e mostramos a possibilidade de se atenuar a influência dos termos cruzados através da filtragem da distribuição de Wigner. Mostramos que a DWM melhora a apresentação da evolução espectral de sinais sintetizados.

Caracterizamos a variabilidade da pressão arterial, intervalo de pulso, atividade nervosa simpática renal e respiração no domínio do tempo e pela análise espectral em ratos acordados antes e após a DSA. Identificamos as modificações do espectro provocadas pela DSA. As análises no domínio da freqüência permitiram aprofundar o conhecimento sobre os efeitos da desnervação sinoaórtica sobre a PA, IP, ANS, e RESP. Confirmamos a presença de flutuações rítmicas em AF em todos os sinais estudados nos grupos controle e DSAa e na faixa de Mayer nos sinais de PAS, PAD, ANSi e ANSp. Observamos o desaparecimento da flutuação rítmica observada em MF após a DSAa tanto na PA como na ANS, embora não houvessem modificações significantes na potência espectral nesta faixa.

As ATFs aplicadas na análise de sinais obtidos durante o transitório por fenilefrina e nitroprussiato de sódio, embora preliminares, mostram amplas alterações no tempo das componentes espectrais da PAS, da PAD e do IP as quais não poderiam ser analisadas com as abordagens convencionais nos domínios tempo ou freqüência.

Os algoritmos desenvolvidos neste trabalho em ambiente Matlab representam uma ferramenta prática e de grande abrangência para aplicação à análise de sinais biológicos nos domínios do tempo, freqüência e tempo-freqüência. Espera-se que a aplicação deste método na pesquisa básica ou na investigação clínica possa fornecer novos índices ou marcadores dos mecanismos de regulação do sistema cardiovascular e que estes permitam identificar anormalidades em diagnósticos precoces.

124

Apêndices

Apêndice 1. Estimativa dos tempos de abertura e leitura de arquivos

Neste apêndice é mostrada uma comparação dos diferentes formatos de abertura e leitura de arquivos exportados do Windaq para o Matlab. Os sinais digitalizados pelo Windaq são armazenados no formato binário precedidos por um cabeçalho contendo configurações específicas do sistema Windaq/Playback. Estes sinais podem ser exportados em diferentes formatos para uso em editores de texto, planilhas e editores de sinais. De forma similar o Matlab dispõe de funções que permitem a leitura de dados em diversos formatos entre eles *ASCII*, planilha e binário. Cada formato apresenta um relação diferente de conversão numérica e número de dado/byte que definem por conseqüente o tempo de acesso dos dados. O melhor método para gerenciamento dos dados é então definido pela relação de conversão dado/bytes e pela estimativa dos tempos relativos de abertura de um exemplo executado em computador compatível IBM-PC (Pentium 166MHz/16Mbyte de RAM). No WINDAQ foi aberto o arquivo sample.wdq do Windaq, marcado o início dos dados pressionando a tecla F4, definido compressão do sinal em valor unitário. Posicionar o cursor no final dos dados e exportar os arquivos (File/SaveAs) nos formatos *ASCii* (.asc), *SpreadSheet* (. txt) e binário sem cabeçalho (.bin).

No Matlab os arquivos em formato *SpreadSheet* e *ASCii* podem ser carregados diretamente utilizando a função load na linha de comando enquanto o arquivo no formato binário, pelas funções da biblioteca "iofun" (fopen, fseek, fread). Os dados do arquivo binário são representados em 2 bytes e os dados *Spreadsheet* e *ASCii* em 8 bytes. Os tempos relativos para abertura dos arquivos referenciados ao tempo de abertura do arquivo binário, definido unitário, foram 2,9 vezes maior para arquivos *Spreadsheet* e 2,6 para arquivo do tipo *ASCii*. É interessante

notar que os dados exportados nos formatos *Spreadsheet* e *ASCii* utilizam a calibração padrão do Windaq (Volts). Isto significa que os dados binários são convertidos já no primeiro transporte dos dados. O formato binário apresenta a melhor relação byte/dado e a melhor relação byte/tempo quando comparados com os formatos *Spreadsheet* e *ASCii*. A perda da calibração padrão Windaq no transporte binário tem pouca importância se considerada a possível calibração disponibilizada pelo editor de sinais apresentado neste trabalho e a recomendada redução de conversões entre o sinal digitalizado e o sinal extraído para análise. Os arredondamentos sucessivos por conversão devem ser minimizados sempre que possível. Especificamente para o sinal de pressão arterial é interessante notar que métodos de calibração que consideram mais de dois pontos permitem compensar os erros de leitura na coluna de mercúrio (pressão de referência) e ainda verificar a linearidade do transdutor.

Apêndice 2. Comparação qualitativa do intervalo de pulso estimado pela PA e pelo ECG.

A Figura AP2 ilustra a análise comparativa entre espectros do IP estimado pelo intervalo entre diástoles e pelo intervalo RR registrado simultaneamente.



Figura AP2. Comparação do IP estimado pelo intervalo RR do ECG e pelo intervalo entre diástoles consecutivas em um rato. A parte superior esquerda da figura traz a série temporal (n = 5840 batimentos cardíacos) estimada pelo intervalo RR do ECG (IP_{RR} =215,25 ms e desvio padrão = 5,48 ms) e a parte inferior esquerda o intervalo entre diástoles consecutivas da PA (IP_{DD} = 215,27 ms e desvio padrão = 5,57 ms). Na parte direita da figura os respectivos espectros (NTRF=512 pontos, janela hanning, sobreposição 50%, freqüência de amostragem 13,9 Hz).
Apêndice 3. Coeficientes de alisamento da análise de banda larga

Exemplo: Calcular "a" e "b" para fs = 13,889 Hz, I = 65536, $f_o = 1$ Hz e $B_e(f_o) = 0,010$ Hz Substituindo em (VII)

$$b = \frac{\log\left(\frac{0,010 \times 2^{16}}{13,89}\right)}{\log\left(\frac{1 \times 2^{16}}{13,889}\right)} = 0,4581$$

substituindo em (III) temos

$$a = \left(\frac{2^{16}}{13,889}\right)^{0,4581} = 48,1859$$

Variantes desta dedução podem utilizar comprimento da janela na primeira componente de interesse maior que 1. A única ressalva a ser observada é que primeira componente espectral, $P_s(f_k)$, será dada para $f_k=((L-1)/2)f/I$.

Apêndice 4. Dados individuais da estatística descritiva

| CTRL | Pressão arterial (mmHg) | | | IP (ms) | | Ativ. Simpática (%) | | | | FR (Hz) | | |
|-------|-------------------------|-------|--------|---------|--------|---------------------|-------|--------|-------|---------|-------|--------|
| | PAS | DP | PAD | DP | IP | DP | ANSi | DP | ANSp | DP | FR | DP |
| 1 | 134,4 | 5,4 | 100,2 | 6,2 | 144,5 | 10,9 | 42,9 | 128,7 | 40,6 | 49,9 | 1,64 | ,59 |
| 2 | 129,0 | 11,4 | 101,9 | 12,2 | 116,9 | 5,8 | 41,9 | 91,3 | 40,3 | 32,7 | 1,75 | ,42 |
| 3 | 101,0 | 4,3 | 79,5 | 4,8 | 132,2 | 3,4 | 45,2 | 67,8 | 44,4 | 44,0 | 1,53 | ,25 |
| 4 | 135,4 | 6,1 | 100,4 | 8,3 | 165,3 | 12,0 | 49,5 | 75,3 | 39,0 | 53,2 | 1,85 | ,50 |
| 5 | 118,2 | 4,6 | 84,3 | 4,8 | 159,1 | 10,1 | 44,8 | 39,5 | 44,8 | 30,6 | 2,51 | ,53 |
| 6 | 96,8 | 5,8 | 70,7 | 6,2 | 124,1 | 3,7 | 49,0 | 169,1 | 47,4 | 29,7 | 1,95 | ,30 |
| 7 | 127,5 | 6,7 | 100,6 | 6,7 | 135,5 | 7,9 | 45,0 | 171.6 | 39,8 | 37,8 | 1,98 | ,67 |
| 8 | 121 | 5,9 | 90,0 | 5,9 | 169,9 | 12,0 | 43,9 | 35,8 | 43,7 | 35,0 | 1,68 | ,62 |
| Média | 120,4 | 6,3 | 90,9 | 6,9 | 143,4 | 8,2 | 45,3 | 97,4 | 42,5 | 39,1 | 1,86 | 0,49 |
| (dp) | (14,5) | (2,2) | (11,8) | (2,4) | (19,6) | (3,1) | (2,7) | (53,7) | (3,0) | (9,0) | (0,3) | (0,15) |

Tabela AP4a. Ratos intactos acordados controle - CTRL e desnervados sinoaórtico na fase aguda - DSAa .Os dados são apresentados pela média(desvio padrão da média) individuais. PAS, PAD, IP , ANSi e ANSp. Significância, * p < 0,05, ** p < 0,01 e *** p<0,001

| DSAa | Pressão arterial (mmHg) | | | | IP (ms) | | 1 | Ativ. Sim | FR(Hz) | | | |
|-------|-------------------------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-----------|--------|--------|--------|--------|
| | PAS | DP | PAD | DP | IP | DP | ANSi | DP | ANSp | DP | FR | DP |
| 1 | 153,3 | 18,6 | 128,6 | 12,3 | 129,4 | 4,2 | 49,7 | 50,6 | 49,3 | 29,7 | 1,63 | 0,29 |
| 2 | 154,0 | 13,9 | 123,5 | 10,2 | 147,4 | 4,7 | 55,0 | 80,6 | 54,4 | 25,8 | 1,82 | 0,31 |
| 3 | 170,8 | 19,8 | 142,1 | 12,9 | 122,5 | 5,5 | 50,6 | 98,6 | 49,6 | 30,3 | 1,45 | 0,32 |
| 4 | 149,7 | 11,7 | 132,7 | 9,1 | 113,8 | 2,7 | 47,3 | 38,2 | 47,0 | 31,2 | 1,47 | 0,46 |
| 5 | 153,5 | 7,3 | 124,6 | 6,2 | 124,1 | 2,5 | 45,9 | 56,6 | 45,6 | 45,3 | 1,49 | 0,46 |
| 6 | 151,1 | 12,6 | 126,0 | 8,6 | 112,6 | 2,1 | 49,8 | 98,4 | 49,1 | 88,4 | 1,31 | 0,36 |
| 7 | 146,1 | 23,5 | 114,7 | 21,6 | 128,6 | 5,2 | 46,9 | 77,2 | 46,4 | 65,0 | 1,33 | 0,40 |
| 8 | 158,9 | 12,4 | 133,5 | 8,0 | 126,2 | 3,4 | 44,4 | 128,8 | 41,7 | 32,2 | 1,15 | 0,38 |
| média | 154,7 | 15,0 | 128,2 | 11,1 | 125,6 | 3,8 | 48,7 | 78,6 | 47,9 | 43,5 | 1,46 | 0,37 |
| (dp) | *** | *** | *** | * | * | * | * | NS | ** | NS | ** | NS |
| | (7,5) | (5,0) | (8,1) | (4,8) | (10,8) | (1,3) | (3,3) | (29,8) | (3,7) | (22,1) | (0,21) | (0,07) |

| CTRL | Ratos Controle | | | | | | | | | |
|---------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--|
| Faixa de ASR (%) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | média(DP) | |
| 0 | 14,79 | 10,71 | 7,67 | 4,14 | 5,91 | 4,05 | 7,18 | 8,58 | 7,01(2,26) | |
| 10 | 28,87 | 22,55 | 26,58 | 19,30 | 18,87 | 14,37 | 30,94 | 22,83 | 22,31(5,03) | |
| 20 | 19,71 | 17,56 | 23,59 | 28,01 | 19,91 | 20,90 | 22,15 | 20,04 | 21,71(3,10) | |
| 30 | 13,23 | 13,30 | 16,66 | 24,02 | 16,84 | 19,49 | 14,80 | 16,44 | 17,30(3,25) | |
| 40 | 9,08 | 10,64 | 10,59 | 11,38 | 12,80 | 15,39 | 9,55 | 12,42 | 11,78(1,79) | |
| 50 | 5,69 | 8,69 | 6,64 | 5,61 | 9,48 | 10,84 | 6,17 | 8,67 | 7,98(1,78) | |
| 60 | 3,44 | 6,47 | 3,69 | 3,04 | 6,83 | 6,66 | 3,77 | 5,14 | 5,06(1,48) | |
| 70 | 2,12 | 4,51 | 2,07 | 1,76 | 4,20 | 3,87 | 2,08 | 2,75 | 3,02(1,05) | |
| 80 | 1,20 | 2,73 | 0,92 | 0,93 | 2,57 | 2,07 | 1,19 | 1,36 | 1,67(0,71) | |
| 90 | 0,73 | 1,56 | 0,49 | 0,58 | 1,37 | 1,10 | 0,62 | 0,63 | 0,90(0,40) | |
| 100 | 0,39 | 0,70 | 0,21 | 0,28 | 0,55 | 0,54 | 0,31 | 0,31 | 0,42(0,17) | |
| 110 | 0,24 | 0,29 | 0,16 | 0,20 | 0,22 | 0,29 | 0,21 | 0,22 | 0,23(0,04) | |

Tabela AP4b. Distribuição (%) da atividade simpática. Valores individuais de ocorrência (%) em cada faixade atividade simpática renal (0-110%) de 8 ratos intactos e 8 desnervados. (* Significância p<0.05)</td>

| DSAa | Rato Desnervados | | | | | | | | | |
|---------------------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|--|
| Faixa de ASR (%) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | média(DP) | |
| 0 | 3,91 | 2,26 | 3,90 | 4,82 | 6,41 | 3,24 | 3,49 | 7,81 | 4,48*(1,81) | |
| 10 | 18,73 | 5,92 | 11,79 | 17,25 | 23,69 | 13,63 | 11,85 | 24,17 | 15,88*(6,29) | |
| 20 | 26,61 | 10,69 | 17,12 | 23,03 | 27,00 | 25,08 | 17,41 | 22,34 | 21,16(5,66) | |
| 30 | 22,39 | 15,20 | 18,47 | 20,56 | 21,16 | 25,62 | 16,90 | 16,68 | 19,62(3,46) | |
| 40 | 13,97 | 17,91 | 16,69 | 14,28 | 12,16 | 17,45 | 15,04 | 10,52 | 14,75*(2,58) | |
| 50 | 6,92 | 18,08 | 12,80 | 9,03 | 5,30 | 8,35 | 11,48 | 7,22 | 9,90(4,11) | |
| 60 | 3,15 | 14,07 | 8,97 | 5,06 | 1,84 | 2,97 | 8,76 | 4,70 | 6,19(4,11) | |
| 70 | 1,55 | 8,18 | 5,18 | 2,64 | 0,77 | 1,24 | 6,10 | 2,71 | 3,55(2,65) | |
| 80 | 0,86 | 4,32 | 2,61 | 1,51 | 0,32 | 0,67 | 4,18 | 1,74 | 2,03(1,55) | |
| 90 | 0,58 | 1,82 | 1,20 | 0,68 | 0,26 | 0,49 | 3,01 | 0,90 | 1,12(0,90) | |
| 100 | 0,36 | 0,67 | 0,54 | 0,43 | 0,20 | 0,31 | 1,64 | 0,53 | 0,59(0,45) | |
| 110 | 0,22 | 0,22 | 0,24 | 0,24 | 0,14 | 0,33 | 0 | 0,25 | 0,21(0,10) | |





DSAa



Figura AP4. Histograma individual da atividade nervosa simpática no rato controle e no rato

DSAa.

Apêndice 5. Exemplos de Pulsos Gaussianos, $exp(-w^2(t-to)^2)$, para w= 1, 2 e 3.

Neste exemplo é ilustrado a obtenção de pulsos gaussianos (C) à partir de um sinal senoidal (A) e de uma janela gaussiana (B) utilizando diferentes valores para w. Pulsos gaussianos calculados deste modo foram utilizados nos testes da análise tempo-freqüência.



Figura AP5. A) Onda Senoidal com f = 2Hz, B) Janela gaussiana exp(-w²(t-to)²) para w= 1, 2 e 3 e to = 3 s e C) Pulso Gaussiano obtido pelo produto A e B.

Apêndice 6. Comparação qualitativa dos espectros em diferentes modos de interpolação

Para ilustrar a distorção espectral decorrente de diferentes modos de interpolação calculamos o espectro de uma senoíde com freqüência f (sinal original) e da reconstrução desta mesma senoíde re-amostrada aproximadamente a 4.46f e reconstruída por interpolação degrau, linear e spline cúbica. O espectro obtido após reconstrução do sinal por interpolação degrau, linear e spline cúbica é comparada com o espectro do sinal sintetizado sin(2*pi*f*t) ilustrado na Figura AP6 (sinal original).



Figura AP6. Comparação qualitativa entre diferentes modos de interpolação: O sinal orignal consiste de uma senoíde que é amostrada e interpolada pelo modo degrau, linear e *spline*. A direita são apresentados os respectivos espectros.

Apêndice 7. Módulo condicionador de sinais (MCS98).

Apêndice 7a. Painel frontal do condicionador de sinais

O MCS98 consiste de dois retificadores ativos de onda completa e 4 filtros $4^{\underline{a}}$ ordem tipo Butterworth com freqüência de corte configurável externamente. A faixa de excursão do sinal de entrada é de ±5 Volts e todos os conectores de entradas e saídas de sinal são do tipo BNC fêmea.



Figura AP7a. Módulo condicionador de sinais (MCS98)

Apêndice 7b . Guia rápido para escolha dos componente do filtro anti-aliasing.

Cada filtro *anti-aliasing* consiste de dois sub-filtros 2^a ordem tipo Butterworth conectados em série. A freqüência de corte pode ser configurada combinando resistores e capacitores em um soquete conectado externamente no painel frontal do módulo MCS98. O gráfico ilustrado a seguir sugere o valor da resistência em função da freqüência de corte do filtro e de valores de capacitância 1nF, 10 nF e 47nF.



Figura AP7b. Curvas freqüência de corte pela resistência em três valores de capacitância (1nF, 10nF e 47nF) para configuração dos filtros Butterworth 4ª ordem.

Referências Bibliográficas

AKSELROD, S., GORDON, D, UBEL, F.A., SHANNON, D.C., BARGER, A.C. E COHEN, R.J., (1981), Power Spectral Analysis of Heart Rate Fluctuation: A Quantitative Probe of Beat-to-Beat Cardiovascular System, *Science*, 213, 220-222.

- BIANCHI, A., BONTEMPI, B., CERUTTI, S., GIANOGLIO, P., COMI, G. E NATALI SORA, M.G., (1990), Spectral Analysis of Heart Rate Variability Signal and Respiration in Diabetic Subjects, *Med. Biol. Eng. Comp.*, 28, 205-211.
- BROWN, D.R., BROEN, L.V., PATWARDHAN, A., E RANDALL, D.C., (1994), Sympathetic Activity and Blood Pressure are Tightly Coupled at 0.4 Hz in Conscious Rats, Am. J. Physiol., 267(36), R1378-R1384.
- CESTARI, I.A., IDA, F., MOREIRA, E.D., PIRES, M.D., IRIGOYEN, M.C. E KRIEGER, E.M., (1996), Relação Temporal entre Atividade Neurogênica dos Pressoreceptores e Atividade Simpática Periférica e Labilidade da Pressão Arterial, Anais do Forum Nacional de Tecnologica em Saúde, 117-118.
- CHOI, H E WILLIAMS, W.J., (1989), Improved Time-Freqüency Representation of Multicomponent Signals Using Exponencial Kernels, *IEEE Trans. ASSP*, 862-872.
- CLAASEN, T.A.C.M.E MECKLENBRAUKER, W.F.G., (1980-A), The Wigner distribution A Tool for Time-Frequency Signal Analysis. Part I: Continuous Time Signals, *Philips J.Res.*, 35, 217-250.
- CLAASEN, T.A.C.M. E MECKLENBRAUKER, W.F.G., (1980-B), The Wigner distribution A Tool for Time-Frequency Signal Analysis. Part II: Discrete Time Signals, *Philips J.Res.*, 35, 276-300.

- CLAASEN, T.A.C.M. E MECKLENBRAUKER, W.F.G., (1980-C), The Wigner distribution A Tool for Time-Frequency Signal Analysis. Part III: Relations With Other Time-Frequency Signal Transformations, *Philips J.Res.*, 35, 372-389.
- COHEN, L., (1989), Time-Frequency Distributions A Review, Proc. IEEE, 77(7), 941-981.
- COSTA, E.T., (1989), Development and Application of a Large Aperture PVDF Hydrophone for Measurement of Linear and Non-Linear Ultrasound Fields, PhD Thesis, *University of London*, London.
- COSTA, E.T. E LEEMAN, S., (1989), The Wigner Distribution and Its Application to Linear and Non-Linear Ultrasound Wave Propagation, *Revista Brasileira de Engenharia*, Caderno de Engenharia Biomédica, 6(2), 220-228.
- DAFFONCHIO, A., FRANZELLI, C., RADAELLI, A., CASTIGLIONI, P., DI RIENZO, M., MANCIA, G. E FERRARI, A.U., (1995), Sympathectomy and Cardiovascular Spectral Components in Conscious Normotensive Rats, *Hypertension*, 25, 1287-1293.
- DEBOER, R.W., KARMAKER, J.M., STRACKEE, J., (1987), Hemodynamic Fluctuations and Baroreflex Sensitivity in Humans: a Beat to Beat Model, *Am. J. Physiol.*, 253, 680-689.
- DI RIENZO, M. CASTIGLIONI, P., MANCIA, G., PARATI, G. E PEDOTTI, A., (1989), 24h Sequencial Spectral Analysis of Arterial Blood Pressure and Pulse Interval in Free-Moving Subjects, *IEEE Trans. Biom. Eng.*, 36(11), 1066-1074.

- DI RIENZO, M., CASTIGLIONI, P., RAMIREZ, A.J., MANCIA, G. E PEDOTTI, A., (1992), Sequencial Spectral Analysis of Blood Pressure and Heart Rate in Humans and Animals, in Di Rienzo, M. e col. (eds), Blood Pressure and Heart Rate, *IOS Press*, Amsterdam, 24-38.
- DI RIENZO, M., CASTIGLIONI, P., PARATI, G., MANCIA, G. E PEDOTTI, A., (1996), Effects of Sinoaortic Denervation on Spectral Characteristics of Blood Pressure and Pulse Interval Variability: A Wide-Band Approach, *Med. Biol. Eng. Comp.*, 34, 1-9.
- ECKBERG, D.L., (1997), Sympathovagal Balance : A Critical Appraisal, *Circulation*, 96, 3224-3232.
- ESLER, M., JENNINGS, G., KORNER, P., BLOMBERY, P., SACHARIAS, N. E LEONARD, P., (1984), Measurement of Total and Organsspecific Norepinephrine Kinetcs in Humans, Am J. Physiol., 247, E21-E28.
- FRANCHINI, K.G. E KRIEGER, E.M., (1992), Carotid Chemoreceptors Influence Arterial Pressure in Intact and Aortic Denervated Rats, *Am. J. Physiol.*, 32(262), R677-R683.
- FRANCHINI, K.G., CESTARI, I.A. E KRIEGER, E.M., (1994), Restoration of Arterial Blood Oxygen Tension Increases Arterial Pressure in Sinoaortic-Denervated Rats, Am. J. Physiol., 266(35), H1055-H1061.
- GEBBER, G.L., (1980), Central Oscillators Responsible for Sympathetic Nerve Discharge, Am. J. Physiol., 239, H143-H155.

- GUZZETTI, S., IOSA, D., PECIS, M., BONURA, L., PROSDOCIMI, M. E MALLIANI, A., (1991), Impaired Heart Rate Variaility in Patientes with Chronic Chagas' Disease, *Am. Heart J.*, 121(6), 1727-1734.
- HIRSCH, H.P. E BISHOP, B., (1981), Respiratory Sinus Arrhythmia in Humans: How Breathing pattern modulates heart rate, *Am. J. Physiol.*, 241(10), H620-H629.
- HOOP, F.A., SEAGARD, J.L. E KAMPINE, J.P., (1986), Comparison of Four Methods of Averaging Nerve Activity, *Am. J. Physiol.*, 251, R700-R711.
- HYNDMAN, B.W., KITNEY, R.I. E SAYERS, B.M., (1971), Spontaneous Rhythms in Physiological Control Systems, *Nature*, 233, 339-341.
- IRIGOYEN, M.C., CESTARI, I.A., MOREIRA, E.D., OSHIRO, M. E KRIEGER, E.M., (1988), Measurement of Renal Sympathetic Nerve Activity in Conscious Sinoaortic Denervated Rats, *Brazil. J. Med. Biol. Res.*, 21, 869-872
- IRIGOYEN, M.C., MOREIRA, E.D., CESTARI, I.A. E KRIEGER, E.M., (1991), Renal Sympathetic Nerve Activity and Arterial Pressure Relationship After Selective Denervation of Baroreceptor and Chemoreceptor, *Brazil. J. Med. Biol. Res.*, 24, 219-222.

- IRIGOYEN, M.C., MOREIRA, E.D., IDA, F., PIRES, M., CESTARI, I.A. E KRIEGER, E.M., (1995), Changes of Renal Sympathetic Activity in Acute and Chronic Conscious Sinoaortic Denervated Rats, *Hypertension*, 26(2), 1111-1116.
- IRIGOYEN, M.C., (1991), Avaliação da Atividade Simpática na Hipertensão Experimental, Tese de Doutorado, *Instituto de Ciências Biomédica USP*, São Paulo.
- JAPUNDZIC, N., GRICHOIS, M.L., ZITOUN, P., LAUDE, D. E ELGHOZI, J.L., (1990), Spectral Analysis of Blood Pressure and Heart Rate in Conscious Rats: Effects of Autonomic Blockers, J. Aut. Nerv. Syst., 30:91-100.
- JASSON, S., MÉDIGUE, C., MAISON-BLANCHE, P., MONTANO, N., MEYER, L., VERMEIREN, C., MANSIER, P., COUMEL, P., MALLIANI, A. E SWYNGHEDAUW, B., (1997), Instant Power Spectrum Analysis of Heart Rate Variability During Orthostatic Tilti Using a Time-/Frequency-Domain Method, *Circulation*, 96, 3521-3526.
- JULIEN C., ZHANG ZQ., CERUTTI, C. E BARRÈS C., (1995), Hemodynamic Analysis of Arterial Pressure Oscillations in Conscious Rats, J. Auton. Nerv. Syst., 50:3, 239-259
- KAY, S.M. E MARPLE JR., S.L., (1981), Spectrum Analsyis-A Modern Perpective, *Proc. IEEE*, 69(11), 1380-1418.
- KINGWELL, B.A., THOMPSON, J.M., MCPHERSON, G.A., KAYE, D.M., JENNINGS, G.L. E ESLER, M.D., (1995), Comparison of Heart Rate Spectral Analysis with Cardiac Noradrenaline

Spillover and Muscle Sympathetic Nerve Activity in Human Subjects, in Di Rienzo, M. e col. (eds), Computer Analysis of Cardiovascular Signals, *IOS Press*, Amsterdam, 167-176

- KITNEY, R.I. E DARVISH, N., (1995), Techniques for Studying Short-Term Changes in Cardio-Respiratory Data Part II, in Di Rienzo, M. e col. (eds), Computer Analysis of Cardiovascular Signal, *IOS Press*, Amsterdam, 15-52.
- KLEIGER, E.R., MILLER, J.P., BIGGER, J.T. E MOSS, A.J., (1987), Decreased Heart Rate
 Variability and Its Association with Increased Mortality After Myocardial Infarction, *Am. J. Cardiol.*, 59, 256-262.
- KRIEGER, E.M., (1964), Neurogenic Hypertension in the Rat, Circ. Res., 15, 511-521.
- KRIEGER, E.M., (1967), Effect of Sinoaortic Denervation on Cardiac Output, Am. J. Physiol., 213, 139-142.
- LUNDIN, S., RICKSTEN, S.E. E THORÉN, P., (1984), Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats and normotensive controls as studied by three different methods, *Acta Physiol. Scand.*, 120, 265-272.
- MALIK, M. E ECKBERG D.L., (1998), Sympathovagal Balance: A Critical Appraisal Response, *Circulation*, 98, 2643-2644.

- MALLIANI, A., LOMBARDI, F. E PAGANI, M., (1994), Power Spectrum Analysis of Heart Rate Variability: a Tool to Explore Neural Regulatory Mechanisms, *Br. Heart J.*, 1(71), 1-2.
- MALLIANI A., PAGANI M., MONTANO N. E MELA G.S., (1998), Sympathovagal Balance: A Reappraisal, *Circulation*, 98, 2640-2643.
- MANCIA, G., PARATI, G., CASTIGLIONI, P. E DI RIENZO, M., (1999), Effect of sinoaortic denervation on frequency-domain estimates of baroreflex sensitivity in conscious cats, *Am. J. Physiol.*, 276(45), H1987-H1993.
- MARPLE, S.L., (1987), Digital Spectral Analysis, Prentice-Hall, Chapter 7.
- MARTIN-BODY, R.L., ROBSON, G.J. E SINCLAIR, J.D., (1986), Restoration of hypoxic respiration responses in the awake rat after carotid body denervation by sinus nerve section, *J. Physiol.*, 380, 61-73.
- MICHELINI, L.C., (1999), Regulação da Pressão Arterial: Mecanismos Neuro-Humorais, in Aires,M.M. (ed.), Fisiologia, *Guanabara Koogan*, Rio de Janeiro, 473-488.
- MUSHA, T., (1995), 1/f Fluctuations of the Biological Rhythm, in Di Rienzo, M. e col. (eds), Computer Analysis of Cardiovascular Signals, *IOS Press*, Amsterdam, 81-94
- NINA-HUALLPA, B.; COSTA, E.T.; LOPES, A., (1992), Uso da transformada de Fourier de curta duração e da distribuição deWigner na caracterização de potenciais tardios ventriculares,

Anais do I Fórum Nacional de Ciência e Tecnologia em Saúde, XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Caxambu-MG, 238-241.

- NINOMIYA, I., MALPAS, S.C., MATSUKAWA, K., SHINDO, T. E AKIYAMA, T., (1993), The Amplitude if Synchronized Cardiac Sympathetic Nerve Activity Reflects the Number of Activated Pre- and Postganglionic Fibers in Anesthetized Cats, *J. Aut. Nerv. Syst.*, 45, 139-147.
- NOVAK, P. E NOVAK, V., (1993), Time/Frequency Mapping of the Heart Rate, Blood Pressure and Respiratory Signals, *Med Biol. Eng. Comput.*, 31, 103-110.
- OPPENHEIN, A.V. E SCHAFER, R.W.,(1989), Discrete-Time Signal Processing, Prentice-Hall International, Inc.
- PAGANI, M., LOMBARDI, F., GUZZETTI, S., RIMOLDI, O., FURLAN, R., PIZZINELLI, P., SANDRONE,
 G., MALFATTO, G., DELL'ORTO, S., PICCALUGA, E., TURIEL, M., BASELLI, G., CERUTTI,
 S. E MALLIANI, A., (1986), Power Spectral Analysis of Heart Rate and Arterial Pressure
 Variability as a Marker of Sympatho-Vagal Interaction in Man and Conscious Dog, *Circ. Res.*, 59, 178-193.
- PARATI, G., CASADEI, R., GROPPELLI, A., DI RIENZO, M. E MANCIA G., (1989), Comparison of Finger and Intra-arterial Blood Pressure Monitoring at Rest and During Laboratory Testing, *Hypertension*, 13, 647-655.

- PARATI, G., CASTIGLIONI, P., DI RIENZO, M., OMBONI, S., PEDOTTI, A., MANCIA, G., (1990), Sequencial Spectral Analysis of 24-Hour Blood Pressure and Pulse Interval in Humans, *Hypertension*, 16, 414-421.
- PARATI, G., SAUL, J.P., DI RIENZO, M., E MANCIA, G., (1995), Spectral Analysis of Blood Pressure and Heart Rate Variability in Evaluating Cardiovascular Regulation: A Critical Appraisal, *Hypertension*, 25, 1276-1286.
- PELLETIER, C.L., (1972), Circulatory Responses to Graded Stimulation of the Carotid Chemoreceptors in the dog, *Circ. Res.*, 21, 431-443.
- PERSSON, P.B., (1997), Spectrum Analysis of Cardiovascular Time Series, Am. J. Physiol., 273, R1201-R1210.
- PERSSON, P.B., STAUSS.H., CHUNG,O., WITTMANN, U. E UNGER, T., (1992), Spectrum Analysis of Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure in Conscious Rats, Am. J. Physiol., 263(32), H1348-H1355.
- PINNA, G.D., MAESTRI, R. E DI CESARE, A., (1996), Application of Time Series Spectral Analysis Theory: Analysis of Cardiovascular Variability Signals, *Med. Biol. Eng. Comp.*, 34, 142-148.
- PITZALIS, M.V., MASTROPASQUA, F., MASSARI, F., PASSANTINO, A., COLOMBO, R., MANNARINI, A., FORLEO, C. E RIZZON, P., (1998), Effect of Respiratory Rate on the Relationships

Between RR Interval e Systolic Blood Pressure Fluctuations: A Frequency-Dependent Phenomenon, *Circ. Res.*, 38, 332-339.

- POLA, S., MACERATA, A., EMDIN, M. E MARCHESI, C., (1996), Estimation of the Power Spectral Density in Nonstationary Cardiovascular Time Series: Assessing the Role of the Time-Frequency Representations (TFR), *IEEE Trans. Biom. Eng.*, 43(1), 46-59.
- PREISS, G. E POLOSA, C., (1974), Patterns of Sympathetic Neuron Activity Associated with Mayer Waves, Am. J. Physiol., 226(3), 724-730.
- ROBBE, H.W.J., MULDER, L.J.M., RÜDDEL, H., LANGEWITZ, W.A., VELDMAN, J.B.P. E MULDER,G., (1987), Assessment of Baroreceptor Reflex Sensitivity by Means of Spectral Analysis, Hypertension, 10, 538-543.
- SAAVEDRA, J.M. E KRIEGER, E.M., (1987), Early Increase in Adrenomedullary Catecholamine Syntheses in Sinoaortic Denervated Rats, *J. Auton. Nerv. Syst.*, 12, 181-183.

SAYERS, B.MCA., (1973), Analysis of Heart Rate Variability, Ergonomics, 16, 17-32.

SAUL, J.P., ALBRECHT, R.D., BERGER, R.D. E COHEN, R.J., (1988), Analysis of Long Term Heart Rate Variability: Methods, 1/f scaling and Implications. In: Proc. Computers in Cardiology, *IEEE Computer in Cardiol.*, 419-422.

- SWAMI, A., MENDEL, J.M., NIKIAS, C.L., (1998), High-Order Spectral Analysis Toolbox User Guide 3 ed., *The Mathworks, Inc.*, MA, USA.
- USHIZIMA, M.R., CESTARI, I.A., COSTA, E.T., CASTIGLIONI, P., MOREIRA, E.D., KRIEGER, E.M. E
 DI RIENZO, M., (1997), Wide Band Spectral Analysis of Blood Pressure and Pulse
 Interval in Conscious WKY Rats: Effects of Acute Sinoaortic Denervation, *Med. Biol. Eng Comput.*, 35(1), 551.
- VILLE, J., (1948), Theorie et Applications de la Notion de Signal Analytique, *Cables Transm.*, 2, 61-74.
- WAGNER, C.D., MROWKA, R., NAFZ, B., E PERSSON, P.B., (1995), Complexity and "Chaos" in Blood Pressure After Baroreceptor Denervation of Conscious Dogs, Am. J. Physiol., 269(38), H1760-H1766.
- WAGNER, C.D. E PERSSON, P.B., (1998), Chaos in the Cardiovascular System: An Update, *Cardiovascular Res.*, 40, 257-264.
- WIGNER, E., (1932), On the Quantum Correction for Thermo-Dynamic Equilibrium, *Phys. Rev.*, 40, 749-759.
- ZHANG, Z.Q., BARRES, C. E JULIEN, C., (1995), Involvement of Vasodilator Mechanisms in Arterial-Pressure Lability After Sino-Aortic Baroreceptor Denervation in Rat, J. Physiol.-London, 482(2), 435-448.