

**GISELLE LOPES FERRARI**

**PUPILOMETRIA DINÂMICA: APLICAÇÃO NA DETECÇÃO E  
AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA AUTONÔMICA DIABÉTICA E  
ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA TEMPORAL  
DA PUPILA AO ESTÍMULO VISUAL E A GLICEMIA**

**Tese de Doutorado**

**Curitiba**

**Fevereiro 2008**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial**

---

**TESE**

apresentada à UTFPR

como requisito para obtenção do título de

**DOUTOR EM CIÊNCIAS**

Por

**GISELLE LOPES FERRARI**

---

**PUPILOMETRIA DINÂMICA: APLICAÇÃO NA DETECÇÃO E  
AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA AUTONÔMICA DIABÉTICA E ESTUDO  
DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA TEMPORAL DA PUPILA AO  
ESTÍMULO VISUAL E A GLICEMIA**

---

Banca examinadora:

Orientador:

Prof. Humberto Remigio Gamba, PhD

UTFPR

Co-orientador:

Prof. Jefferson Luiz Brum Marques, PhD

UFSC

Examinadores:

Prof. Fábio Kurt Schneider, PhD

UTFPR

Prof. Fernando Mendes de Azevedo, Dr.

UFSC

Prof. Luiz de Lacerda Filho, Dr.

UFPR

Prof. Sérgio Francisco Pichorim, Dr.

UTFPR

**Curitiba, 29 de fevereiro de 2008.**

**GISELLE LOPES FERRARI**

**PUPILOMETRIA DINÂMICA: APLICAÇÃO NA DETECÇÃO E  
AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA AUTONÔMICA DIABÉTICA E  
ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA TEMPORAL  
DA PUPILA AO ESTÍMULO VISUAL E A GLICEMIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências – Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Humberto R. Gamba

Co-orientador: Prof. Dr. Jefferson L. B. Marques

**Curitiba**

Fevereiro 2008

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE SIGLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1    CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA .....	1
1.2    MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	4
1.3    OBJETIVOS .....	5
<b>2. OLHO HUMANO .....</b>	<b>7</b>
2.1    CONSIDERAÇÕES ANATÔMICAS.....	7
2.2    REGULAÇÃO FUNCIONAL.....	9
2.2.1    Acomodação .....	9
2.2.2    Reflexo Pupilar à Luz .....	10
2.2.3    Adaptação à Intensidade de Luz .....	11
<b>3. METABOLISMO ENERGÉTICO .....</b>	<b>13</b>
3.1    OXIDAÇÃO DA GLICOSE.....	13
3.2    VIAS ALTERNATIVAS PARA O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS .....	17
3.3    METABOLISMO DE LIPÍDEOS .....	17
3.4    INTEGRAÇÃO DAS VIAS METABÓLICAS.....	18
<b>4. DIABETES MELLITUS .....</b>	<b>21</b>
4.1    CONCEITO E EPIDEMOLOGIA.....	21
4.2    CLASSIFICAÇÃO .....	21
4.3    SINAIS E SINTOMAS.....	23
4.4    COMPLICAÇÕES.....	23
4.5    TRATAMENTO .....	25
4.6    SISTEMAS DE MONITORAÇÃO DE GLICEMIA .....	26
4.6.1    Método Invasivo .....	26
4.6.2    Método Semi-Invasivo.....	26

4.6.3	Método Não-Invasivo .....	27
4.7	TESTES CLÍNICOS PARA A AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA .....	28
<b>5.</b>	<b>PUPILOMETRIA .....</b>	<b>31</b>
5.1	APLICAÇÕES .....	32
<b>6.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
6.1	INDIVÍDUOS .....	35
6.2	DESCRIÇÃO DO PUPILÔMETRO DESENVOLVIDO .....	36
6.3	EXPERIMENTOS .....	41
6.4	DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS UTILIZADOS NA COMPARAÇÃO DA FUNÇÃO PUPILAR ENTRE INDIVÍDUOS .....	43
6.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	47
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
7.1	TESTES PARA A AVALIAÇÃO DO SISTEMA .....	49
7.1.1	“Detector de Íris” .....	49
7.1.2	Teste de Repetibilidade do Sistema de Aquisição .....	51
7.2	ANÁLISE DO EFEITO DA IDADE NO REFLEXO PUPILAR À LUZ... 52	
7.2.1	Resultados da Primeira Condição Experimental (1 <i>flash</i> ) .....	53
7.2.2	Resultados da Segunda Condição Experimental (25 <i>flashes</i> ).....	54
7.3	DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA DIABÉTICA .....	54
7.3.1	Resultados da Primeira Condição Experimental (1 <i>flash</i> ) .....	55
7.3.2	Resultados da Segunda Condição Experimental (25 <i>flashes</i> ).....	59
7.4	ESTUDO PRELIMINAR DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA PUPILAR A UM <i>FLASH</i> DE LUZ E A GLICEMIA .....	63
<b>8.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
8.1	PUPILÔMETRO DESENVOLVIDO .....	67
8.2	ANÁLISE DO EFEITO DA IDADE NO REFLEXO PUPILAR À LUZ... 68	
8.3	DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA DIABÉTICA .....	68
8.4	ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA PUPILAR A UM ESTÍMULO VISUAL E A GLICEMIA.....	71
<b>9.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
9.1	TRABALHOS FUTUROS .....	73

<b>Anexo 1 – Circuito Esquemático .....</b>	<b>74</b>
<b>Anexo 2 – Tabelas de validação do PIPAT .....</b>	<b>76</b>
<b>Anexo 3 – Publicações.....</b>	<b>80</b>
<b>Anexo 4 – Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos .....</b>	<b>81</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>83</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 : Bulbo do Olho; Corte horizontal esquemático ao nível da saída do nervo óptico (M – músculo e N - nervo). Adaptado de Sobotta (2000). .....	8
Figura 2 : Resumo esquemático da glicólise.....	14
Figura 3 : Resumo esquemático das reações enzimáticas que ocorrem no ciclo de Krebs. ....	15
Figura 4 : Sistema de pupilometria proposto. ....	36
Figura 5 : Foto do pupilômetro desenvolvido, destacando o acoplamento do olho do voluntário ao cone.....	37
Figura 6 : Espectro de emissão do LED branco.....	38
Figura 7 : Diagrama de blocos do “Detector de Íris”. Algoritmo utilizado na detecção do raio da pupila e da íris. ....	39
Figura 8 : Imagem original (a), imagem após a detecção das bordas (b) e após o afinamento (c). ....	40
Figura 9 : Resultado da aplicação da transformada de Hough. A reta indicada é formada pelo contorno da íris. ....	41
Figura 10 : Interface do Detector de Íris. Os valores do raio da pupila e da íris são dados em pixels.....	41
Figura 11 : Curva da variação do raio da pupila em função do tempo para um único <i>flash</i> (a) e para uma seqüência de 25 <i>flashes</i> com freqüência de 1 Hz (b). O instante de tempo igual a zero segundos indica o instante de tempo em que o <i>flash</i> é disparado. ....	43
Figura 12 : Parâmetros analisados na pupilometria para a primeira condição experimental. 1–Tempo de latência do alcance do <i>plateau</i> ; 2–Tempo de latência para o início da constrição; 3–Duração da constrição; 4–Tempo de latência para a maior constrição; 5–Raio da pupila no alcance do <i>plateau</i> ; 6–Raio da pupila para a máxima constrição; 7–Raio da pupila antes do disparo do <i>flash</i> . ....	44
Figura 13 : Parâmetros relacionados ao raio da pupila analisados na pupilometria para a segunda condição experimental. 1–Raio da pupila antes do disparo do primeiro <i>flash</i> ; 2–Raio da pupila para a máxima constrição após o primeiro <i>flash</i> ; 3–Raio da pupila no instante do disparo do décimo <i>flash</i> ; 4–Raio da pupila para a máxima constrição após o décimo <i>flash</i> ; 5–Raio da pupila no instante do disparo do vigésimo	

quinto <i>flash</i> ; 6–Raio da pupila para a máxima constrição após o vigésimo quinto <i>flash</i> ;	
7–Raio da pupila para o alcance do <i>plateau</i> . .....	46
Figura 14 : PIPAT.....	49
Figura 15 : O raio médio da pupila encontrada pelos 19 observadores utilizando o PIPAT e o raio da pupila medida pelo algoritmo “Detector de Íris” para as 100 imagens. ....	50
Figura 16 : Imagens do olho direito de três voluntários após o período de dois minutos de adaptação ao escuro, obtendo assim, a máxima dilatação ou midríase. (a) não-diabéticos, (b) diabéticos sem NPD e (c) com NPD. Os pontos brancos da pupila correspondem ao reflexo dos quatro LEDs IV usados para a iluminação do olho. ....	56
Figura 17 : Imagens do olho direito dos mesmos voluntários da Figura 7-3 no instante da máxima constrição ou miose. (a) não-diabéticos , (b) diabéticos sem NPD e (c) com NPD.....	56
Figura 18 : Comparação das médias da razão pupila-íris (P/I) no escuro, para maior constrição e no <i>plateau</i> em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NPD e com NPD (as barras de erro representam o desvio padrão).....	57
Figura 19 : Comparação das médias da razão pupila-íris (P/I) no escuro, para maior constrição e no <i>plateau</i> em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NAC e com NAC (as barras de erro representam o desvio padrão). ....	59
Figura 20 : Comparação do tempo de latência para atingir o <i>plateau</i> após o vigésimo quinto <i>flash</i> em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NAC e com NAC (as barras de erro representam o desvio padrão). ....	61
Figura 21 : Suporte de cabeça utilizado para o registro da pupilometria dinâmica. ....	67



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Diferenças entre o diabetes tipo 1 e 2 (COTRAN et al., 2000). .....	22
Tabela 2 : Sinais e sintomas do DM (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001; GANONG, 2000). .....	23
Tabela 3 : Complicações agudas devido ao diabetes (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001). .....	24
Tabela 4 : Complicações crônicas devido ao diabetes (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001). .....	25
Tabela 5 - Valores médios, desvios padrões e coeficientes de variação do raio da íris para cada voluntário. Cada voluntário realizou duas vezes por dia, durante quatro dias consecutivos, resultando em oito medidas (8 medidas x 90 quadros = 720 quadros). 51	
Tabela 6 : Valores médios, desvios padrões e coeficientes de variação para o parâmetro Razão P/I para a máxima dilatação, máxima constrição e após três segundos do flash. Cada voluntário realizou duas vezes por dia, durante quatro dias consecutivos, resultando em oito medidas. ....	52
Tabela 7 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um <i>flash</i> para voluntários não-diabéticos abaixo de 35 anos e acima de 36 anos (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	53
Tabela 8 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de 25 <i>flashes</i> para voluntários não-diabéticos abaixo de 35 anos e acima de 36 anos (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	54
Tabela 9 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um <i>flash</i> para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia periférica diabética (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	55
Tabela 10 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um <i>flash</i> para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	58
Tabela 11 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de vinte e cinco <i>flashes</i> para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia periférica diabética (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	60
Tabela 12 : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de vinte e cinco <i>flashes</i> para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular (valor médio $\pm$ desvio padrão). .....	62

Tabela 13 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) durante a fase de recrutamento. Os voluntários encontravam-se em estado hiperglicêmico.....	64
Tabela 14 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) durante o grapeamento de glicose, para o estado euglicêmico.....	64
Tabela 15 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) durante o grapeamento de glicose, para o estado hipoglicêmico. Para o voluntário 3, a condição experimental foi realizada duas vezes. ....	65
Tabela 16 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) para o voluntário 1.....	65
Tabela 17 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) para o voluntário 2.....	66
Tabela 18 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) para o voluntário 3.....	66
Tabela 19 : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 <i>flash</i> ) para o voluntário 4.....	66
Tabela 20 : Estudos prévios utilizando pupilometria em voluntários diabéticos.....	69

## LISTA DE SIGLAS

ACh – Acetilcolina

ADP – Difosfato de Adenosina

ATP – Adenosina Trifosfato

DM – Diabetes mellitus

FAD – Flavina-Adenina-Dinucleotídeo

FADH<sub>2</sub> – Dinucleotídeo de Diidroflavina Adenina

GTP – Trifosfato de Guanosina

NAC – Neuropatia Autonômica Cardiovascular

NAD – Neuropatia Autonômica Diabética

NAD<sup>+</sup> – Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo

NADPH – Fosfato de Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo

NAG – Neuropatia Autonômica Gastrointestinal Diabética

Nor – Noradrenalina

NPD – Neuropatia Periférica Diabética

## RESUMO

A neuropatia autonômica é uma das complicações mais comum e séria do diabetes. Detecção precoce é essencial para uma terapia intervencional apropriada. A pupilometria dinâmica é um método simples que permite a avaliação da disfunção autonômica pupilar. O efeito da glicemia sobre a função autonômica em voluntários diabéticos é desconhecido. Os objetivos desse estudo foram: 1) investigar a resposta da pupila em voluntários diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular (NAC), e em voluntários diabéticos com e sem neuropatia periférica diabética (NPD) usando a pupilometria dinâmica, 2) estudar a correlação entre a resposta da pupila em voluntários diabéticos e a glicemia atual. No primeiro estudo, dois experimentos foram aplicados. Durante o primeiro experimento, um *flash* era disparado e a resposta da pupila era registrada por 3 segundos. No segundo experimento, uma seqüência de 25 *flashes* com freqüência de 1 Hz foi disparada e a resposta da pupila foi registrada durante 30 segundos. Vários parâmetros em função do tempo foram analisados. Um total de 36 voluntários diabéticos e 22 voluntários não-diabéticos fizeram parte desse estudo. Os resultados obtidos nesse estudo mostraram que voluntários diabéticos com e sem NAC, e com ou sem NPD têm disfunção simpática e parassimpática, evidenciada pela amplitude do reflexo diminuída e raio da pupila significativamente reduzido no início dos testes. Isto sugere que a disfunção autonômica pupilar ocorre antes de um envolvimento generalizado do sistema nervoso autônomo. No segundo estudo, somente a primeira condição experimental foi aplicada em 4 voluntários diabéticos a três níveis de glicemia diferentes. Os resultados obtidos mostraram que a resposta da pupila não tem relação com a glicemia. Pupilometria dinâmica pode ser utilizada como um método simples, barato e não-invasivo para avaliar neuropatia autonômica diabética em pacientes diabéticos.

## ABSTRACT

Autonomic neuropathy (AN) is a common and serious complication of diabetes. Early detection is essential to enable appropriate interventional therapy. Dynamic pupillometry has been proposed as simpler and more sensitive tool to detect sub-clinical autonomic dysfunction. Moreover, the effect of actual glycaemia on autonomic function in diabetic subjects is unknown. The aims of this study were: 1) to investigate pupil responsiveness in diabetic subjects with and without cardiovascular autonomic neuropathy (CAN), and in diabetic subjects with and without diabetic peripheral neuropathy (DPN) using dynamic pupillometry and, 2) to study the correlation between the pupil responsiveness in diabetic subjects and the actual glycaemia. In the first study, two tests were applied. During the first test, one flash was administered and the pupil response recorded for 3 seconds. In the second test, twenty-five flashes at one-second intervals were administered and the pupil response recorded for 30 seconds. Several time related parameters were computed from the results. A total of 36 diabetic subjects and 22 healthy volunteers took part in the study. Our results show that diabetic subjects with and without CAN, and with or without DPN have sympathetic and parasympathetic dysfunction evidenced by diminished amplitude reflexes and significant smaller pupil diameter. It suggests that pupillary autonomic dysfunction occurs early, before a more generalized involvement of the autonomic nervous system. In the second study, only the first test was applied in 4 diabetic subjects at three different levels of glycaemia. Our results show that the pupil responsiveness is not affected of actual glycaemia. Dynamic pupillometry may provide a simple, inexpensive and non-invasive tool to screen high-risk diabetic patients for diabetic autonomic neuropathy.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

### 1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

Uma das atividades vitais do nosso organismo é o fornecimento de energia às diversas partes do corpo humano. A fonte primária dessa energia é a glicose, que é liberada no sangue após o processamento de certos alimentos ricos em carboidratos. Porém, o excesso de glicose é prejudicial ao organismo, sendo assim, o nível de glicose deve ser mantido dentro de limites apropriados na corrente sanguínea.

Normalmente, a manutenção dos níveis de glicose no sangue (glicemia) é feita de forma natural pelo pâncreas. Sempre que a glicemia aumenta, o pâncreas libera um hormônio, a insulina, que faz a glicose ser absorvida pelas células para o fornecimento da energia e conseqüentemente reduz a quantidade de glicose no sangue para os níveis normais.

Diabetes mellitus (DM) é uma das doenças endócrinas mais comuns, em todas as populações de todos os grupos de idade. Trata-se de uma síndrome causada pela secreção inadequada de insulina na corrente sanguínea, pela ação deficiente de hormônios endócrinos ou por ambos os mecanismos (MADRUP-POULSEN, 1998). A insulina é o principal hormônio anabólico responsável pela síntese de carboidratos, lipídios e proteínas. Assim, uma deficiência na ação deste hormônio acarreta uma disfunção geral no metabolismo energético do indivíduo.

Dos cerca de 150 milhões de casos de diabetes no mundo, 5 a 10% são classificados como diabetes Tipo 1, quando ocorre a secreção inadequada de insulina. Aproximadamente 90% são classificados como diabetes Tipo 2, decorrente da produção insuficiente de insulina ou de resistência à sua utilização. Sem a capacidade de regulação natural da glicemia, os portadores de diabetes necessitam de um controle artificial, que é feito através de medicamentos, sejam orais, ou injeções de insulina, que fazem o nível de glicose no sangue baixar (DCCT, 1993).

As conseqüências para o organismo de valores anormais de glicemia são classificadas como complicações crônicas e agudas.

As complicações agudas ocorrem por dois motivos: valores muito elevados de glicemia (hiperglicemia) ou valores muito baixos (hipoglicemia). No primeiro caso pode ocorrer a denominada cetoacidose diabética, decorrente da utilização de proteínas e gorduras para a obtenção de glicose, e o chamado estado hiperosmolar não-cetótico, que resulta em desidratação corporal devido ao aumento da osmolaridade do sangue e conseqüente eliminação excessiva de líquidos por via renal. No caso da hipoglicemia, as principais alterações ocorrem no sistema nervoso central, cuja principal fonte energética é a glicose, podendo haver tontura, distúrbios de comportamento e diminuição do nível de consciência. Tanto na hiperglicemia quanto na hipoglicemia, se não houver tratamento imediato, as complicações podem levar à morte (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996; DCCT, 1993).

As complicações crônicas, devido a um longo período com níveis elevados de glicemia, implicam na degeneração progressiva e a falência de vários órgãos. Entre as principais complicações crônicas cita-se a neuropatia autonômica, a qual causa lesão nos neurônios constituintes dos nervos do sistema nervoso autônomo (CONTRAM et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001).

Por isso, a busca por exames e testes para a avaliação do sistema autônomo é necessária para o diagnóstico precoce e o tratamento apropriado da neuropatia em pacientes com diabetes.

A forma mais eficaz de minimizar e/ou prevenir as complicações da diabetes é através da manutenção da glicemia em valores normais. Para isso utiliza-se medicamentos e dieta alimentar adequada. Contudo, sem medições regulares do nível de glicemia no sangue, é impossível avaliar a eficácia do tratamento. Para o diabetes Tipo 1, por exemplo, é recomendado o controle da glicemia de no mínimo 3 a 4 vezes ao dia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Na maioria dos casos de diabetes é necessário medir a glicemia várias vezes durante o dia, para isso existem aparelhos de automedicação. Esses aparelhos medem a quantidade de glicose por meio de reações químicas realizadas entre uma amostra de sangue e reagentes colocados em uma tira plástica. A amostra de sangue é obtida com uma pequena perfuração da pele. Tais aparelhos são denominados invasivos, uma vez que utilizam amostras de sangue.

Existem outras técnicas semi- e não-invasivas para medida de glicemia que estão sendo desenvolvidas. As técnicas não-invasivas determinam a glicemia analisando o espectro de luz refletido em uma determinada região do corpo.

Entretanto, vários fatores interferem nessa medição, necessitando de mais pesquisas para o aprimoramento desse método, até que sejam completamente validadas para o uso em seres humanos. Outra linha de pesquisa não-invasiva recente está relacionada com a extração de parâmetros associados à coloração e estrutura da íris (MENEZES, 2000; PICA, 2002). Ainda, existe a possibilidade de se associar a função pupilar aos níveis de glicemia no sangue (SCHWINGSHANDL e BORKENSTEIN, 1994).

Além da possibilidade de indicar, de forma indireta, o nível de glicemia sangüíneo, a função pupilar tem sido reconhecida como a única porta de acesso não-invasivo para avaliação do sistema nervoso autônomo (LANTING et al., 1988, EPPENS et al., 2006; DÜTSCH et al., 2004).

Vários métodos têm sido usados para medir as funções pupilares, principalmente aqueles que envolvem o registro do reflexo da função pupilar a um estímulo de luz (ou, simplesmente, reflexo pupilar), também conhecidos como pupilometria dinâmica, por fornecer informação da inervação simpática e parassimpática (LANTING et al., 1990; SCHWINGSHANDL et al., 1993).

Recentemente, alguns trabalhos têm indicado parâmetros e valores padrões da resposta temporal da pupila para indivíduos sadios (FOTIOU et al., 2000; TALES et al., 2001). Outras publicações tentam relacionar o diâmetro da pupila de indivíduos sadios com o diâmetro daqueles com neuropatia autonômica ou com os seus níveis glicêmicos (EPPENS et al., 2006; DÜTSCH et al., 2004; SCHWINGSHANDL e BORKENSTEIN, 1994). Contudo observa-se uma lacuna na investigação associativa entre os parâmetros da pupilometria dinâmica com a glicemia e a neuropatia autonômica.

Dessa forma, nesse trabalho de pesquisa buscou-se verificar as hipóteses de existência ou não de relação direta entre algum dos parâmetros de avaliação do desempenho da função pupilar com a glicemia e a neuropatia autonômica.

As pesquisas foram realizadas a partir do projeto, construção, testes e validação de um sistema de estimulação e registro da função pupilar. Os parâmetros pupilares foram medidos utilizando-se técnicas clássicas de processamento de imagem, cujo objetivo é localizar e determinar os diâmetros da íris e da pupila em todos os quadros registrados de forma automática.



## 1.2 MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVA

A Neuropatia autonômica diabética (NAD) está entre as complicações crônicas mais comuns da diabetes, pois envolve todo o sistema nervoso autônomo e é um dos fatores determinantes da perda da qualidade de vida dos pacientes.

Há crescente evidência de que a identificação precoce da NAD, isto é, antes do início dos sintomas, permite intervenções que resultam na manutenção da qualidade de vida a médio e longo prazo.

Métodos convencionais de avaliação da função autonômica exigem profissionais e equipamentos especializados, o que torna essa prática viável apenas a um número restrito de pacientes. Em geral, principalmente para aqueles em estágio avançado, que já desenvolveram os sintomas. Neste contexto, a pupilometria dinâmica, isto é, o registro da reação da pupila à luz, tem o potencial para ser uma ferramenta simples e barata de avaliação e detecção precoce da neuropatia autonômica diabética.

Além disso, atualmente não existem instrumentos comerciais não-invasivos para o monitoramento direto e contínuo da glicose sangüínea. Principalmente, devido à falta de um sensor para a medição *in vivo* de glicose que seja de baixo custo, com altas durabilidade e confiabilidade. Esta lacuna tecnológica tem conseqüências diretas no dia-a-dia do indivíduo portador de DM (GARCIA, 2001). Por exemplo, a existência de um instrumento teria efeitos positivos em termos psicológicos, pois o portador de DM perceberia de imediato o resultado do controle alimentar e comportamental; o portador de DM poderia estabelecer com maior facilidade a relação entre os sintomas e as alterações glicêmicas; o desconhecimento exato da curva de comportamento diário dos níveis de glicemia no paciente, impede cálculo exato da dose de insulina necessária para a manutenção da glicemia nos níveis normais.

O ideal seria que a insulina fosse injetada continuamente na corrente sangüínea, a partir de um reservatório acoplado ao paciente, com sua administração variada em tempo real conforme níveis de glicemia. Um sistema desse tipo poderia ser referido como sendo um pâncreas artificial. Embora existam várias pesquisas sendo feitas com esse objetivo, ainda não existe um pâncreas artificial, principalmente devido às dificuldades na monitoração contínua e não invasiva da glicemia.

Enquanto a tecnologia médica não atinge o estágio do pâncreas artificial, alternativas estão sendo propostas para minimizar os problemas dos diabéticos. Um aparelho não-invasivo teria as seguintes vantagens sobre as atuais formas de controle de glicemia (PUIG, 1995): menos doloroso; minimiza o risco de infecções no local de coleta da amostra de sangue; efeitos psicológicos positivos, ao evitar a extração de sangue a cada procedimento de medida da glicemia.

Assim, a busca por métodos não-invasivos capazes de medir a taxa de glicose sangüínea, detectar e avaliar a neuropatia diabética não se justifica apenas na obtenção de uma qualidade de vida para o diabético, mas também, na evolução da pesquisa e da terapêutica do DM.

### 1.3 OBJETIVOS

De forma geral, a pesquisa aqui descrita busca testar duas hipóteses:

- É possível detectar, e avaliar ou mesmo correlacionar as neuropatias autonômicas, especificamente, neuropatia periférica diabética e neuropatia autonômica cardíaca, com parâmetros utilizados na avaliação do desempenho da função pupilar obtidos a partir da resposta temporal da pupila a estímulos de luz?
- É possível correlacionar a glicemia atual com parâmetros utilizados na avaliação do desempenho da função pupilar obtidos com estímulos de luz?

Os objetivos específicos do trabalho são:

- Projetar, construir e testar um sistema de imagem capaz de registrar imagens da pupila com iluminação infra-vermelha (IV) em uma câmera visualmente escura, isto é, sem iluminação externa, e dentro dos limites de segurança visual;
- Projetar, construir e testar um sistema de estimulação da pupila humana, com um ou vários *flashes* de luz de duração e ciclo de trabalho ajustáveis e dentro dos limites de segurança visual;
- Implementar, testar e validar um programa de processamento de imagens capaz de processar quadro a quadro e de forma automática as

imagens da pupila, determinando em cada quadro o diâmetro da íris e da pupila;

- Validar o sistema de estimulação, iluminação e processamento de imagens, determinando o erro e a repetibilidade da medida dos raios da íris e da pupila;
- Analisar o efeito da idade no reflexo pupilar a luz;
- Correlacionar os resultados das medições realizadas com a avaliação clínica dos pacientes;
- Analisar a resposta da pupila a um *flash* durante o grampeamento da glicose sangüínea, objetivando estabelecer correlações entre alterações da resposta da pupila e níveis glicêmicos.

## CAPÍTULO 2

### OLHO HUMANO

Os olhos fazem parte dos órgãos dos sentidos. Nos invertebrados evoluíram a partir de pontos primitivos sensíveis à luz. Dentro do seu invólucro protetor, cada olho contém uma camada de receptores, uma lente que focaliza a luz nesses receptores e um sistema de nervos que conduz impulsos dos receptores ao cérebro (GANONG, 2000).

#### 2.1 CONSIDERAÇÕES ANATÔMICAS

As principais estruturas do olho são apresentadas na Figura 1. A camada protetora externa do globo ocular, a *esclera*, modifica-se anteriormente para formar a córnea transparente, através da qual os raios de luz penetram no olho. Por dentro da esclerótica encontra-se a *coróide*, uma camada com muitos vasos sanguíneos que nutrem as estruturas do globo ocular. Os dois terços posteriores da coróide são recobertos internamente pela *retina*, o tecido neural que contém as células receptoras fotossensíveis.

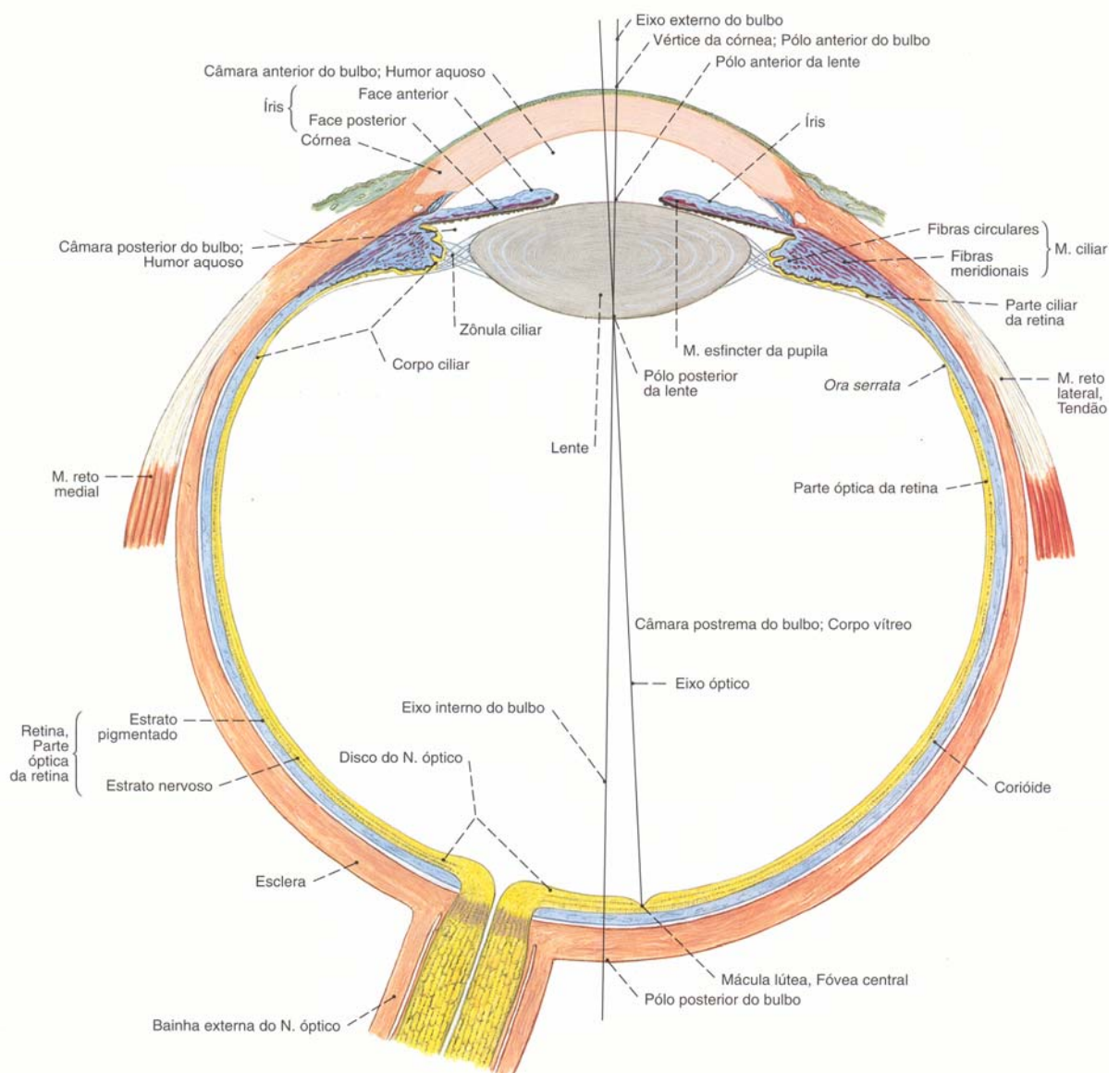
O *crystalino* é uma estrutura transparente de formato circular fixada pelo *ligamento do cristalino (zônula ciliar)*. A zônula ciliar está ligada à porção anterior espessada da coróide, o corpo ciliar, o qual contém fibras musculares circulares e longitudinais que se fixam próximo à junção da córnea com a esclerótica. À frente do cristalino encontra-se a *íris*, uma estrutura opaca, que é a porção pigmentada do olho. A porção central da íris recebe o nome de pupila.

A íris contém fibras musculares lisas que se dispõem em diferentes sentidos. Um grupo dessas fibras forma círculos concêntricos a partir da pupila, levando o nome de *esfíncter da pupila*. O esfíncter da pupila recebe inervação parassimpática e a contração de suas fibras determina *miose*, que é a constrição da pupila, causada por iluminação intensa. Outro grupo de fibras musculares lisas dispõe-se de forma radiada e constituem o músculo *dilatador da pupila*, o qual recebe inervação simpática e sua

contração recebe o nome de *midríase*, ou seja, dilatação da pupila, causada por iluminação fraca (CASTRO, 1985).

O espaço situado entre o cristalino e a retina é preenchido primariamente por um material gelatinoso claro denominado *vítreo* ou *humor vítreo*. O *humor aquoso*, um líquido transparente, é produzido no corpo ciliar por difusão e transporte ativo, e flui pela pupila para preencher a câmara anterior do olho.

O nervo oculomotor é o principal nervo motor dos músculos oculares. Ele é responsável pela acomodação (músculo ciliar) e miose (esfíncter da pupila). Já o nervo óptico é um trato de fibras que conecta a retina ao encéfalo (GARDNER et al., 1988).



**Figura 1** : Bulbo do Olho; Corte horizontal esquemático ao nível da saída do nervo óptico (M – músculo e N - nervo). Adaptado de Sobotta (2000).

## 2.2 REGULAÇÃO FUNCIONAL

### 2.2.1 Acomodação

Em indivíduos emétopes e com os músculos ciliares relaxados, os raios luminosos que estão em paralelo com o eixo externo do bulbo são focalizados na retina. Enquanto esse relaxamento é mantido, os raios provenientes de objetos situados a uma distância menor que 6 metros do observador são focalizados atrás da retina e, conseqüentemente, esses objetos aparecem embaçados. O problema de focalizar na retina os raios divergentes de objetos próximos pode ser resolvido aumentando-se a distância entre o cristalino e a retina, ou a curvatura, ou ainda o poder de refração do cristalino. Nos peixes ósseos, o problema é resolvido pelo aumento do comprimento do globo ocular. No caso de câmeras de vídeo as imagens de objetos próximos são focalizados sobre o filme aumentando-se a distância entre a lente e o filme. Nos mamíferos, contudo, o problema é resolvido pelo aumento da curvatura do cristalino.

O processo pelo qual a curvatura do cristalino é aumentada denomina-se acomodação. Em repouso, o cristalino é mantido sob tensão pelos ligamentos do cristalino. Como a substância do cristalino é maleável e sua cápsula é dotada de considerável elasticidade, o cristalino assume forma plana. Quando o olhar é dirigido para um objeto próximo, ocorre contração do músculo ciliar, o que diminui a distância entre as bordas do corpo ciliar e relaxa os ligamentos do cristalino, de modo que o cristalino assume uma forma mais convexa. O relaxamento dos ligamentos do cristalino produzido pela contração do músculo ciliar deve-se em parte à ação das fibras musculares circulares, as quais são semelhantes a um esfíncter no corpo ciliar, e em parte à contração de fibras musculares longitudinais que se fixam anteriormente, próximo a junção da córnea com a esclerótica. Quando essas fibras se contraem, elas empurram o corpo ciliar para frente e para dentro, movimento que aproxima as bordas do corpo ciliar.

A mudança na curvatura do cristalino durante a acomodação atinge principalmente sua superfície anterior, o que se pode demonstrar por um experimento simples, descrito pela primeira vez há muitos anos. Se um observador segura um objeto diante dos olhos de um indivíduo que está olhando algo distante, três reflexões

do objeto são visíveis no olho do indivíduo: uma pequena imagem clara, de cabeça para cima, é refletida da córnea; uma imagem maior e mais apagada, de cabeça para cima, é refletida da superfície anterior do cristalino; e uma pequena imagem invertida é refletida da superfície posterior do cristalino. Se o indivíduo passa a focalizar um objeto próximo, a imagem grande e apagada de cabeça para cima torna-se menor e move-se em direção a outra imagem de cabeça para cima, enquanto a terceira imagem sofre pouca alteração. A mudança no tamanho da segunda imagem deve-se a um aumento na curvatura da superfície anterior do cristalino. O fato da imagem pequena de cabeça para cima não sofrer mudança alguma, enquanto a imagem invertida modifica-se muito pouco, mostra que a curvatura da córnea não se modifica e a da superfície posterior do cristalino muda muito pouco durante a acomodação.

### 2.2.2 Reflexo Pupilar à Luz

O reflexo da pupila à luz tem por função ajudar o olho a adaptar-se rapidamente a variações de luminosidade (GUYTON, 1988). Portanto, trata-se de uma reação da pupila à luz. O reflexo pupilar ocorre quando a acetilcolina (ACh) age nos receptores muscarínicos dos músculos do esfíncter da pupila, produzindo a miose ou contração da pupila. O músculo dilatador da pupila tem a função oposta. O neurotransmissor liberado na junção neuromuscular do músculo dilatador é a noradrenalina (Nor), a qual atua sobre os receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, contraindo o músculo dilatador e causando a midríase ou dilatação da pupila. Durante a miose, a ACh é secretada também no músculo dilatador, inibindo a atividade da Nor. Por isso, a mudança no tamanho da pupila em resposta ao estímulo de luz é baseada no equilíbrio funcional entre o sistema nervoso parassimpático e simpático (isto é, equilíbrio entre ACh e Nor, respectivamente).

A princípio, portanto, a reação da pupila à luz pode ser usada tanto para testar as estruturas do sistema nervoso autônomo como, nos casos em que as estruturas periféricas estão intactas, acessar as funções da ACh e Nor no sistema nervoso central (FOTIOU, 2000).

### 2.2.3 Adaptação à Intensidade de Luz

A permanência de um indivíduo em ambiente intensamente iluminado, durante longo período de tempo, faz com que grande quantidade de substâncias fotoquímicas, tanto nos cones como nos bastonetes, sejam reduzidas aos compostos fotossensíveis: retineno e opsina. Além disso, grande parte do retineno dos cones e bastonetes é convertido em vitamina A. Por causa destes dois efeitos, as concentrações de substâncias químicas fotossensíveis sofrem considerável redução, e o olho então se acomoda ao novo limiar de brilho (GONZALEZ e WOODS, 2008). A isso se chama adaptação ao claro.

Por outro lado, se o indivíduo permanecer na escuridão por muito tempo, praticamente todo retineno e opsina dos cones e bastonetes são convertidos em pigmentos fotossensíveis. Além disso, grandes quantidades de vitamina A são convertidas em retineno, que então é transformado em pigmentos fotossensíveis adicionais, sendo o limite final determinado pela quantidade de opsina nos cones e bastonetes. Devido a esses dois efeitos, os receptores visuais tornam-se gradualmente tão sensíveis que quantidades mínimas de luz produzem excitação. Isto se denomina adaptação ao escuro.





## CAPÍTULO 3

### METABOLISMO ENERGÉTICO

#### 3.1 OXIDAÇÃO DA GLICOSE

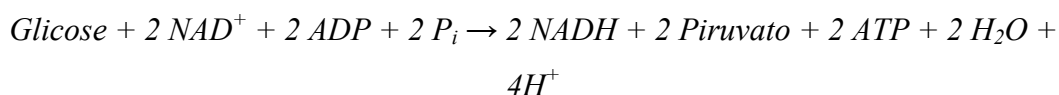
A energia utilizada no metabolismo cerebral provém quase que inteiramente da oxidação aeróbica da glicose. Esse processo ocorre de maneira controlada, ao longo de três etapas: glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa.

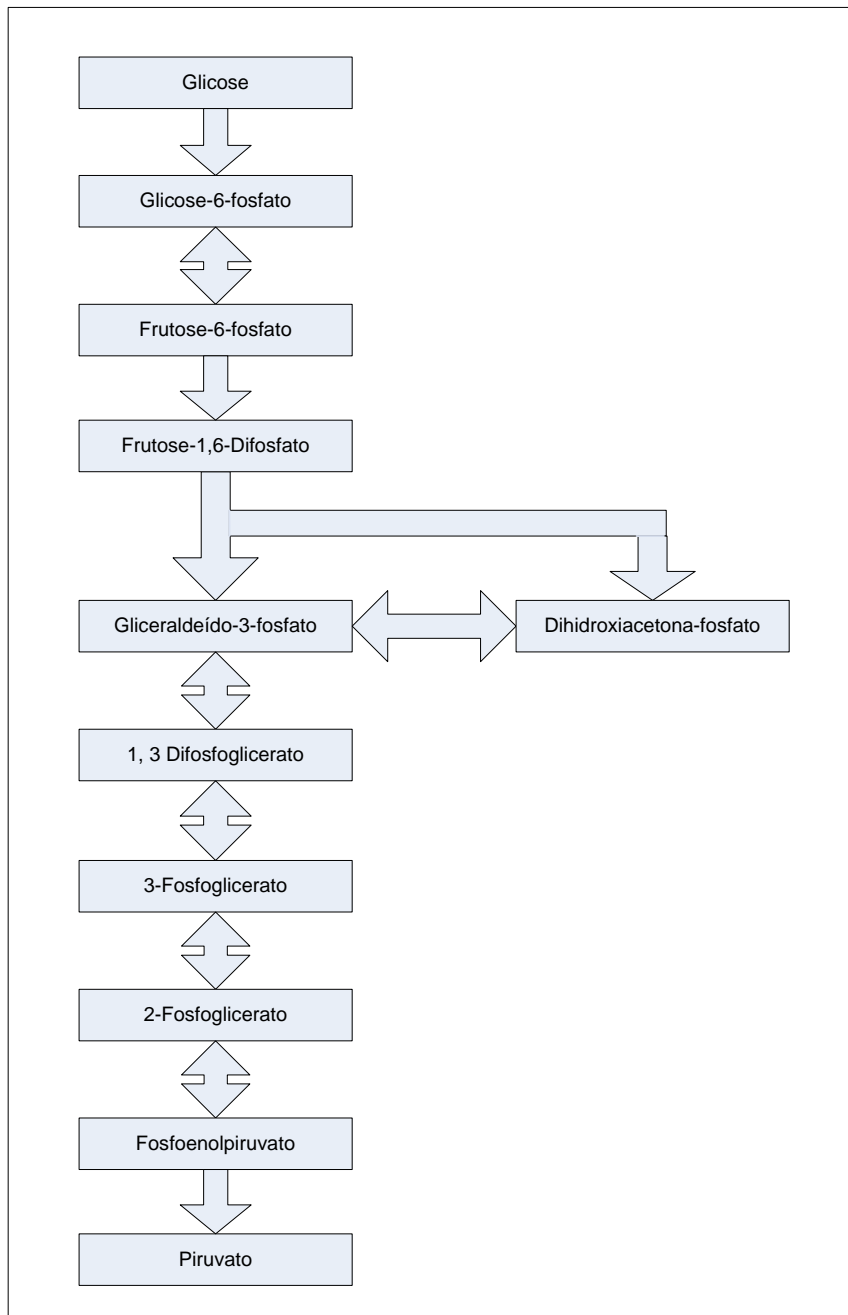
A primeira, a glicólise, é a via a partir da qual a glicose é convertida em piruvato ao longo de dez reações enzimáticas, com geração de duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato) para cada molécula de glicose. Esta seqüência de reações é provavelmente a via metabólica mais bem compreendida, e junto com o ciclo do ácido cítrico, possui papel central em todo o metabolismo celular (VOET e VOET, 1995).

A Figura 2 mostra o resumo esquemático do metabolismo da glicose na célula.

Nas primeiras cinco reações da glicólise, a glicose é fosforilada e clivada, ou seja, dividida para produzir duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato. Neste processo são consumidos duas moléculas de ATP, produzidas por dois radicais de fosfato inorgânico ( $P_i$ ) e duas moléculas de difosfato de adenosina (ADP), em uma espécie de “investimento” energético. Nas cinco reações seguintes, cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato é convertida em piruvato, em um processo que produz quatro moléculas de ATP; nesta etapa duas moléculas do agente oxidante  $NAD^+$  (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo) são reduzidas para NADH que, em condições aeróbicas, posteriormente é reciclado na fosforilação oxidativa.

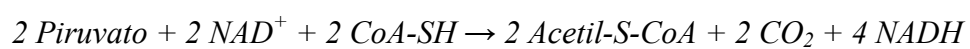
A reação global da glicólise pode ser assim resumida (LEHNINGER et al., 2002):





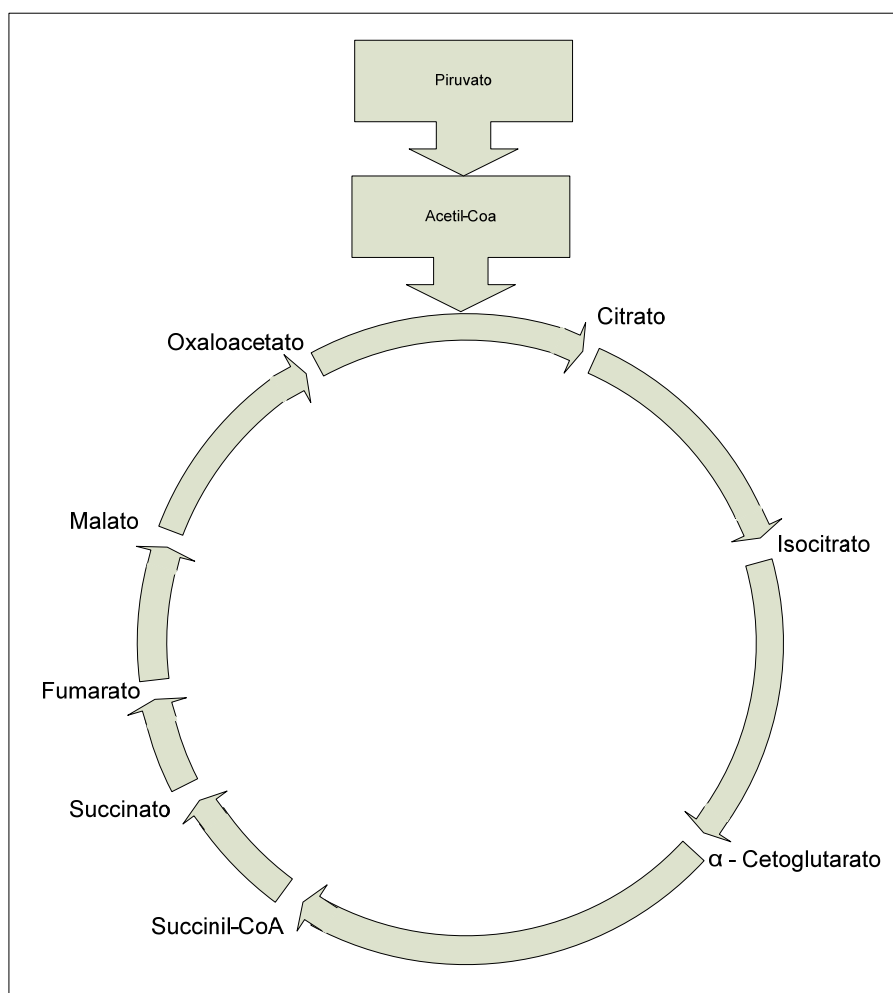
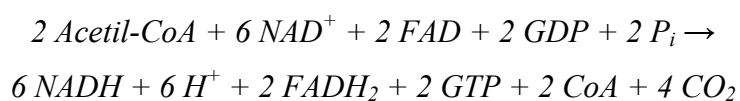
**Figura 2 :** Resumo esquemático da glicólise.

O piruvato produzido na glicólise é convertido pela enzima piruvato desidrogenase no radical acetil, ligado à coenzima-A (CoA ou CoA-SH), na reação (LEHNINGER et al., 2002):



O acetil-CoA, por sua vez, é a porta de entrada para a segunda etapa do processo de oxidação aeróbica da glicose, o ciclo do ácido cítrico, também chamado ciclo do ácido tricarboxílico ou ciclo de Krebs. A Figura 3 mostra as reações enzimáticas que ocorrem no ciclo de Krebs.

O ciclo do ácido cítrico é um conjunto de reações catalisadas por oito enzimas, que ocorre no interior da mitocôndria e que resulta na completa oxidação do radical acetil e na redução de flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) e  $NAD^+$ . A reação global do ciclo do ácido cítrico pode ser resumida (LEHNINGER et al., 2002):

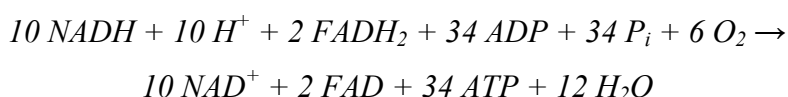


**Figura 3 :** Resumo esquemático das reações enzimáticas que ocorrem no ciclo de Krebs.

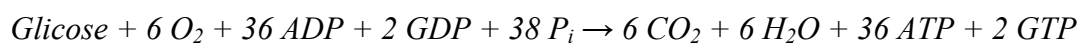
Ao final do ciclo de Krebs, para cada molécula de glicose são produzidos dez  $\text{NAD}^+$ , dez  $\text{H}^+$ , dois  $\text{FADH}_2$  (dinucleotídeo de diidroflavina adenina), dois ATP, dois GTP (trifosfato de guanosina), dois  $\text{H}_2\text{O}$  (água) e seis  $\text{CO}_2$  (gás carbônico). Os compostos  $\text{NADH}$  e  $\text{FADH}_2$  servem como armazenadores de pares eletrônicos.

Na terceira etapa, a fosforilação oxidativa, os pares eletrônicos armazenados nos compostos  $\text{NADH}$  e  $\text{FADH}_2$  são utilizados na redução do  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Cada par armazenado em uma molécula de  $\text{NADH}$  passa sequencialmente por três complexos enzimáticos situados na membrana mitocondrial interna, os complexos I, III e IV. Na passagem de cada um desses complexos, cada par de elétrons desencadeia o bombeamento de um  $\text{H}^+$  para fora da mitocôndria, contra o gradiente de concentração e eletroquímico. Os elétrons armazenados no  $\text{FADH}_2$  passam inicialmente pelo complexo II, que não bombeia  $\text{H}^+$ , e depois pelos complexos III e IV, resultando no bombeamento de dois prótons para fora. No complexo IV, cada par eletrônico reduz  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Os prótons bombeados para fora têm tendência a retornar para dentro da mitocôndria, a favor do gradiente eletroquímico, e o fazem atravessando o complexo V. Essa passagem é acoplada à conversão de difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico ( $\text{P}_i$ ) em ATP.

A reação de fosforilação oxidativa pode ser resumida (LEHNINGER et al., 2002):



E a reação global da oxidação da glicose (LEHNINGER et al., 2002):



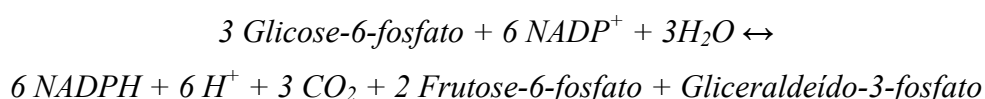
A seqüência de reações acima tem rumo diferente em condições anaeróbicas. Nos mamíferos, o aporte inadequado de oxigênio para as células resulta na paralisação da fosforilação oxidativa e do ciclo de Krebs, com acúmulo de acetil-CoA não metabolizado. Nessa situação, o piruvato resultante da glicólise é direcionado para a produção de lactato pela enzima lactato desidrogenase, com a produção adicional de dois ATP. O lactato produzido é transferido ao fígado pela corrente sanguínea, onde é reconvertido a piruvato, o qual pode ser utilizado tanto para a produção local de

energia pelo ciclo do ácido cítrico, ou para a síntese de glicose no processo de gliconeogênese. Essa glicose pode ser armazenada na forma de um polissacarídeo de cadeia longa, o glicogênio, ou retornar a corrente sanguínea.

### 3.2 VIAS ALTERNATIVAS PARA O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

Diversos processos bioquímicos, especialmente de biossíntese requerem, além de ATP, moléculas com poder redutor. Os sistemas biológicos utilizam para esse fim o composto coenzimático fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH). Apesar da semelhança estrutural, NADPH e NADH são metabolicamente diferentes, e um não substitui o outro. Enquanto o NADH participa da utilização da energia livre para síntese de ATP, o NADPH participa da utilização de energia livre para biossíntese redutiva (processos que de outra forma seriam endergônicos).

O NADPH é gerado quando um intermediário da glicólise, a glicose-6-fosfato, é desviado para outra via metabólica, denominada via do fosfogluconato, embora alguns autores prefiram os termos via das pentoses-fosfato ou desvio da hexose-monofosfato. Essa via é catalisada por sete diferentes enzimas, e resulta na produção de frutose-6-fosfato, que retorna à via glicolítica em uma de suas etapas intermediárias. A reação global pode ser resumida como (LEHNINGER et al., 2002):



A capacidade das enzimas em diferenciar NADH e NADPH é essencial para que a regulação de processos metabólicos de anabolismo e catabolismo ocorram de forma independente, evitando uma desordem bioquímica intracelular.

### 3.3 METABOLISMO DE LIPÍDEOS

Assim como na glicólise, o metabolismo de ácidos graxos também resulta na produção de acetil-CoA, em conjunto de reações conhecida como  $\beta$ -oxidação. O acetil-CoA assim produzido pode entrar no ciclo do ácido cítrico para a produção de energia, mas uma fração considerável é convertida em aceto-acetato e D- $\beta$ -hidroxibutirato. Esses compostos, chamados corpos-cetônicos, são produzidos

principalmente nas mitocôndrias dos hepatócitos e, ao contrário dos ácidos graxos inteiros, são capazes de atravessar a barreira hemato-encefálica. No cérebro são novamente convertidos a acetil-CoA, que é degradado no ciclo do ácido cítrico e contribui para a geração de ATP na fosforilação oxidativa.

O consumo cerebral de corpos cetônicos é uma alternativa que permite o uso de ácidos graxos para a produção de energia pelo tecido cerebral em condições em que o aporte de glicose está comprometido, como na hipoglicemia causada por jejum prolongado ou hiperinsulinemia.

### 3.4 INTEGRAÇÃO DAS VIAS METABÓLICAS

As ilhotas de Langerhans do pâncreas secretam pelo menos quatro hormônios peptídeos. Dois desses hormônios, a insulina e o glucagon, têm funções importantes na regulação do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídeos.

A insulina, produzida pelas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas, é um hormônio anabólico e é responsável pelo armazenamento de glicose, ácidos graxos e aminoácidos. A insulina é necessária para:

- O transporte transmembrana de glicose e aminoácidos;
- A formação de glicogênio no fígado e músculo esquelético;
- A conversão da glicose em triglicerídeos;
- A síntese de ácidos nucleicos e
- A síntese de proteínas.

Sua principal função metabólica consiste em aumentar a velocidade de transporte de glicose para determinadas células do organismo.

Um dos efeitos iniciais importantes da insulina no tecido alvo envolve a translocação de proteínas transportadoras de glicose (GLUT) do aparelho de Golgi para a membrana plasmática, facilitando, assim, a captação celular da glicose. Existem várias formas diferentes de GLUT, que diferem na sua distribuição tecidual, afinidade pela glicose e sensibilidade à estimulação da insulina. A GLUT-4, presente no tecido muscular estriado e adiposo, constitui-se no principal transportador regulado pela insulina. Por outro lado, a GLUT-2, encontrada nos hepatócitos e nas células  $\beta$  do pâncreas, não depende da insulina e serve para facilitar o rápido equilíbrio da

glicose entre os compartimentos extracelular e intracelular. Por conseguinte, enquanto os tecidos periféricos utilizam a GLUT-4 para extrair a glicose do sangue, a GLUT-2 atua primariamente como veículo para a operação pancreática e hepática do equilíbrio insulina-glicose.

Já o glucagon, produzido pelas células  $\alpha$  das ilhotas pancreáticas e pelo trato gastrintestinal superior, tem ação essencialmente antagônica à insulina. Este hormônio estimula a quebra dos nutrientes armazenados a fim de prover substrato energético para todos os tecidos durante as fases de jejum ao longo do dia. O principal alvo da ação do glucagon é o fígado, uma vez que os músculos e o tecido adiposo não possuem as enzimas necessárias para a liberação na corrente sanguínea da glicose proveniente da quebra das suas reservas. No fígado, o glucagon aumenta – em questão de minutos – a entrada de aminoácidos, a glicogenólise e a degradação de proteínas. Estimula também a lipólise no tecido adiposo e a quebra proteica nos músculos (CRYER et al., 2003).

Muitos hormônios, além da insulina e do glucagon, também desempenham papel importante na regulação do metabolismo dos carboidratos como as catecolaminas, os hormônios tireoideanos, glicocorticóides supra-renais e o hormônio do crescimento.





## CAPÍTULO 4

### DIABETES MELLITUS

#### 4.1 CONCEITO E EPIDEMOLOGIA

Diabetes mellitus (DM) é uma das doenças endócrinas mais comuns em todas as populações de todos os grupos de idade. É uma síndrome causada por uma secreção inadequada de insulina, uma ação deficiente deste hormônio ou por ambos os mecanismos (MADRUP-POULSEN, 1998). A insulina é o principal hormônio anabólico responsável pela síntese de carboidratos, lipídios e proteínas. Assim, uma deficiência na ação deste hormônio acarreta uma disfunção geral no metabolismo energético do indivíduo.

O número total de pessoas com diabetes no mundo foi estimado em torno de 171 milhões em 2000 e a previsão para 2030 é de 366 milhões, se a prevalência de obesidade se mantiverem constantes. Embora a prevalência seja maior para homens, há mais mulheres com diabetes que homens. Isto pode ser explicado pelo efeito de um maior número de mulheres idosas na maioria das populações e também pelo aumento da prevalência de diabetes em homens com idade menor que 60 anos (WILD et al., 2004).

#### 4.2 CLASSIFICAÇÃO

A antiga classificação do DM era baseada no grau de dependência de insulina. Havia o diabético insulino-dependente e o não-insulino-dependente. Um novo critério de divisão que vem sendo adotado é baseado na patogênese, determinando quatro grupos (WAREHAM e O'RAHILLY, 1998):

- Tipo 1: disfunções de causa imunológicas ou idiopáticas das células  $\beta$  pancreáticas, que concorrem normalmente para uma deficiência absoluta de insulina;

- Tipo 2: originada de uma resistência periférica à ação da insulina e por uma deficiência relativa de insulina ou causada por um defeito na secreção pancreática;
- Tipo 3: diabetes secundário a outras condições, tais como doenças do pâncreas, doenças hormonais, síndromes genéticas ou efeito de drogas, agentes químicos e toxinas (KARAM, 1994);
- Tipo 4: diabetes gestacional.

Embora as classificações mais recentes reconheçam a existência de novos tipos de diabetes, a grande maioria dos pacientes se enquadra nos grupos 1 e 2, sendo o Tipo 2 responsável por 90% dos casos. A Tabela 1 apresenta as principais diferenças entre o diabetes Tipo 1 e Tipo 2.

**Tabela 1:** Diferenças entre o diabetes tipo 1 e 2 (COTRAN et al., 2000).

	DM Tipo 1	DM Tipo 2
Clínica	Início < 20 anos	Início > 30 anos
	Peso normal	Obeso
	Diminuição da insulina no sangue	Insulina normal ou aumentada no sangue
	Anticorpos anticélulas das ilhotas	Ausência de anticorpos anticélulas das ilhotas
	Cetoacidose comum	Cetoacidose rara
Genética	50% de concordância em gêmeos	90 a 100% de concordância em gêmeos
	Ligado ao sistema de histocompatibilidade humano (HLA-D)	Nenhuma associação ao HLA
Patogenia	Auto-imunidade, mecanismos imunopatológicos	Resistência à insulina
	Grave deficiência de insulina	Deficiência relativa de insulina
Células das ilhotas de Langerhans	Insulite precoce	Ausência de insulite
	Acentuada atrofia e fibrose	Atrofia focal e depósitos amilóides
	Depleção das células $\beta$	Depleção leve das células $\beta$

Ressalta-se que, embora os tipos de diabetes tenham mecanismos patogênicos diferentes, as complicações em longo prazo nos vasos sanguíneos, rins, olhos e nervos são as mesmas e constituem as principais causas de morbidade e mortalidade no diabetes (COTRAN et al., 2000).

### 4.3 SINAIS E SINTOMAS

A Tabela 2 lista os sinais e sintomas do DM que têm como causa principal a hiperglicemia.

**Tabela 2 :** Sinais e sintomas do DM (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001; GANONG, 2000).

Sintoma/Sinal	Descrição	Causa
Glicosúria	Presença significativa de glicose na urina	O excesso de glicose presente no sangue é eliminado pelos rins
Poliúria	Volume urinário acima do normal	O efeito osmótico da glicose nos rins impede a reabsorção de líquido
Polidipsia	Consumo de água acima do normal	Ocorre devido à desidratação provocada pela poliúria
Astenia	Fraqueza (falta de ânimo)	Aparentemente é causada pela perda de proteínas do corpo, que são consumidas no lugar da glicose, e pela falta de glicose intracelular
Polifagia	Consumo de alimentos acima do normal	Causada pela utilização ineficiente da glicose pelo organismo
Hálito cetônico	Halitose	A utilização de lipídios para o fornecimento de energia eleva o nível de corpos cetônicos que são eliminados pela respiração.
Cetonúria	Presença significativa de cetona na urina	A cetona produzida também pode ser eliminada pela urina

### 4.4 COMPLICAÇÕES

As conseqüências para organismo de valores anormais de glicemia são classificadas como complicações agudas e crônicas.

As complicações agudas, listadas na Tabela 3, ocorrem por dois motivos: valores muito elevados de glicemia (hiperglicemia) ou valores muito baixos (hipoglicemia). No primeiro caso pode ocorrer a cetoacidose, decorrente do envolvimento de proteínas e gorduras para a obtenção de energia, e a desidratação do corpo, devido ao aumento da osmolaridade do sangue e conseqüente eliminação de líquidos por função dos rins. No caso da hipoglicemia, com o cérebro sem energia, cuja principal fonte é a glicose, as conseqüências são tonturas, distúrbios de comportamento, perda de consciência. Em ambos os casos, se não houver tratamento

em tempo, as complicações podem levar ao coma e à morte (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996; DCCT, 1993).

**Tabela 3 :** Complicações agudas devido ao diabetes (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001).

Complicação	Causa	Sintomas	Prognóstico se não for tratada
Cetoacidose Diabética	A deficiência de insulina provoca a utilização de lipídeos no lugar de glicose, o que eleva a acidez dos líquidos corporais (acidose)	Poliúria, polidipsia, náuseas, vômito, anorexia, hálito cetônico, respiração rápida e profunda, dor abdominal	Perda de consciência, coma, morte
Síndrome Hiperosmolar Não-cetótica	A desidratação profunda que decorre da diurese hiperglicêmica	Poliúria, polidipsia, náuseas, vômito, anorexia	Obnubilação (lentificação do raciocínio) até coma
Hipoglicemia	Superdosagem de insulina, administração em horário impróprio, falta ou pouca alimentação, prática de exercício intenso, consumo de álcool	Tremores, sudorese, astenia, confusão mental	Perda de consciência. Convulsões, coma, lesões irreversíveis no sistema nervoso central, morte

As complicações crônicas são devidas a um longo período com níveis elevados de glicemia, que implicam em degeneração progressiva e falência de vários órgãos, como: rins, olhos, coração, etc. (DCCT, 1993; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; LACERDA, 1988). As complicações crônicas podem ser divididas em três grupos: doença microvascular, macrovascular e neuropática. As anormalidades microvasculares consistem em cicatrizes proliferativas da retina (retinopatia diabética) e doença renal (nefropatia diabética). As anormalidades macrovasculares são caracterizadas por aterosclerose acelerada, com aumento da incidência de acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio. As anormalidades neuropáticas (neuropatia diabética) afetam o sistema nervoso autônomo e os nervos periféricos. A neuropatia associada à insuficiência circulatória aterosclerótica nas extremidades e a menor resistência a infecções podem resultar em ulceração crônica e gangrena, particularmente nos pés.

A Tabela 4 apresenta um resumo das complicações crônicas apresentadas da diabetes.

**Tabela 4 :** Complicações crônicas devido ao diabetes (COTRAN et al., 2000; BRAUNWALD et al., 2001).

Complicação	Causa	Sintomas	Prognóstico se não for tratada
Retinopatia	Lesões e rompimento dos vasos capilares da retina	Problemas de visão	Cegueira
Nefropatia	Lesões e rompimento dos vasos capilares dos rins	Eliminação anormal de albumina na urina e retenção de uréia e creatinina	Insuficiência renal parcial ou total
Macroangiopatia	Alterações nos vasos arteriais	Dores e ferimentos que não cicatrizam	Infarto, derrame, gangrena
Neuropatia sensorial ou periférica	Lesões nos neurônios constituintes dos nervos do sistema nervoso periférico	Diminuição da capacidade sensorial	Insensibilidade da região afetada
Neuropatia autonômica ou visceral	Lesões nos neurônios constituintes dos nervos do sistema nervoso autônomo	Hipotensão arterial; problemas digestivos, incontinência urinária	Problemas cardíacos, impotência sexual

#### 4.5 TRATAMENTO

Os objetivos do tratamento para pacientes diabéticos tipo 1 ou tipo 2 são: eliminar sintomas relacionados à hiperglicemia, reduzir ou eliminar as complicações crônicas (microvasculares e macrovasculares) e permitir ao paciente alcançar uma qualidade de vida mais próximo possível do normal. Para atingir esses objetivos, os médicos devem identificar o nível do controle glicêmico para cada paciente. Além disso, os médicos devem indicar ao paciente os recursos educacionais e farmacológicos necessários para que o paciente alcance o nível glicêmico normal e monitorar/tratar as complicações relacionadas ao diabetes mellitus (BRAUNWALD et al, 2001).

## 4.6 SISTEMAS DE MONITORAÇÃO DE GLICEMIA

Com a necessidade de manter rigorosamente a glicemia em valores normais foram desenvolvidos equipamentos portáteis. Estes aparelhos, de acordo com o método de operação, são classificados em invasivos, semi-invasivos e não-invasivos.

### 4.6.1 Método Invasivo

Este método, como o nome já diz, é invasivo e, portanto, agressivo ao organismo. A determinação da glicemia, por este método, geralmente é realizada por meio da análise de uma gota de sangue, extraída com a ajuda de uma agulha.

Os aparelhos utilizados para este fim, denominados de glicosímetros, são bastante difundidos no mercado. Os glicosímetros utilizam em geral uma tira reagente. Esta tira reagente é acoplada a um aparelho eletro-eletrônico, e o valor de glicemia pode ser medido através de dois métodos: fotometria ou eletroquímica. Através da fotometria, a cor produzida na tira reagente é associada a um nível de glicemia. Já a eletroquímica, a glicose do sangue reage com uma substância da tira e então é gerada uma corrente elétrica proporcional à glicemia.

Os pontos negativos deste método são a agressividade e o relativo alto custo das tiras reagentes. Um diabético que necessite de três leituras diárias gasta aproximadamente R\$ 160,00 por mês, somente com as tiras reagentes.

### 4.6.2 Método Semi-Invasivo

Os métodos semi-invasivos, ou menos invasivos, utilizam amostra de sangue ou líquido intersticial (líquido que circunda as células do corpo) em volumes muito menores que aqueles utilizados nos métodos invasivos (McGARRAUGH et al., 2004). A coleta da amostra é feita por intermédio de um sensor implantado sob a pele ou por alguma técnica que a extraia da pele. A determinação da glicemia é feita do mesmo modo que os outros métodos invasivos: uma reação eletroquímica é desencadeada e o resultado é uma grandeza que pode ser convertida para valores de glicemia.

Os sensores implantados sob a pele podem executar automaticamente várias medições durante o dia, sendo denominados de monitores contínuos. As desvantagens são os problemas com biocompatibilidade e a necessidade de trocar o sensor

periodicamente. Aparentemente, no futuro esta técnica poderá ser um sistema que meça a glicemia e em função do valor atue com a injeção de insulina, ou outro medicamento.

Quando a amostra precisa ser extraída da pele é necessária uma pequena abertura na pele. Essa pequena abertura é feita por: processo de sucção, reação química, laser, agulha muito fina ou pulsos elétricos. Os locais do corpo para a extração são variados, o antebraço é um exemplo. A amostra pode ser analisada em dispositivos portáteis ou por um sensor aderido no local, para monitoração contínua.

De forma geral, os resultados obtidos com os métodos semi-invasivos são bons. Porém em certos métodos é necessária uma calibração diária, principalmente para os níveis baixos de glicose onde a incerteza é maior (TAMADA et al., 1999). Um problema apontado em estudos é que mudanças na glicemia são mais rapidamente detectadas no sangue capilar do dedo do que no sangue do antebraço e em amostras do fluido intersticial (McGARRAUGH et al., 2004; DETCHER et al., 1999).

#### 4.6.3 Método Não-Invasivo

Os métodos não-invasivos, além de propriedades do sangue, utilizam para medir a glicose: fluído intersticial, suor, saliva, lágrimas e líquidos oculares. Alguns dos locais sendo explorados são: lábio, olho, antebraço, cutícula, orelha, etc. (WAYNANT e CHENAULT, 1998). As técnicas em desenvolvimento são classificadas como métodos ópticos de medição.

Nos métodos ópticos, um feixe de luz com características específicas é direcionado para alguma parte do corpo. O espectro da luz refletida é função da espessura, cor e estrutura da pele, sangue, gordura e de todas as demais estruturas percorridas pela luz.

O nível de glicose pode ser estimado analisando as mudanças do sinal de luz, que, dependendo da técnica, pode modificar o comprimento de onda, o estado da polarização, a refração, a intensidade e outras características do espectro (WAYNANT e CHENAULT, 1998; McNICHOLS, CAMERON e COTE, 1998; JANG e FOX, 1998; BURMEISTER e ARNOLD, 1998). A conversão para valores de glicemia é feita por análise de regressão multivariável, levando em conta a concentração da amostra, condições fisiológicas e outros fatores específicos de cada método (WAYNANT e CHENAULT, 1998).



Os problemas associados aos métodos ópticos são:

- A qualidade dos resultados depende da concentração do fluido sob investigação. Essa concentração não é constante (WAYNANT e CHENAULT, 1998).
- Junto com a glicose outras substâncias também são encontradas. Algumas dessas substâncias também afetam o resultado (WAYNANT e CHENAULT, 1998; BURMEISTER e ARNOLD, 1998).
- Dependendo do local de análise, as variações do nível de glicose não surgem ao mesmo tempo que no sangue (JANG e FOX, 1998; LAMBERT, STORRIE-LOMBARDI e BORCHERT, 1998).
- Técnicas que utilizam laser ainda não são seguras para os olhos humanos (JANG e FOX, 1998; LAMBERT, STORRIE-LOMBARDI e BORCHERT, 1998).
- Temperatura do corpo e condições ambientais são fontes de incertezas para muitos dos métodos (WAYNANT e CHENAULT, 1998; BURMEISTER e ARNOLD, 1998; KLONOFF, 1998).

#### 4.7 TESTES CLÍNICOS PARA A AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA

A disfunção do sistema nervoso autônomo é uma complicação séria e muito prevalente em pacientes diabéticos. Entre as principais alterações clínicas da neuropatia autonômica diabética (NAD) estão as funções cardiovascular, gastrointestinal e genitourinária, e a resposta pupilar.

A seguir são apresentados os testes recomendados por Vinik et al. (2003) para avaliar a função autonômica. São testes não-invasivos, alguns dos quais podem ser realizados à beira do leito.

- Avaliação da Função Autonômica Cardiovascular

A neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) resulta de danos das fibras nervosas autonômicas que inervam os vasos sanguíneos e regulam a atividade cardíaca, resultando em anormalidade no controle da frequência cardíaca e dinâmica vascular.

As principais manifestações clínicas da NAC são intolerância a exercícios físicos, hipotensão postural ou ortostática, isto é, queda da pressão arterial quando o indivíduo assume a posição ereta, taquicardia ao repouso e isquemia miocárdica silenciosa.

Ewing et al. (1985) propuseram o uso de cinco testes não-invasivos para avaliação de reflexos cardiovasculares, sendo três para a avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (manobra de Valsalva, inspiração profunda, e efeito postural) e dois para a avaliação da pressão arterial (efeitos postural e de contração muscular sustentada).

- Avaliação da Função Autonômica Gastrointestinal

Sintomas gastrointestinais são comuns em pacientes com diabetes e ocasionalmente refletem a presença de neuropatia autonômica gastrointestinal diabética (NAG) subjacente (FARUP et al., 1998). A NAG pode ser categorizada de acordo com a porção do trato gastrintestinal afetado, e as principais manifestações incluem hipotonia do esfíncter esofágico inferior, gastroparesia, incontinência fecal, e hipotonia da vesícula biliar. A NAG pode ainda resultar em diminuição da peristalse esofágica e intestinal, levando à constipação e diarreia por hiperproliferação bacteriana.

A avaliação do paciente com suspeita de gastroparesia diabética deve incluir análise do controle glicêmico, histórico de medicamentos utilizados, gastroduodenoscopia, manometria anorectal, cintilografia e eletrogastrografia.

- Avaliação da Função Autonômica Genitourinária

A disfunção autonômica genitourinária inclui os órgãos reprodutivos e o sistema urinário, e os primeiros sinais são hipotonia vesical, com retenção urinária e aumento da capacidade volumétrica da bexiga. Em homens, os sinais incluem ainda disfunção erétil e ejaculação precoce. Em mulheres, incluem dispareunia, diminuição da libido e da lubrificação vaginal (ENZLIN et al., 1998).

A avaliação da disfunção autonômica genitourinária deve incluir estudo da função renal, do controle glicêmico, hormonal e psicológico, além do histórico do uso de medicamentos e atividade sexual.

- Avaliação da Função Pupilar

O teste utilizado para avaliar a função pupilar é a pupilometria (discutida no Capítulo 5). Pacientes com NAD mostram atrasos na resposta do reflexo à luz e diâmetro pupilar em repouso menor, devido à diminuição da atividade simpática (PITTASCH et al., 2002; DÜTSCH et al., 2004).

## CAPÍTULO 5

### PUPILOMETRIA

A pupilometria é uma técnica que consiste em estudar o comportamento da pupila. E atualmente, essa técnica é uma das mais utilizada para avaliar o sistema nervoso autônomo, isto é, o registro da reação da pupila à luz. O tamanho da pupila em repouso é um indicativo da atividade simpática, enquanto que a mudança no tamanho da pupila em resposta a um breve estímulo de luz é dependente da atividade parassimpática. Assim, a mudança no tamanho da pupila em resposta ao estímulo de luz é baseada no equilíbrio funcional entre o sistema nervoso simpático e parassimpático (FOTIOU et al., 2000).

A avaliação do tamanho, da simetria da pupila e da reação pupilar são imprescindíveis no exame neurológico de um paciente, pois as mudanças do tamanho pupilar, assimetria e da reação fraca ou ausente podem indicar lesões do sistema nervoso central (MEEKER et al., 2005).

Existem dois tipos de pupilômetros: estático e dinâmico. O pupilômetro estático mede somente o diâmetro da pupila e não estimula a reação pupilar. Já o pupilômetro dinâmico estimula a pupila com um *flash* de luz de intensidade e duração fixas.

Meeker et al. (2005) fizeram uma comparação entre o uso de pupilômetros (estático e dinâmico) e o exame manual, além de analisar a variabilidade do exame manual e pupilométrico em relação ao tamanho da pupila e a habilidade de detectar a reação pupilar. Os resultados demonstraram que o erro foi maior na medida do diâmetro da pupila pelo exame manual que na medida feita pelo pupilômetro. Duas fontes de imprecisão das medidas pupilares manuais são: a dificuldade em obter-se uma medida exata devido ao *hippus* pupilar e a inconsistência da medida do diâmetro da pupila entre examinadores. Portanto, o pupilômetro serve como um padrão quantitativo que soluciona ambos os problemas.

## 5.1 APLICAÇÕES

A pupilometria tem sido uma importante técnica utilizada para pesquisas de várias doenças como depressão, Alzheimer, Diabetes mellitus, alcoolismo, miastenia grave, câncer, esclerose múltipla entre outras.

A seguir são apresentados alguns trabalhos mais recentes que tiveram como objetivo específico verificar as alterações da resposta temporal da pupila a um estímulo de luz em pacientes portadores de Diabetes mellitus. Nestes trabalhos, em geral, mediu-se o tamanho da pupila antes e depois do estímulo.

- EPPENS et al. (2006)

Eppens et al. (*Prevalence of Diabetes Complications in Adolescents with Type 2 Compared with Type 1*) fizeram a comparação da prevalência das complicações do Diabetes Mellitus e seus fatores de risco entre 1.433 adolescentes portadores de DM Tipo 1 e 68 adolescentes portadores de DM Tipo 2.

O estudo clínico dos pacientes contou com as análises: da presença de retinopatia, neuropatia periférica e autonômica; e da taxa de excreção de albumina. Para o estudo da presença de neuropatia autonômica foi utilizada a pupilometria dinâmica.

Neste trabalho foi constatado que a retinopatia é significativamente mais comum em pacientes portadores de DM tipo 1, enquanto que a microalbuminúria e a hipertensão foram significativamente mais comum em pacientes portadores de DM tipo 2. Para os indivíduos portadores de DM Tipo 1, 27% apresentaram disfunção periférica e 61% disfunção pupilar. Para os indivíduos portadores de DM Tipo 2, 21% apresentaram disfunção periférica e 57% disfunção pupilar.

Os resultados suportam as recomendações de prevenir as complicações crônicas causadas pelo DM e também um rigoroso controle glicêmico em pacientes portadores de DM tipo 2.

- DÜTSCH et al. (2004)

Dütsch e colaboradores (*Pupillography refines the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy*) estudaram a resposta pupilar a um estímulo de luz em

pacientes diabéticos e compararam os resultados com a evolução da neuropatia autonômica cardíaca ou da neuropatia periférica somática.

A avaliação da neuropatia autonômica cardiovascular foi feita através de testes da variabilidade da frequência cardíaca e a avaliação da neuropatia periférica foi realizada através de exames neurológicos, estudos de condução nervosa e determinação do limite térmico e vibratório.

A pupilometria foi realizada em 36 pacientes portadores de DM tipo 2 e 36 indivíduos saudáveis (grupo de controle) e os parâmetros medidos foram: diâmetro da pupila antes e depois do estímulo de luz e as velocidades de constrição e de re-dilatação.

Em comparação com o grupo de controle, o grupo de pacientes teve os seguintes parâmetros reduzidos: diâmetro pupilar, a velocidade de re-dilatação, a amplitude do reflexo pupilar e a velocidade de constrição. A redução desses parâmetros são um indicativo de disfunção simpática e parassimpática.

Os resultados da pupilometria mostraram que a disfunção pupilar simpática e parassimpática, explicada no item 2.1, ocorre independentemente da presença de neuropatia autonômica cardíaca ou de neuropatia periférica somática, e, portanto, refina o diagnóstico da neuropatia autonômica em pacientes portadores de DM tipo 2.

- PITTASCH et al. (2002)

Pittasch et al. (2002) (*Pupil Signs of Sympathetic Autonomic Neuropathy in Patients with Type 1 Diabetes*), estudaram a resposta direta e indireta da ação simpatomimética em pacientes portadores de DM tipo 1 com e sem complicações de longo termo. Essas complicações foram definidas como sendo: neuropatia autonômica cardíaca, neuropatia sensorial periférica, retinopatia e nefropatia.

O estudo envolveu 47 pacientes portadores de DM tipo 1 e 20 indivíduos normais (grupo de controle). A pupilometria estática foi usada para comparar o tamanho da pupila adaptada ao escuro e a mudança no tamanho pupilar com a aplicação de colírios: cocaína 4%, epinefrina 1% e poledrina 5%.

O tamanho da pupila, antes dos testes com os colírios, foi significativamente menor em pacientes diabéticos. Em particular, para o grupo de pacientes sem neuropatia autonômica cardíaca foi aquele que apresentou o menor diâmetro médio da pupila em relação ao grupo de controle. Segundo os autores, esse achado pode ser um

sinal para o envolvimento da função pupilar antes da manifestação cardíaca da neuropatia diabética autonômica sistêmica. Constataram ainda que a reação da pupila ao teste com colírio de cocaína 4% foi menor ao grupo de pacientes portadores de DM com complicações a longo termo.

- CAHILL et al. (2001)

Cahill et al. (2001) (*Pupillary autonomic denervation with increasing duration of diabetes mellitus*) estudaram a relação entre a função autonômica pupilar e cardiovascular em 72 pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1, 69 pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 e 120 indivíduos sem diabetes mellitus (grupo controle). Os pacientes diabéticos não tinham evidências clínicas de neuropatia autonômica diabética.

A pupilografia infravermelha estática foi usada para comparar o tamanho da pupila adaptada ao escuro e a mudança no tamanho da pupila após 30 minutos da aplicação de colírios: pilocarpina 0,1% e cocaína 4%.

Para a avaliação da função autonômica cardiovascular foi analisado o eletrocardiograma durante a manobra de Valsalva e também a variação da pressão arterial no momento em que o indivíduo se levantava.

Em acordo com os dados de Pittasch et al. (2002), o grupo de diabéticos apresentou tamanho da pupila adaptada ao escuro significativamente menor que o grupo controle. Os pacientes diabéticos também apresentaram maior constrição da pupila em resposta a pilocarpina, exceto os pacientes portadores de DM tipo 1 com menos de 5 anos de doença. Não houve diferença significativa entre os grupos para a dilatação pupilar em resposta a cocaína e para o teste de Valsalva.

Os resultados mostraram que as lesões do sistema parassimpático pupilar ocorrem antes das lesões do sistema simpático, pelo fato do tamanho da pupila em resposta a pilocarpina ser menor em pacientes diabéticos. Pode ser verificado também que a disfunção autonômica pupilar em pacientes diabéticos ocorre antes que as mudanças cardiovasculares autonômicas.

## CAPÍTULO 6

### MATERIAIS E MÉTODOS

Conforme já mencionado, os objetivos desta pesquisa envolvem o uso da pupilometria dinâmica em duas linhas: 1) na detecção e avaliação da neuropatia autonômica diabética (NAD) e 2) no estudo da correlação entre a resposta temporal da pupila humana a um estímulo visual e à glicemia.

Na fundamentação teórica foram descritos alguns trabalhos que constataram respostas anormais da pupila a um estímulo de luz em pacientes diabéticos (EPPENS et al., 2006; DÜTSCH et al., 2004).

Os parâmetros da pupilometria dinâmica utilizados por Eppens et al. (2006) e Dütsch et al. (2004) foram o diâmetro da pupila antes e depois do estímulo de luz. O segundo estudo ainda avaliou as velocidades de constrição e de re-dilatação.

A seguir, são descritos os objetos de estudo, o pupilômetro desenvolvido, os experimentos e os parâmetros medidos.

#### 6.1 INDIVÍDUOS

Para o estudo da detecção e avaliação da neuropatia diabética, contou-se com a participação de voluntários não-diabéticos e diabéticos (critério de inclusão: Tipo 1 ou Tipo 2 e faixa etária de 18 a 80 anos).

Houve critérios de exclusão específicos, em particular insuficiências renal, hepática e pulmonar, doença neurológica, arritmias cardíacas e voluntários que estivessem recebendo tratamento médico que influenciasse as funções pupilares ( $\beta$ -bloqueadores, simpatomiméticos, colinérgicos ou parassimpatomiméticos).

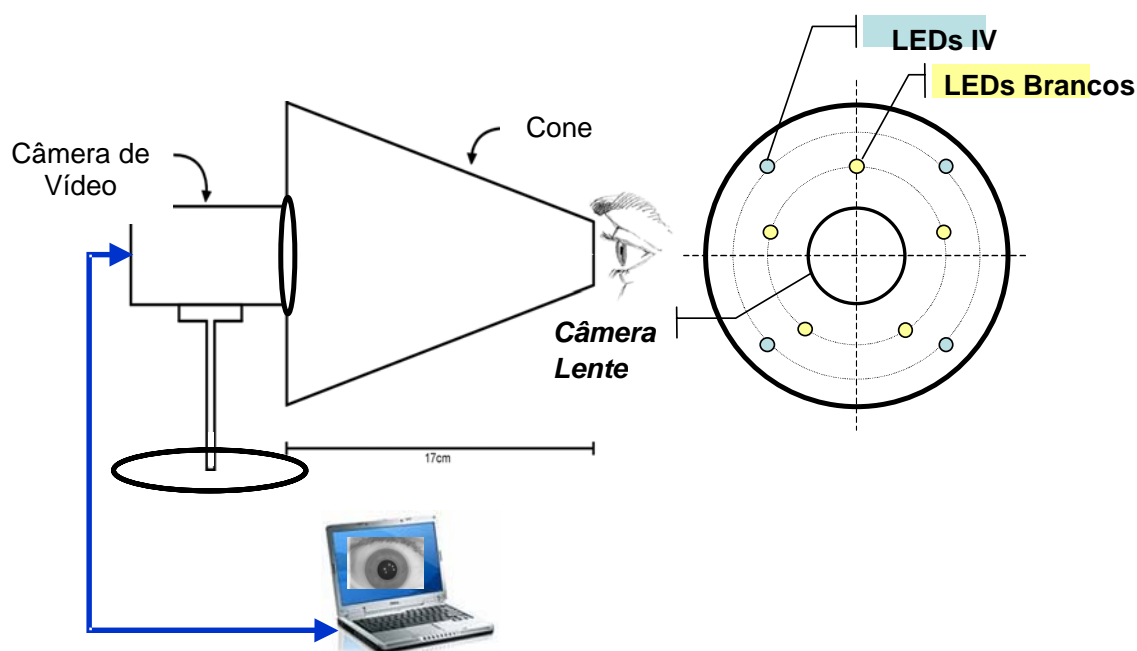
Já o estudo da correlação entre a resposta temporal da pupila a um estímulo visual e a glicemia, contou-se apenas com a participação de voluntários diabéticos (critério de inclusão: Tipo 1 sem neuropatia autonômica cardiovascular e faixa etária de 20 a 40 anos).



## 6.2 DESCRIÇÃO DO PUPILÔMETRO DESENVOLVIDO

A Figura 4 apresenta o sistema de pupilometria desenvolvido para estimular e registrar o reflexo pupilar. O sistema projetado, construído e avaliado é composto por uma câmera de vídeo (Surnet), um tronco de cone de alumínio de 17 cm de altura e diâmetros de 14,5 cm e 5,6 cm, uma placa de circuito impresso, onde estão alojados quatro LEDs (*Light Emitting Diodes*) infravermelhos, com diâmetro de 5 mm, para a iluminação do olho durante o registro da resposta pupilar e cinco LEDs brancos de alto brilho, com diâmetro de 8 mm, para produzir os *flashes* de luz.

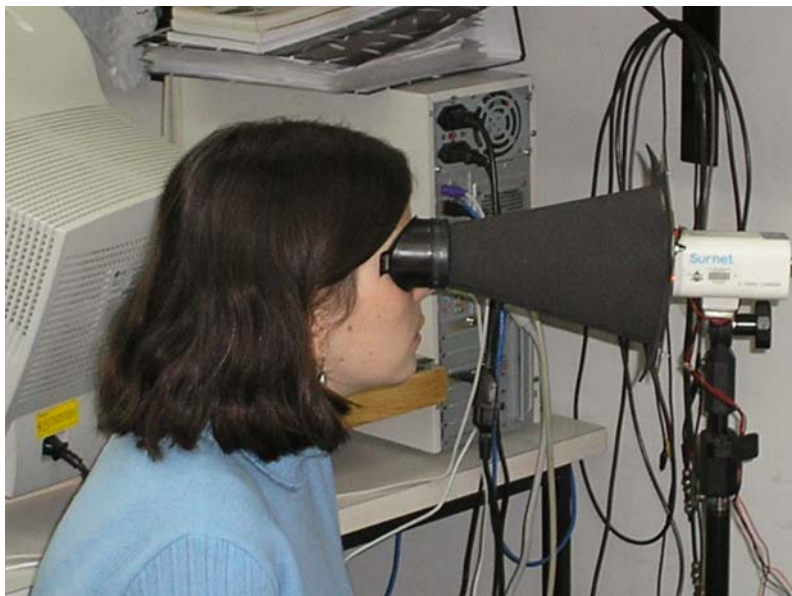
O processo de registro é feito com um *notebook* Pentium IV e uma placa PCMCIA para capturar o sinal de vídeo. O processo de registro das imagens ocorre de forma independente do processo de iluminação e estimulação.



**Figura 4 :** Sistema de pupilometria proposto.

O sistema de iluminação com infravermelho evita a estimulação da pupila e, com a ajuda do cone de alumínio, permite que o registro das imagens da pupila seja feito sem influência da iluminação externa, evitando que a luz ambiente interfira no diâmetro inicial da pupila. O interior do cone de alumínio foi pintado de preto para evitar os reflexos dos LEDs, que prejudicavam na detecção da borda da pupila com a íris.

Para evitar a entrada de luz e ao mesmo tempo ser confortável ao usuário, foi necessário acoplar ao cone um molde de máscara de solda, que é apresentado na Figura 5.



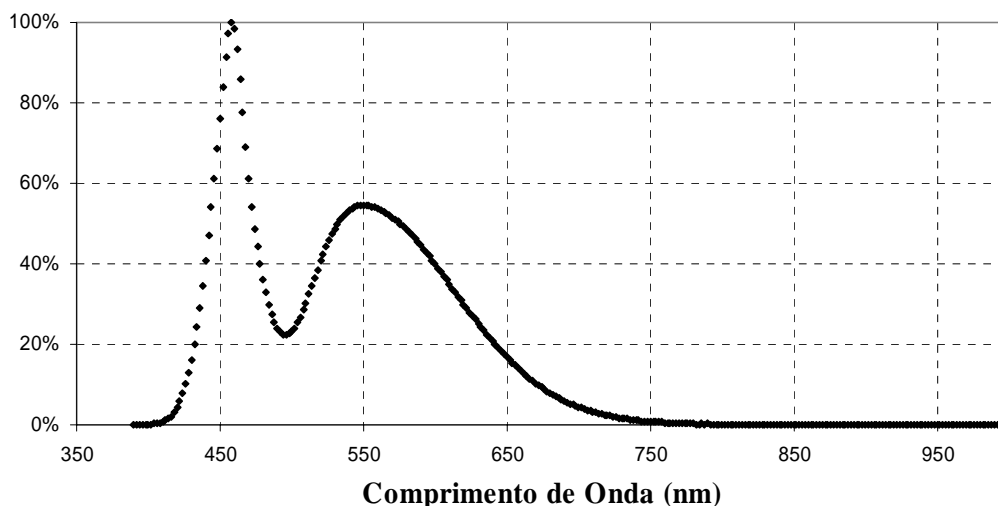
**Figura 5** : Foto do pupilômetro desenvolvido, destacando o acoplamento do olho do voluntário ao cone.

Sabendo que a exposição de raios infravermelhos pode causar lesões no olho, foi calculado o valor da luminância do LED para um tempo de exposição de 15 minutos. O manual do fabricante fornece o valor da intensidade de radiação de  $120 \text{ mW}\cdot\text{sr}^{-1}$  e considerando que o LED esteja exatamente no eixo longitudinal do olho, o valor de luminância no olho é igual a  $0,6 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{sr}^{-1}$ . A norma ANSI/IESNA RP.27.1-96 (1996) especifica o valor de luminância no infravermelho máxima permitida, para uma exposição de 15 minutos na retina, de  $9,1 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{sr}^{-1}$ , e portanto, está dentro dos limites permitidos.

O sistema de estimulação consiste de *flashes* com duração de 10 ms, construído com cinco LEDs especiais de alto brilho de cor branca. A iluminância de cada LED é de 50.000 mcd. O circuito de controle dos *flashes* (anexo 1) foi implementado com o microcontrolador PIC16F873, podendo ser programado para o uso de um único *flash* de luz ou ainda seqüências de *flashes* (*burst*) com duração e repetição controlada.

Em um experimento realizado no Laboratório de Óptica e Laser da Universidade Tecnológica Federal do Paraná obteve-se a curva do espectro de

emissão relativo do LED branco com um monocromador (Sciencetech – Modelo 9050). A Figura 6 apresenta o espectro de emissão dos LEDs utilizados para estimulação da pupila.



**Figura 6 :** Espectro de emissão do LED branco.

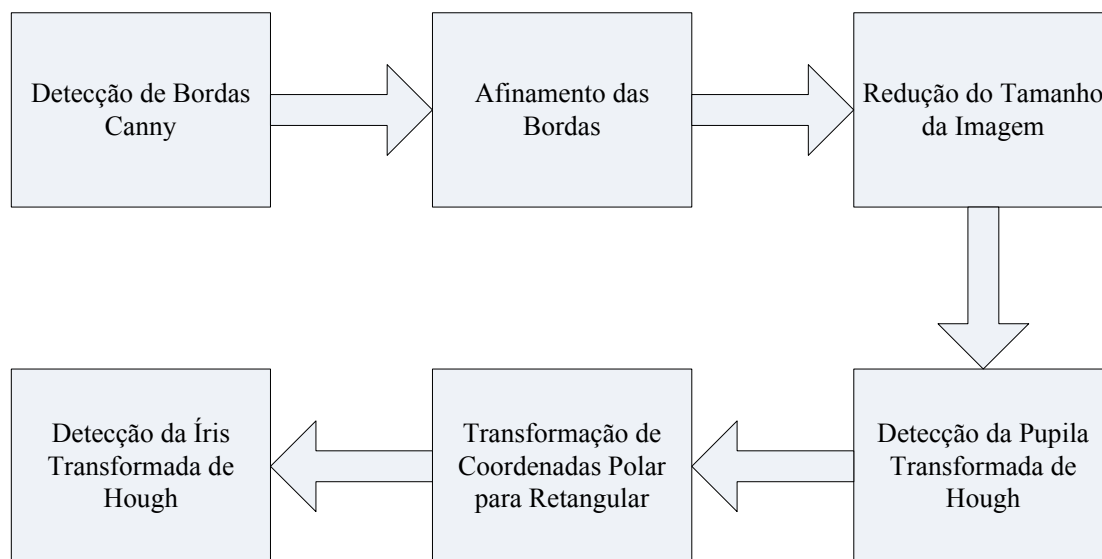
Na Figura 6 observa-se que o espectro possui um pico principal em 458 nm e um pico secundário em 550 nm. Para comprimentos de onda maior que 750 nm a resposta foi nula. Observa-se ainda que os LEDs utilizados não possuem componentes espectrais na região de ultra-violeta e do infra-vermelho, ou seja, não existe risco para o ser humano.

Com o auxílio de um luxímetro (LUX- METER Texto Term modelo 0500) e em um ambiente escuro, o LED branco foi posicionado em frente ao equipamento com uma distância de 17 cm e o valor de iluminância encontrado foi de 760 lux ou  $1,1 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Considerando o pior caso, o ângulo sólido é de 0,1 sr, e, portanto, luminância é de  $11 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{sr}^{-1}$ . Através da norma ANSI/IESNA RP.27.1-96 (1996), o valor de luminância máxima permitida, para uma exposição de 10 ms na retina, é de  $158 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{sr}^{-1}$ , e portanto, está dentro dos limites permitidos.

A câmera monocromática de vídeo, padrão IEC-170A, registra 30 quadros por segundo, ou seja, o pupilômetro registra uma imagem da pupila a cada 1/30 de segundo. A lente utilizada foi de 25 mm e o foco foi ajustado manualmente.

Após o registro do experimento, o arquivo de vídeo (\*.avi) é analisado por um algoritmo, chamado “Detector de Íris” (ROVANI, 2006), capaz de calcular o raio da pupila e da íris quadro a quadro.

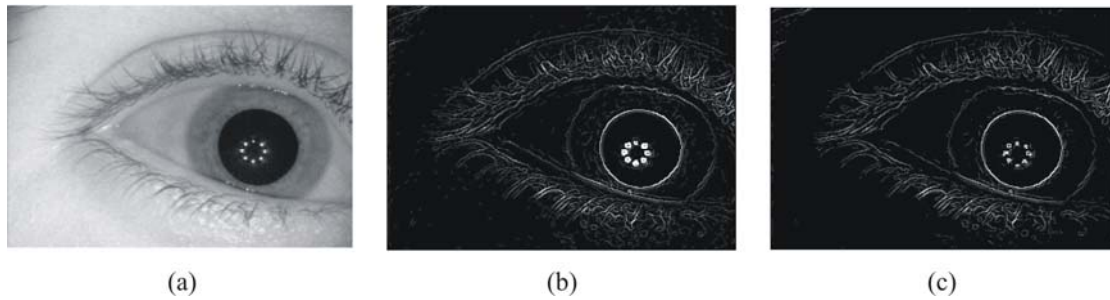
A Figura 7 apresenta o diagrama de blocos do algoritmo de processamento de imagens, implementado na linguagem de programação C++, ambiente Visual C, para determinação das linhas de contorno da pupila e da íris.



**Figura 7 :** Diagrama de blocos do “Detector de Íris”. Algoritmo utilizado na detecção do raio da pupila e da íris.

De forma reduzida, no primeiro bloco aplica-se na imagem original o algoritmo de Canny (1986), afim de detectar as bordas da imagem. A seguir, é feito o afinamento das bordas através da eliminação dos pixels com valor de intensidade muito baixo. A porcentagem dos pixels eliminados é configurada através da interface do “Detector de Íris”.

A Figura 8 apresenta: a imagem de um olho adquirido (a), a imagem após a detecção de bordas (b) e a imagem com afinamento (c).



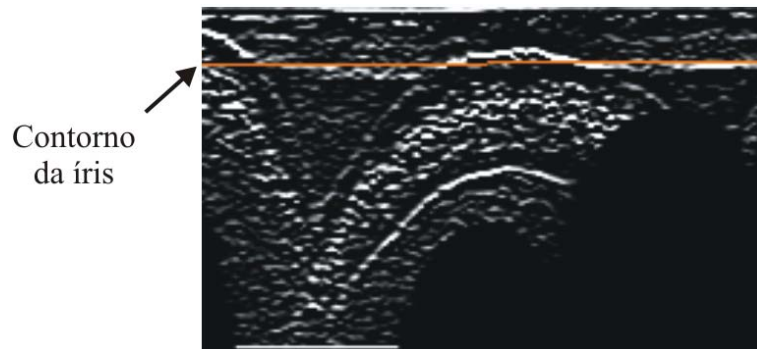
**Figura 8 :** Imagem original (a), imagem após a detecção das bordas (b) e após o afinamento (c).

A fim de se obter um algoritmo de rápido processamento foi necessário reduzir a imagem pela metade utilizando interpolação bicúbica, e com isso, a resolução na medida do raio da pupila é de dois pixels.

A seguir, aplica-se a transformada de Hough (BALLARD, 1981) para a detecção da pupila. Os parâmetros da pupila são dados pelo círculo que está dentro dos limites admissíveis do raio, configurados pela interface do “Detector de Íris”, e possui o maior número de ‘votos’ entre os círculos candidatos encontrados pela transformada de Hough.

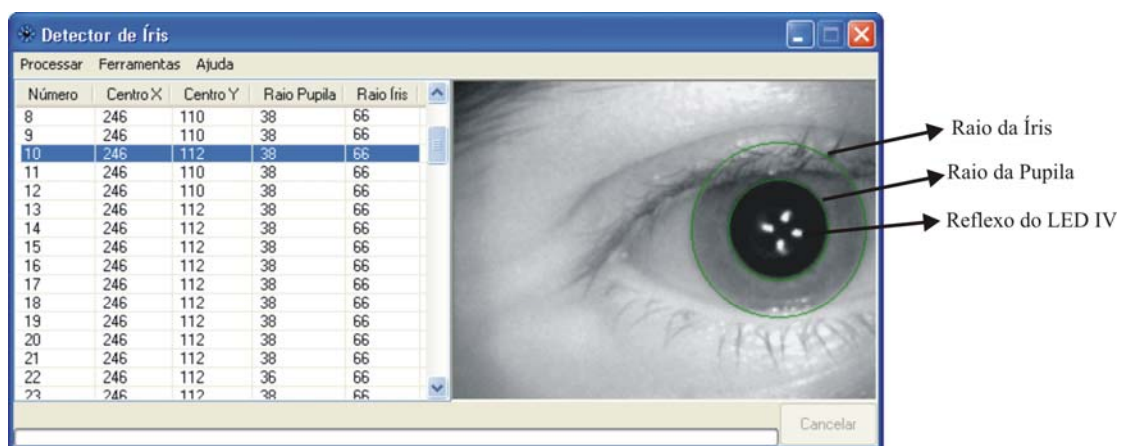
No próximo bloco, obtém-se a transformação, ou planificação, do círculo candidato de polar para retangular. De acordo com o padrão INCITS M1/03-0590 (2003), a origem das coordenadas polares está no centro da pupila.

O último bloco tem a finalidade de determinar os parâmetros da íris. A detecção da íris consiste em encontrar o raio e as coordenadas do centro da íris. Para que seja possível determinar esses parâmetros, aplica-se a transformada de Hough para detectar retas aproximadamente horizontais na imagem retangular. Considera-se que a reta com o maior número de votos, destacada na Figura 9, seja formada pelo contorno da íris.



**Figura 9 :** Resultado da aplicação da transformada de Hough. A reta indicada é formada pelo contorno da íris.

As mudanças no diâmetro da pupila foram avaliadas em função do tempo e vários parâmetros foram analisados, os quais são apresentados no item 6.3. A Figura 10 apresenta a interface do “Detector de Íris”, onde destaca-se os contornos da íris, da pupila e os reflexos dos LEDs infravermelhos.



**Figura 10 :** Interface do Detector de Íris. Os valores do raio da pupila e da íris são dados em pixels.

### 6.3 EXPERIMENTOS

Esta tese contou com a participação das equipes do Centro de Pesquisa de Diabetes do Royal Hallamshire Hospital (Sheffield, Inglaterra) e do Centro Médico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Curitiba, Brasil).

Tanto no Brasil quanto na Inglaterra, a coleta de dados foi iniciada após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (anexo 4).

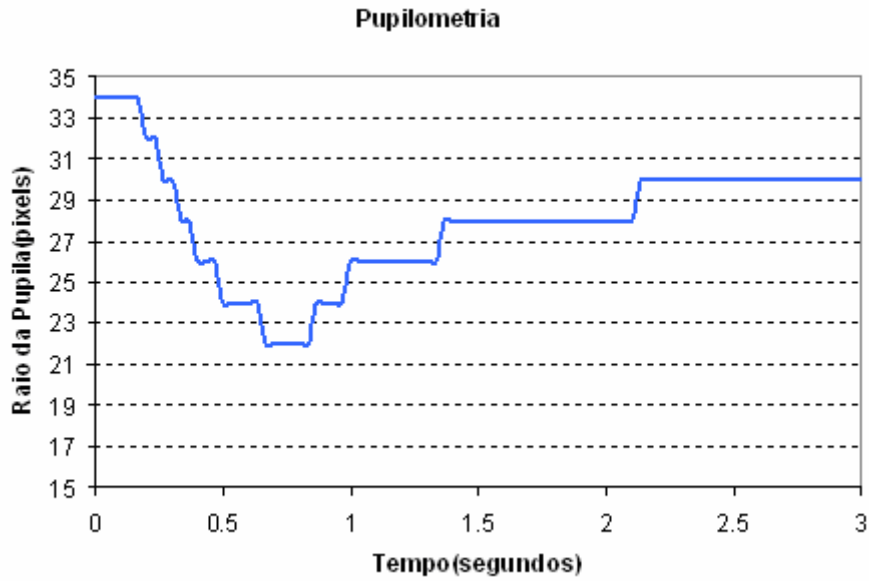
Duas condições experimentais foram estabelecidas: 1) um único *flash* e 2) uma seqüência de 25 *flashes* com freqüência de 1 Hz.

A primeira condição experimental tem por finalidade estudar o arco reflexo e a segunda, a mobilidade da íris e a resposta do sistema nervoso autônomo.

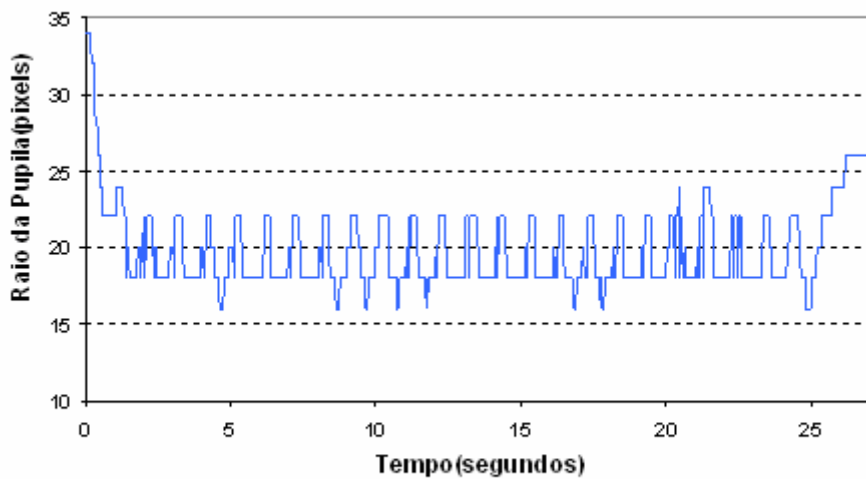
Em ambos os experimentos, solicitou-se ao voluntário que ficasse por dois minutos (período de acomodação), com o olho aberto e encostado sobre o cone, para garantir a máxima abertura da pupila (midríase). Após esse tempo, a imagem da pupila foi registrada por aproximadamente cinco segundos para a primeira condição experimental e por 30 segundos para a segunda condição experimental. Solicitava-se ao voluntário o máximo de esforço para não piscar e manter o olho aberto durante o período de registro.

Durante o período de acomodação e das duas condições experimentais, o olho que não estava sendo avaliado era coberto com um pano escuro para evitar qualquer interferência externa de luz.

A Figura 11 mostra o gráfico da variação do raio da pupila em função do tempo de um voluntário não-diabético para as duas condições experimentais. O instante de tempo do disparo do *flash* corresponde ao tempo zero.



(a)



(b)

**Figura 11 :** Curva da variação do raio da pupila em função do tempo para um único *flash* (a) e para uma seqüência de 25 *flashes* com frequência de 1 Hz (b). O instante de tempo igual a zero segundos indica o instante de tempo em que o *flash* é disparado.

#### 6.4 DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS UTILIZADOS NA COMPARAÇÃO DA FUNÇÃO PUPILAR ENTRE INDIVÍDUOS

Em ambos os experimentos, os parâmetros utilizados na comparação da função pupilar entre indivíduos foram aqueles sugeridos por Fotiou et al. (2000). Tais

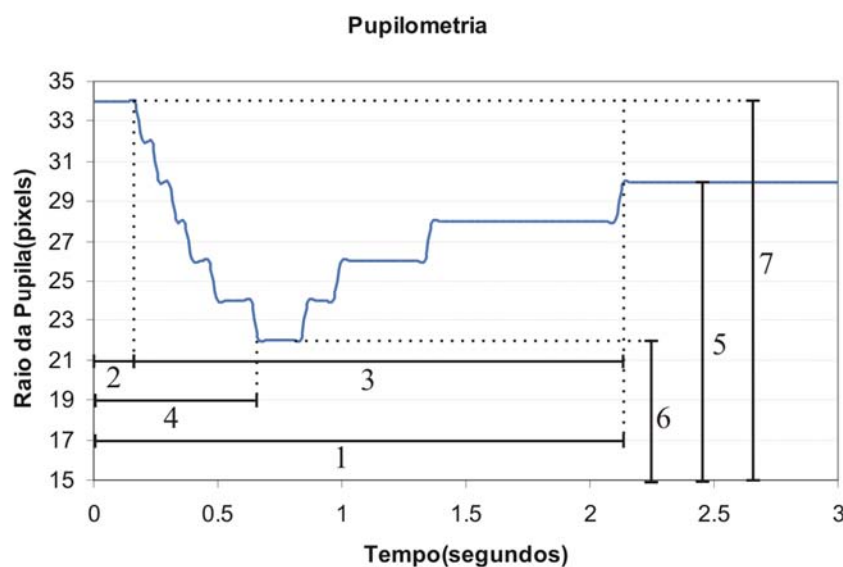


parâmetros foram escolhidos por formarem um conjunto completo para a avaliação da função pupilar simpática e parassimpática.

Através do “Detector de Íris”, o raio da pupila e da íris são determinados para cada quadro (*frame*), e os parâmetros para a análise da pupilometria dinâmica são calculados a partir da curva de resposta da pupila.

A Figura 12 indica os valores medidos para a primeira condição experimental (1 *flash*), que são:

- 1 – Tempo de latência do alcance do *plateau*;
- 2 – Tempo de latência para o início da constrição;
- 3 – Duração da constrição;
- 4 – Tempo de latência para a maior constrição;
- 5 – Raio da pupila no alcance do *plateau*;
- 6 – Raio da pupila para a máxima constrição;
- 7 – Raio da pupila antes do disparo do *flash*.



**Figura 12 :** Parâmetros analisados na pupilometria para a primeira condição experimental. 1–Tempo de latência do alcance do *plateau*; 2–Tempo de latência para o início da constrição; 3–Duração da constrição; 4–Tempo de latência para a maior constrição; 5–Raio da pupila no alcance do *plateau*; 6–Raio da pupila para a máxima constrição; 7–Raio da pupila antes do disparo do *flash*.

A partir desses valores, são calculados os parâmetros descritos por Fotiou et al. (2000):

- A razão entre o raio da pupila e o raio da íris (P/I) antes do disparo do *flash*;
- O tempo de latência entre o disparo do *flash* e o início da constrição da pupila;
- A razão P/I e o tempo de latência para a maior constrição da pupila;
- A razão P/I e o tempo de latência do alcance do *plateau* (quando o raio da pupila alcança 75% do valor inicial);
- O tempo de duração da constrição, ou seja, o intervalo de tempo entre o início da constrição e o *plateau*.

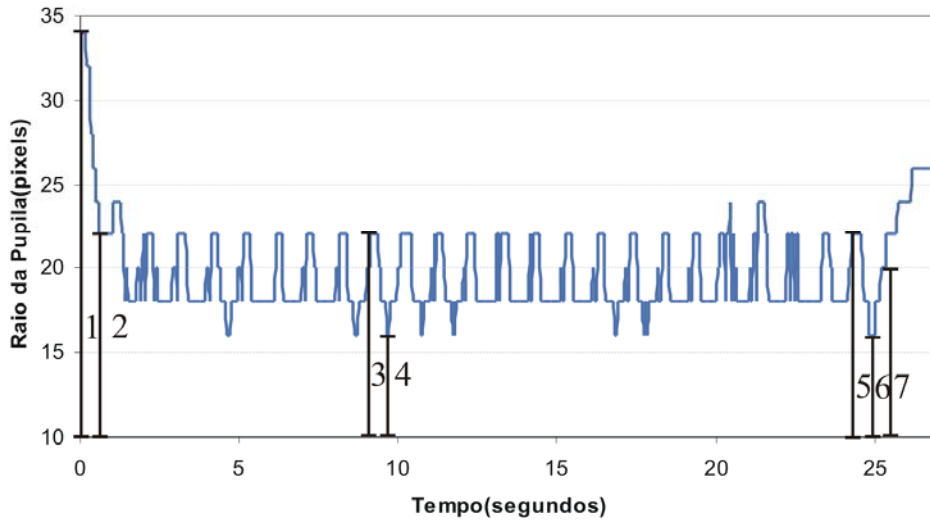
Além dos parâmetros sugeridos por Fotiou et al (2000), considerou-se ainda:

- Amplitude do reflexo – raio da pupila antes do *flash* menos o raio da pupila na maior constrição;
- Velocidade média de constrição – taxa de variação do raio da pupila sobre o intervalo de tempo da amplitude do reflexo (tempo de latência para a maior constrição – tempo de latência para o início da constrição).

A Figura 13 ilustra os valores medidos para a segunda condição experimental relacionados ao raio da pupila, que são:

- 1 – Raio da pupila antes do disparo do primeiro *flash*;
- 2 – Raio da pupila para a máxima constrição após o primeiro *flash*;
- 3 – Raio da pupila no instante do disparo do décimo *flash*;
- 4 – Raio da pupila para a máxima constrição após o décimo *flash*;
- 5 – Raio da pupila no instante do disparo do vigésimo quinto *flash*;
- 6 – Raio da pupila para a máxima constrição após o vigésimo quinto *flash*;
- 7 – Raio da pupila para o alcance do *plateau*.

### Pupílometria



**Figura 13 :** Parâmetros relacionados ao raio da pupila analisados na pupílometria para a segunda condição experimental. 1–Raio da pupila antes do disparo do primeiro *flash*; 2–Raio da pupila para a máxima constrição após o primeiro *flash*; 3–Raio da pupila no instante do disparo do décimo *flash*; 4–Raio da pupila para a máxima constrição após o décimo *flash*; 5–Raio da pupila no instante do disparo do vigésimo quinto *flash*; 6–Raio da pupila para a máxima constrição após o vigésimo quinto *flash*; 7–Raio da pupila para o alcance do *plateau*.

A partir desses valores, são calculados os parâmetros descritos por Fotiou et al. (2000) para a segunda condição experimental, que são:

- A RAZÃO 1 é o quociente entre as razões dos raios da pupila e o raio da íris (P/I) antes do disparo do primeiro e do décimo *flash*, conforme a equação 1:

$$Razão\ 1 = \frac{P/I\ antes\ do\ primeiro\ flash}{P/I\ antes\ do\ décimo\ flash} \quad (1)$$

- A RAZÃO 2 é o quociente entre as razões dos raios da pupila e o raio da íris (P/I) para a maior constrição do primeiro e do décimo *flash*, conforme a equação 2:

$$Razão\ 2 = \frac{P/I\ para\ a\ máxima\ constrição\ após\ o\ primeiro\ flash}{P/I\ para\ a\ máxima\ constrição\ após\ o\ décimo\ flash} \quad (2)$$

- A razão entre o raio da pupila e o raio da íris (P/I) antes do disparo do décimo *flash*;
- O tempo de latência entre o disparo do décimo *flash* e o início da constrição da pupila;
- A razão P/I e o tempo de latência para a maior constrição da pupila para o décimo *flash*;
- A razão entre o raio da pupila e o raio da íris (P/I) antes do disparo do vigésimo quinto *flash*;
- O tempo de latência entre o disparo do vigésimo quinto *flash* e o início da constrição da pupila;
- A razão P/I e o tempo de latência para a maior constrição da pupila para o vigésimo quinto *flash*;
- A razão P/I e o tempo de latência do alcance do *plateau* (quando o raio da pupila alcança 75% do tamanho da pupila antes do décimo *flash*);
- O tempo de duração da constrição, ou seja, o intervalo de tempo entre o início da constrição do vigésimo quinto flash e o *plateau*.

## 6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística para todas as variáveis incluiu o cálculo da média e do desvio padrão. As técnicas estatísticas *One-way* ANOVA e *post hoc* Bonferroni foram utilizadas para comparar os resultados da pupilometria entre os grupos (não-diabéticos e diabéticos com ou sem NPD, ou não-diabéticos e diabéticos com ou sem NAC). O pacote SPSS versão 12.0 (SPSS INC., Chicago, EUA) foi usado para analisar os dados e valores de p menores ou iguais a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.



## CAPÍTULO 7

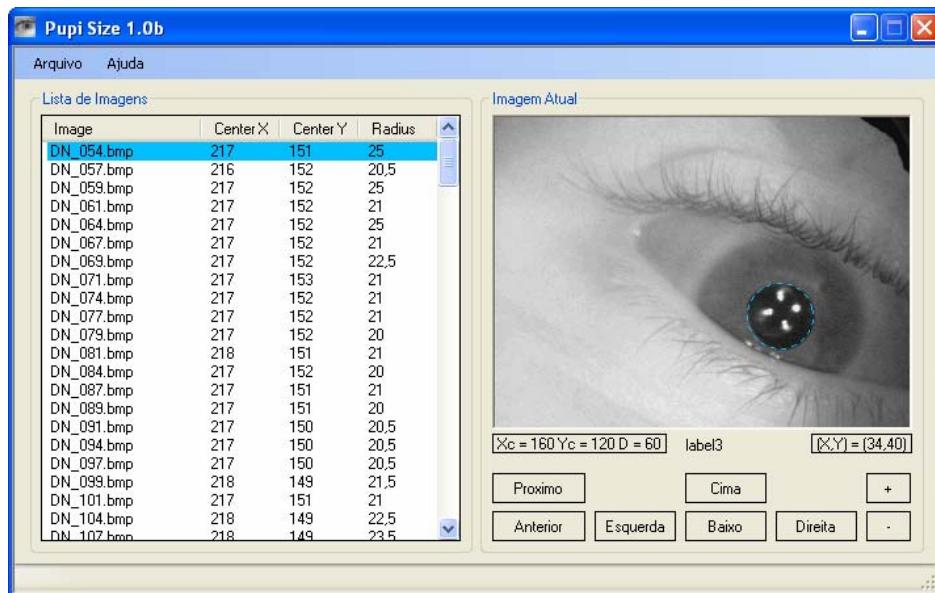
### RESULTADOS

#### 7.1 TESTES PARA A AVALIAÇÃO DO SISTEMA

Para validar os resultados encontrados nessa pesquisa, foi necessário realizar testes para avaliar a repetibilidade do sistema de aquisição e processamento proposto, além de avaliar o erro do algoritmo utilizado para determinar o raio da pupila e da íris.

##### 7.1.1 “Detector de Íris”

Para validar o algoritmo de detecção do raio da pupila, desenvolveu-se uma ferramenta computacional chamada *Pupil Parameter Tool* (PIPAT) (GIACOMITTI JR et al., 2007) em que os observadores puderam ajustar um círculo ao redor da pupila em cada imagem. A interface do PIPAT é apresentada na Figura 14.



**Figura 14 : PIPAT.**

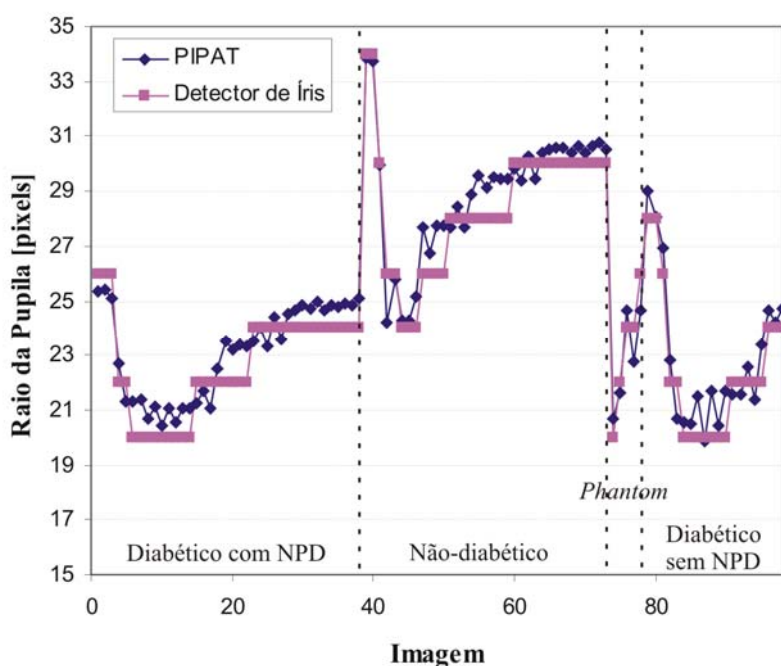
No experimento realizado com o PIPAT, pediu-se para cada um dos 19 observadores ajustar um círculo ao redor da pupila em 100 imagens, incluindo 5 imagens criadas (*phantom*) com diferentes posições do centro e com o raio variando de 20 a 26 pixels (20, 22, 24, 24, 26), 35 imagens de voluntários não-diabéticos, 38

imagens de voluntários diabéticos com neuropatia periférica diabética e 22 imagens de voluntários diabéticos sem neuropatia periférica diabética.

Com as medidas dos raios da pupila, calculou-se o valor médio, o desvio padrão e o coeficiente de variação para cada imagem (vide anexo 2). O maior coeficiente de variação foi de 4,94%.

A Figura 15 apresenta na forma de gráfico o valor médio do raio da pupila medido pelos observadores, curva indicada pelo PIPAT, e o valor medido pelo “Detector de Íris” para as 100 imagens. O erro médio das 19 medidas foi de 3,23% com desvio padrão de 1,89%.

Comparando os dados obtidos com o algoritmo do “Detector de Íris” com aqueles obtidos pelo PIPAT, observa-se que os observadores tendem a obter um raio sempre maior, pelo fato de tentarem sempre ajustar um círculo que revista a pupila do lado de fora. Já o “Detector de Íris” utiliza o algoritmo de Canny para a detecção de bordas, o que garante a localização do raio da pupila na fronteira entre a pupila e a íris.



**Figura 15 :** O raio médio da pupila encontrada pelos 19 observadores utilizando o PIPAT e o raio da pupila medida pelo algoritmo “Detector de Íris” para as 100 imagens.

### 7.1.2 Teste de Repetibilidade do Sistema de Aquisição

Para verificar a repetibilidade do sistema de aquisição e processamento dos vídeos foi feito o seguinte teste. Cinco voluntários, cujos testes do sistema autônomo eram normais, tiveram a resposta da pupila a um *flash* de luz registrada duas vezes por dia, durante quatro dias consecutivos, resultando em oito medidas. Cada medida corresponde a um vídeo de 3 segundos (90 quadros).

Para analisar a repetibilidade do sistema de pupilometria, foi determinado o raio da íris para cada quadro, utilizando o algoritmo “Detector de Íris”.

Os valores médios, os desvios padrões e os coeficientes de variação do raio da íris para cada voluntário são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Valores médios, desvios padrões e coeficientes de variação do raio da íris para cada voluntário. Cada voluntário realizou duas vezes por dia, durante quatro dias consecutivos, resultando em oito medidas (8 medidas x 90 quadros = 720 quadros).

Voluntário	Raio da Íris [pixels]		
	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	60,802	2,861	<b>0,047</b>
2	66,170	1,895	0,029
3	65,534	2,264	0,035
4	65,068	2,733	0,042
5	63,261	2,380	0,038

Como existem variações entre indivíduos, a simples comparação das médias e dos desvios padrões não é adequada. Assim, utilizou-se o coeficiente de variação, isto é, a razão entre a média e o desvio padrão. Na Tabela 5, pode-se observar que o coeficiente ficou entre 2,9% e 4,7%. No pior cenário, o sistema de pupilometria proposto apresentou repetibilidade de 95,3% (100% - 4,7%).

Ainda com os dados deste teste é possível analisar inter-indivíduos a variabilidade da resposta da pupila a um *flash* de luz. A Tabela 6 apresenta os resultados da análise.



**Tabela 6 :** Valores médios, desvios padrões e coeficientes de variação para o parâmetro Razão P/I para a máxima dilatação, máxima constrição e após três segundos do flash. Cada voluntário realizou duas vezes por dia, durante quatro dias consecutivos, resultando em oito medidas.

Voluntários	Razão P/I								
	Máxima Dilatação			Máxima Constrição			Após 3s		
	Média	Desvio Padrão	CV	Média	Desvio Padrão	CV	Média	Desvio Padrão	CV
1	0,507	0,022	0,043	0,357	0,015	0,042	0,427	0,021	0,049
2	0,540	0,050	0,093	0,415	0,040	0,096	0,513	0,043	0,084
3	0,596	0,017	0,029	0,424	0,022	0,052	0,536	0,023	0,043
4	0,665	0,021	0,032	0,561	0,016	0,029	0,627	0,022	0,035
5	0,521	0,031	0,060	0,390	0,033	0,085	0,482	0,031	0,064

Pode-se observar que existe uma variabilidade no reflexo da resposta pupilar a um flash de até 9,6%. Essa variabilidade também foi encontrada por Fotiou et al. (2007) e Murray et al. (1991).

A variabilidade da resposta da pupila quando o olho é exposto a uma iluminação constante, conhecido como *hippus*, é sempre simétrica nos dois olhos. Pacientes com diabetes com neuropatia apresentam *hippus* reduzido comparados com voluntários saudáveis. Não é claro se esse fenômeno é o resultado de dano periférico dos nervos autônomos e dos músculos da íris ou se o controle central do tamanho da pupila está afetado (BREMNER e SMITH, 2006; SMITH et al., 1978).

## 7.2 ANÁLISE DO EFEITO DA IDADE NO REFLEXO PUPILAR À LUZ

O estudo da análise do efeito da idade no reflexo pupilar a luz contou com a participação de 42 voluntários não-diabéticos. Os voluntários não estavam tomando nenhum medicamento que afetasse as funções pupilares simpáticas e parassimpáticas.

O recrutamento dos voluntários, a avaliação clínica e a coleta de dados foram realizados no Royal Hallamshire Hospital (Sheffield, Inglaterra) pelos médicos Rajiv Gandhi e Solomon Tesfaye, que fazem parte da equipe do Centro de Pesquisa de Diabetes e no Centro Médico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Curitiba, Brasil). Os testes de pupilometria foram realizados pela pesquisadora Giselle Lopes Ferrari, com a colaboração do professor Dr. Jefferson L. B. Marques.

Cada voluntário foi submetido às duas condições experimentais de pupilometria dinâmica, mencionadas no Capítulo 6.

### 7.2.1 Resultados da Primeira Condição Experimental (1 *flash*)

Os voluntários foram divididos em dois grupos de acordo com a idade: abaixo de 35 anos (grupo 1) e acima de 36 anos (grupo 2). Os resultados obtidos da primeira condição experimental (um *flash*) são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7 :** Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um *flash* para voluntários não-diabéticos abaixo de 35 anos e acima de 36 anos (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

	Grupo 1	Grupo 2
Número de Voluntários	24	18
Idade	25,71 $\pm$ 3,59	49,06 $\pm$ 13,018
Razão P/I para a máxima dilatação	0,549 $\pm$ 0,068	0,487 $\pm$ 0,077
Latência para constrição (s)	0,240 $\pm$ 0,033	0,256 $\pm$ 0,046
Razão P/I para maior constrição	0,379 $\pm$ 0,060	0,351 $\pm$ 0,070
Latência para maior constrição (s)	0,669 $\pm$ 0,161	0,626 $\pm$ 0,096
Amplitude (pixels)	10,83 $\pm$ 1,857	8,22 $\pm$ 1,801
Razão P/I no plateau	0,484 $\pm$ 0,063	0,420 $\pm$ 0,075
Latência do plateau (s)	2,310 $\pm$ 0,794	1,682 $\pm$ 0,441
Duração da constrição (s)	2,069 $\pm$ 0,803	1,425 $\pm$ 0,463
Velocidade média de constrição (pixels/s)	25,116 $\pm$ 6,284	20,859 $\pm$ 4,108

A razão pupila-íris para a máxima dilatação foi significativamente menor ( $p < 0,02$ ) em voluntários do grupo 2 (acima de 36 anos) ( $0,487 \pm 0,077$ ) comparados aos voluntários do grupo 1 (abaixo de 35 anos) ( $0,549 \pm 0,068$ ). Entretanto, não houve diferença significativa para a razão pupila-íris para a máxima constrição [ $(0,379 \pm 0,060)$  e  $(0,351 \pm 0,070)$ ].

Os tempos de latência para o início da constrição [ $(0,240 \pm 0,033)$  e  $(0,256 \pm 0,046)$ ] e para a máxima constrição [ $(0,669 \pm 0,161)$  e  $(0,626 \pm 0,096)$ ] não foram diferença significativa entre os grupos.

Durante a fase de recuperação, a razão pupila-íris no *plateau* foi significativamente menor ( $p < 0,02$ ) em voluntários do grupo 2 ( $0,420 \pm 0,075$ ) que os voluntários do grupo 1 ( $0,484 \pm 0,063$ ). O tempo de latência para alcançar o *plateau* foi significativamente maior ( $p < 0,01$ ) para o grupo 1 ( $2,310 \pm 0,794$ ) comparado ao grupo 2 ( $1,682 \pm 0,441$ ). Essa mesma relação também ocorre para a duração da constrição [ $(2,069 \pm 0,803)$  e  $(1,425 \pm 0,463)$ ].

Foi observada diferença significativa entre os grupos na velocidade de constrição [ $(25,116 \pm 6,284)$  e  $(20,859 \pm 4,108)$ ,  $p < 0,05$ ] e na amplitude do reflexo [ $(10,83 \pm 1,857)$  e  $(8,22 \pm 1,801)$ ,  $p < 0,001$ ].

## 7.2.2 Resultados da Segunda Condição Experimental (25 *flashes*)

Utilizando a mesma classificação anterior, os voluntários não-diabéticos foram submetidos a segunda condição experimental e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8 :** Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de 25 *flashes* para voluntários não-diabéticos abaixo de 35 anos e acima de 36 anos (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

Número de Voluntários	Grupo 1	Grupo 2
	24	18
Idade	25,71 $\pm$ 3,59	49,61 $\pm$ 13,27
Razão 1	1,657 $\pm$ 0,184	1,538 $\pm$ 0,155
Razão 2	1,385 $\pm$ 0,119	1,298 $\pm$ 0,167
10° <i>flash</i>		
Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,345 $\pm$ 0,044	0,330 $\pm$ 0,059
Latência para constrição (s)	0,290 $\pm$ 0,051	0,298 $\pm$ 0,074
Latência para maior constrição (s)	0,432 $\pm$ 0,069	0,437 $\pm$ 0,108
Razão P/I para maior constrição	0,276 $\pm$ 0,040	0,267 $\pm$ 0,051
25° <i>flash</i>		
Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,340 $\pm$ 0,047	0,315 $\pm$ 0,047
Latência para constrição (s)	0,281 $\pm$ 0,031	0,322 $\pm$ 0,076
Razão P/I para maior constrição	0,271 $\pm$ 0,039	0,256 $\pm$ 0,043
Latência para maior constrição (s)	0,410 $\pm$ 0,076	0,422 $\pm$ 0,068
Razão P/I do plateau	0,303 $\pm$ 0,041	0,288 $\pm$ 0,043
Latência do plateau (s)	0,731 $\pm$ 0,130	0,796 $\pm$ 0,125
Duração da constrição (s)	0,449 $\pm$ 0,145	0,474 $\pm$ 0,118

Através da análise estatística, não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre os grupos.

## 7.3 DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA DIABÉTICA

O estudo da detecção e avaliação da neuropatia diabética contou com a participação de 22 voluntários não-diabéticos (grupo controle) e 41 voluntários diabéticos. Todos os voluntários recrutados tinham a mesma faixa etária.

Os voluntários não estavam tomando nenhum medicamento que afetasse as funções pupilares simpáticas e parassimpáticas.

Os voluntários diabéticos foram submetidos a testes neurofisiológicos detalhados a fim de avaliar a presença de neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) usando o critério de O'Brien e, da neuropatia periférica diabética (NPD) usando o critério de Dyck NIS(LL) + 7.

O recrutamento dos voluntários, a avaliação clínica e a coleta de dados foram realizadas no Royal Hallamshire Hospital (Sheffield, Inglaterra) pelos médicos Rajiv Gandhi e Solomon Tesfaye, que fazem parte da equipe do Centro de Pesquisa de Diabetes. Os testes de pupilometria foram realizados pela pesquisadora Giselle Lopes Ferrari, tendo a colaboração do professor Dr. Jefferson L. B. Marques.

Cada voluntário (não-diabéticos e diabéticos) foi submetido às duas condições experimentais de pupilometria dinâmica, mencionadas no Capítulo 6.

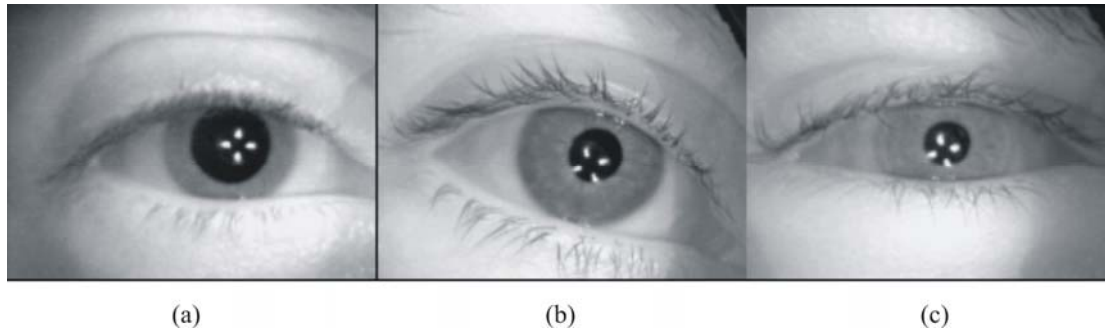
### 7.3.1 Resultados da Primeira Condição Experimental (1 *flash*)

Os voluntários diabéticos foram divididos, de acordo com o critério de Dyck NIS(LL) + 7, em dois grupos de 22 e 19 indivíduos, sem e com presença de neuropatia periférica diabética, respectivamente. Os resultados obtidos da primeira condição experimental (um *flash*) são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9** : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um *flash* para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia periférica diabética (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

	Não Diabéticos	Diabéticos	
		Sem NPD	Com NPD
Número de Voluntários	22	22	19
Idade	45,86 $\pm$ 13,63	44,55 $\pm$ 8,33	53,79 $\pm$ 13,71
Razão P/I para a máxima dilatação	0,495 $\pm$ 0,073	0,452 $\pm$ 0,094	0,373 $\pm$ 0,091
Latência para constrição (s)	0,251 $\pm$ 0,043	0,271 $\pm$ 0,058	0,321 $\pm$ 0,085
Razão P/I para maior constrição	0,354 $\pm$ 0,065	0,325 $\pm$ 0,076	0,280 $\pm$ 0,070
Latência para maior constrição (s)	0,627 $\pm$ 0,091	0,667 $\pm$ 0,144	0,602 $\pm$ 0,116
Amplitude (pixels)	8,636 $\pm$ 1,891	7,818 $\pm$ 1,943	5,684 $\pm$ 2,029
Razão P/I no plateau	0,429 $\pm$ 0,072	0,387 $\pm$ 0,090	0,321 $\pm$ 0,079
Latência do plateau (s)	1,744 $\pm$ 0,496	1,839 $\pm$ 0,786	1,551 $\pm$ 0,422
Duração da constrição (s)	1,492 $\pm$ 0,516	1,568 $\pm$ 0,807	1,230 $\pm$ 0,408
Velocidade média de constrição (pixels/s)	21,557 $\pm$ 4,287	19,307 $\pm$ 4,267	25,015 $\pm$ 16,401

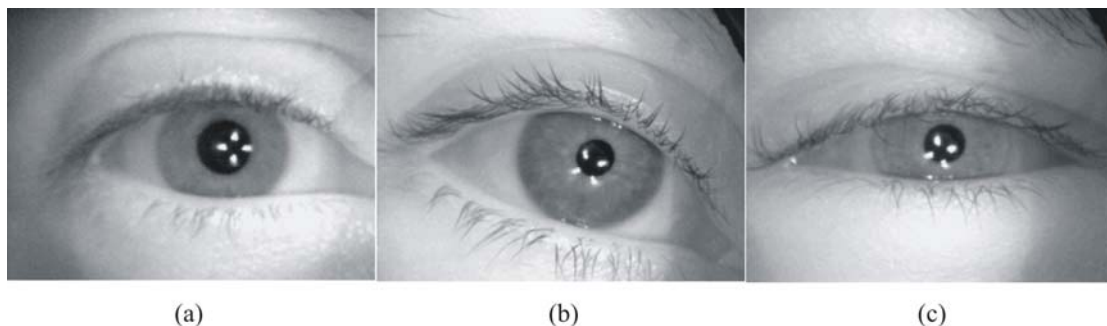
A razão pupila-íris para a máxima dilatação foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários diabéticos com NPD (0,373  $\pm$  0,091) que os voluntários diabéticos sem NPD (0,452  $\pm$  0,094) e voluntários não-diabéticos (0,495  $\pm$  0,073). Essa diferença pode ser constatada na da Figura 16.



**Figura 16 :** Imagens do olho direito de três voluntários após o período de dois minutos de adaptação ao escuro, obtendo assim, a máxima dilatação ou midríase. (a) não-diabéticos, (b) diabéticos sem NPD e (c) com NPD. Os pontos brancos da pupila correspondem ao reflexo dos quatro LEDs IV usados para a iluminação do olho.

Após o disparo do *flash*, o tempo de latência para o início da constrição foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários diabéticos com NPD ( $0,321 \pm 0,085$ ) que os voluntários diabéticos sem NPD ( $0,271 \pm 0,058$ ) e voluntários não-diabéticos ( $0,251 \pm 0,043$ ).

A razão pupila-íris para a máxima constrição de voluntários diabéticos com NPD foi significativamente menor ( $p < 0,01$ ) ( $0,280 \pm 0,070$ ) em relação aos voluntários não-diabéticos ( $0,354 \pm 0,065$ ). Porém, não houve diferença significativa no tempo de latência para a máxima constrição entre os grupos [( $0,627 \pm 0,091$ ), ( $0,667 \pm 0,144$ ) e ( $0,602 \pm 0,116$ )]. A Figura 17 apresenta imagens do olho direito dos mesmos voluntários da Figura 16, não diabéticos e diabéticos, com e sem NPD para a máxima constrição ou miose.

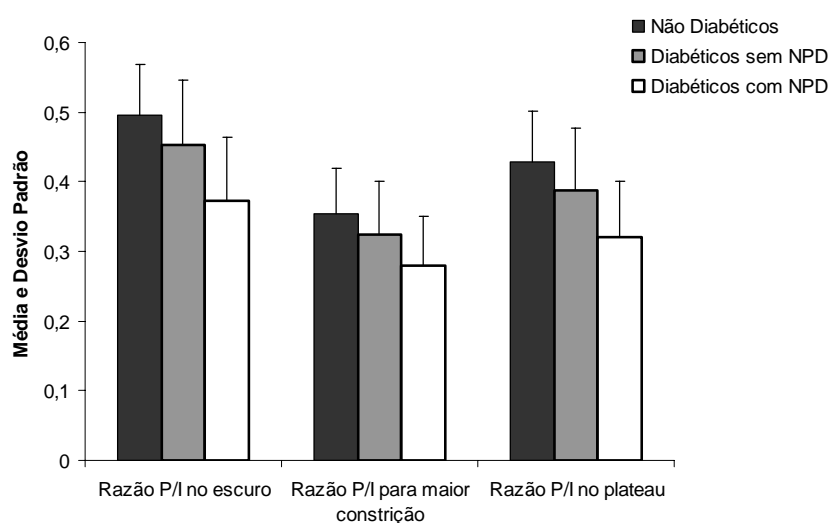


**Figura 17 :** Imagens do olho direito dos mesmos voluntários da Figura 16 no instante da máxima constrição ou miose. (a) não-diabéticos , (b) diabéticos sem NPD e (c) com NPD.

Durante a fase de recuperação, a razão pupila-íris no *plateau* foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários diabéticos com NPD ( $0,321 \pm 0,079$ ) que os voluntários diabéticos sem NPD ( $0,387 \pm 0,090$ ) e voluntários não-diabéticos ( $0,429 \pm 0,072$ ). Entretanto, não houve diferença significativa no tempo de latência para alcançar o *plateau* [ $(1,744 \pm 0,496)$ ,  $(1,839 \pm 0,786)$  e  $(1,551 \pm 0,422)$ ] e duração da constrição [ $(1,492 \pm 0,516)$ ,  $(1,568 \pm 0,807)$  e  $(1,230 \pm 0,408)$ ] entre os grupos.

Nenhuma diferença significativa entre os grupos foi observada na velocidade de constrição [ $(21,557 \pm 4,287)$ ,  $(19,307 \pm 4,267)$  e  $(25,015 \pm 16,401)$ ]. Contudo, a amplitude do reflexo, medida em pixels, foi significativamente menor ( $p < 0,01$ ) em voluntários diabéticos com NPD ( $5,684 \pm 2,029$ ) que os voluntários diabéticos sem NPD ( $7,818 \pm 1,943$ ) e voluntários não-diabéticos ( $8,636 \pm 1,891$ ).

A Figura 18 apresenta os resultados da razão pupila-íris entre os voluntários não-diabéticos, diabéticos sem NPD e com NPD para a primeira condição experimental.



**Figura 18** : Comparação das médias da razão pupila-íris (P/I) no escuro, para maior constrição e no plateau em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NPD e com NPD (as barras de erro representam o desvio padrão).

Agora, classificando os voluntários diabéticos com a presença ou não de NAC, 33 voluntários não apresentavam NAC e 8 voluntários apresentavam NAC. Os resultados obtidos da primeira condição experimental são apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10 :** Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a um *flash* para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

	Não Diabéticos	Diabético	
		Sem NAC	Com NAC
Número de Voluntários	22	33	8
Idade	45,86 $\pm$ 13,63	48,24 $\pm$ 13,09	51,25 $\pm$ 4,95
Razão P/I para máxima dilatação	0,495 $\pm$ 0,073	0,431 $\pm$ 0,097	0,351 $\pm$ 0,088
Latência para constrição (s)	0,251 $\pm$ 0,043	0,292 $\pm$ 0,079	0,304 $\pm$ 0,058
Razão P/I para maior constrição	0,354 $\pm$ 0,065	0,313 $\pm$ 0,074	0,265 $\pm$ 0,073
Latência para maior constrição (s)	0,627 $\pm$ 0,091	0,649 $\pm$ 0,131	0,583 $\pm$ 0,142
Amplitude (pixels)	8,636 $\pm$ 1,891	7,212 $\pm$ 2,118	5,250 $\pm$ 2,121
Razão P/I no plateau	0,429 $\pm$ 0,072	0,370 $\pm$ 0,089	0,302 $\pm$ 0,081
Latência do plateau (s)	1,744 $\pm$ 0,496	1,758 $\pm$ 0,703	1,492 $\pm$ 0,331
Duração da constrição (s)	1,492 $\pm$ 0,516	1,466 $\pm$ 0,721	1,189 $\pm$ 0,318
Velocidade média de constrição (pixels/s)	21,557 $\pm$ 4,287	20,640 $\pm$ 8,374	27,366 $\pm$ 20,774

A razão pupila-íris no escuro foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $0,495 \pm 0,073$ ) que nos voluntários diabéticos sem NAC ( $0,431 \pm 0,097$ ) e voluntários diabéticos com NAC ( $0,351 \pm 0,088$ ).

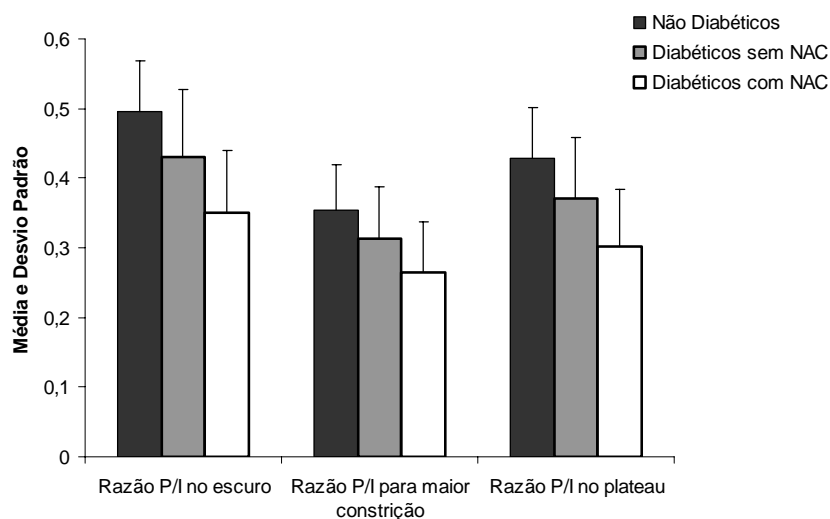
A razão pupila-íris para a máxima constrição de voluntários diabéticos com NAC foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) ( $0,265 \pm 0,073$ ) em relação aos voluntários não-diabéticos ( $0,354 \pm 0,065$ ). Porém, não houve diferença significativa no tempo de latência para o início da constrição [( $0,251 \pm 0,043$ ), ( $0,292 \pm 0,079$ ) e ( $0,304 \pm 0,058$ )] e nem para o tempo de latência para a máxima constrição [( $0,627 \pm 0,091$ ), ( $0,649 \pm 0,131$ ) e ( $0,583 \pm 0,142$ )] entre os grupos.

Durante a fase de recuperação, a razão pupila-íris no plateau foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $0,429 \pm 0,072$ ) que os voluntários diabéticos sem NAC ( $0,370 \pm 0,089$ ) e voluntários diabéticos com NAC ( $0,302 \pm 0,081$ ). Entretanto, não houve diferença significativa no tempo de latência para alcançar o *plateau* [( $1,744 \pm 0,496$ ), ( $1,758 \pm 0,703$ ) e ( $1,492 \pm 0,331$ )] e duração da constrição [( $1,492 \pm 0,516$ ), ( $1,466 \pm 0,721$ ) e ( $1,189 \pm 0,318$ )] entre os grupos.

Embora não tenha sido observadas diferenças entre os grupos na velocidade de constrição [( $21,557 \pm 4,287$ ), ( $20,640 \pm 8,374$ ) e ( $27,366 \pm 20,774$ )], a amplitude do reflexo pupilar, medida em pixels, foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $8,636 \pm 1,891$ ) que os voluntários diabéticos sem NAC ( $7,212 \pm 2,118$ ) e voluntários diabéticos com NAC ( $5,250 \pm 2,121$ ).

Ressalta-se que nenhuma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) foi encontrada entre os voluntários diabéticos sem e com NAC.

A Figura 19 apresenta os resultados da razão pupila-íris para a primeira condição experimental.



**Figura 19** : Comparação das médias da razão pupila-íris (P/I) no escuro, para maior constrição e no plateau em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NAC e com NAC (as barras de erro representam o desvio padrão).

### 7.3.2 Resultados da Segunda Condição Experimental (25 *flashes*)

A segunda condição experimental exige maior esforço dos voluntários para evitar ao máximo piscar durante o período de registro (30 segundos aproximadamente). Alguns vídeos foram descartados quando o voluntário piscou mais de três vezes. Assim, após o descarte dos vídeos, a pesquisa contou com 22 voluntários não-diabéticos e 36 voluntários diabéticos.

Utilizando a mesma classificação anterior, os voluntários diabéticos foram divididos em dois grupos de 21 e 15 indivíduos, sem e com a presença de neuropatia periférica diabética, respectivamente. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11.



**Tabela 11** : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de vinte e cinco *flashes* para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia periférica diabética (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

Número de Voluntários	Não Diabéticos	Diabéticos	
		Sem NPD	Com NPD
	22	21	15
Idade	46,32 $\pm$ 13,94	43,24 $\pm$ 7,58	52,20 $\pm$ 14,14
Razão 1	1,553 $\pm$ 0,164	1,506 $\pm$ 0,169	1,393 $\pm$ 0,180
Razão 2	1,326 $\pm$ 0,168	1,237 $\pm$ 0,195	1,161 $\pm$ 0,133
10° <i>flash</i>			
Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,328 $\pm$ 0,054	0,310 $\pm$ 0,066	0,281 $\pm$ 0,047
Latência para constrição (s)	0,300 $\pm$ 0,071	0,367 $\pm$ 0,072	0,371 $\pm$ 0,100
Latência para maior constrição (s)	0,445 $\pm$ 0,103	0,441 $\pm$ 0,064	0,429 $\pm$ 0,113
Razão P/I para maior constrição	0,263 $\pm$ 0,047	0,261 $\pm$ 0,061	0,240 $\pm$ 0,047
25° <i>flash</i>			
Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,318 $\pm$ 0,045	0,303 $\pm$ 0,060	0,280 $\pm$ 0,047
Latência para constrição (s)	0,315 $\pm$ 0,070	0,322 $\pm$ 0,067	0,367 $\pm$ 0,121
Razão P/I para maior constrição	0,254 $\pm$ 0,039	0,255 $\pm$ 0,058	0,233 $\pm$ 0,043
Latência para maior constrição (s)	0,427 $\pm$ 0,066	0,373 $\pm$ 0,077	0,444 $\pm$ 0,101
Razão P/I do plateau	0,287 $\pm$ 0,040	0,278 $\pm$ 0,071	0,266 $\pm$ 0,043
Latência do plateau (s)	0,776 $\pm$ 0,123	0,914 $\pm$ 0,096	0,885 $\pm$ 0,166
Duração da constrição (s)	0,461 $\pm$ 0,113	0,592 $\pm$ 0,130	0,518 $\pm$ 0,210

O parâmetro Razão 1 foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $1,553 \pm 0,164$ ) comparados com os voluntários diabéticos com NPD ( $1,393 \pm 0,180$ ). Com relação aos voluntários sem NPD ( $1,506 \pm 0,169$ ), nenhuma diferença significativa foi observada.

O parâmetro Razão 2 foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $1,326 \pm 0,168$ ) comparados com os voluntários diabéticos com NPD ( $1,161 \pm 0,133$ ). Com relação aos voluntários sem NPD ( $1,237 \pm 0,195$ ), nenhuma diferença significativa foi observada.

O tempo de latência para o início da constrição, após o décimo *flash* ser disparado, foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos ( $0,300 \pm 0,071$ ) comparados com os voluntários diabéticos sem NPD ( $0,367 \pm 0,072$ ) e com NPD ( $0,371 \pm 0,100$ ).

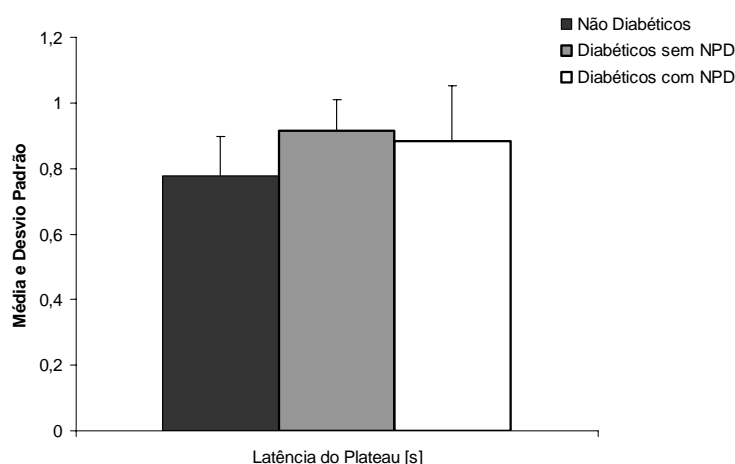
Entretanto, não houve diferença entre os grupos para a razão pupila-íris no instante do décimo *flash* [( $0,328 \pm 0,054$ ), ( $0,310 \pm 0,066$ ) e ( $0,281 \pm 0,047$ )], tempo de latência para a máxima constrição depois do décimo *flash* [( $0,445 \pm 0,103$ ), ( $0,441 \pm 0,064$ ) e ( $0,429 \pm 0,113$ )] e nem na razão pupila-íris para a máxima constrição [( $0,263 \pm 0,047$ ), ( $0,261 \pm 0,061$ ) e ( $0,240 \pm 0,047$ )].

Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos para a razão pupila-íris no instante do vigésimo quinto *flash* [( $0,318 \pm 0,045$ ), ( $0,303 \pm 0,060$ ) e

(0,280 ± 0,047)] e para o tempo de latência para o início da constrição [(0,315 ± 0,070), (0,322 ± 0,067) e (0,367 ± 0,121)].

O tempo de latência para a máxima constrição depois da disparada do vigésimo quinto *flash* foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior em voluntários diabéticos com NPD (0,444 ± 0,101), comparado com os voluntários diabéticos sem NPD (0,373 ± 0,077). Entretanto, não houve diferença entre os grupos para a razão pupila íris para a máxima constrição [(0,254 ± 0,039), (0,255 ± 0,058) e (0,233 ± 0,043)].

Durante a fase de recuperação, a razão pupila-íris não foi significativamente diferente entre os grupos [(0,287 ± 0,040), (0,278 ± 0,071) e (0,266 ± 0,043)], porém o tempo de latência para atingir o *plateau* foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos (0,776 ± 0,123) comparados com os voluntários diabéticos sem NPD (0,914 ± 0,096) e com NPD (0,885 ± 0,166). Essa diferença pode ser observada na Figura 20.



**Figura 20** : Comparação do tempo de latência para atingir o plateau após o vigésimo quinto *flash* em voluntários não diabéticos, diabéticos sem NAC e com NAC (as barras de erro representam o desvio padrão).

A duração da constrição foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) apenas em voluntários não-diabéticos (0,461 ± 0,113) comparado com os voluntários diabéticos sem NPD (0,592 ± 0,130).

Ressalta-se que apenas um parâmetro (tempo de latência para a máxima constrição após a disparada do vigésimo quinto *flash*) apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes grupos de voluntários diabéticos (sem NPD e com NPD).

Com relação à classificação dos voluntários diabéticos com ou sem a presença de neuropatia autonômica cardiovascular, 31 voluntários não apresentavam NAC e cinco voluntários apresentavam NAC. Os resultados obtidos da segunda condição experimental são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** : Resultado do estudo comparativo da resposta da pupila a uma seqüência de vinte e cinco *flashes* para voluntários não-diabéticos e diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular (valor médio  $\pm$  desvio padrão).

Número de Voluntários	Não Diabéticos	Diabético		
	22	Sem NAC 31	Com NAC 5	
Idade	46,32 $\pm$ 13,94	46,61 $\pm$ 12,31	49,20 $\pm$ 4,32	
Razão 1	1,553 $\pm$ 0,164	1,472 $\pm$ 0,168	1,374 $\pm$ 0,252	
Razão 2	1,326 $\pm$ 0,168	1,216 $\pm$ 0,182	1,138 $\pm$ 0,090	
10° <i>flash</i>	Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,328 $\pm$ 0,054	0,300 $\pm$ 0,059	0,286 $\pm$ 0,071
	Latência para constrição (s)	0,300 $\pm$ 0,071	0,360 $\pm$ 0,076	0,420 $\pm$ 0,114
	Latência para maior constrição (s)	0,445 $\pm$ 0,103	0,432 $\pm$ 0,088	0,460 $\pm$ 0,076
	Razão P/I para maior constrição	0,263 $\pm$ 0,047	0,253 $\pm$ 0,055	0,253 $\pm$ 0,071
25° <i>flash</i>	Razão P/I no instante do <i>flash</i>	0,318 $\pm$ 0,045	0,295 $\pm$ 0,054	0,286 $\pm$ 0,071
	Latência para constrição (s)	0,315 $\pm$ 0,070	0,331 $\pm$ 0,093	0,400 $\pm$ 0,091
	Razão P/I para maior constrição	0,254 $\pm$ 0,039	0,245 $\pm$ 0,051	0,253 $\pm$ 0,071
	Latência para maior constrição (s)	0,427 $\pm$ 0,066	0,403 $\pm$ 0,096	0,400 $\pm$ 0,091
	Razão P/I do plateau	0,287 $\pm$ 0,040	0,271 $\pm$ 0,060	0,286 $\pm$ 0,071
	Latência do plateau (s)	0,776 $\pm$ 0,122	0,908 $\pm$ 0,104	0,867 $\pm$ 0,249
	Duração da constrição (s)	0,461 $\pm$ 0,113	0,576 $\pm$ 0,141	0,467 $\pm$ 0,294

De acordo com a Tabela 12, não houve diferença entre os três grupos para a razão pupila-íris no instante do décimo *flash* [(0,328  $\pm$  0,054), (0,310  $\pm$  0,066) e (0,281  $\pm$  0,047)]. Já para o tempo de latência para o início da constrição após o décimo *flash* foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários não diabéticos (0,300  $\pm$  0,071) comparados com os voluntários diabéticos sem NAC (0,360  $\pm$  0,076) e com NAC (0,420  $\pm$  0,114).

Durante a fase de recuperação, após o vigésimo quinto *flash*, o tempo de latência para atingir o *plateau* foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos (0,776  $\pm$  0,122) comparados com os voluntários diabéticos sem NAC (0,908  $\pm$  0,104). Porém, a razão pupila-íris no *plateau* não foi significativamente diferente entre os três grupos [(0,287  $\pm$  0,040), (0,271  $\pm$  0,060) e (0,286  $\pm$  0,071)].

A duração da constrição foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em voluntários não-diabéticos (0,461  $\pm$  0,113) comparados com os voluntários diabéticos sem NAC (0,576  $\pm$  0,141).

Para os demais parâmetros, não foram encontradas nenhuma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

Ressalta-se que nenhuma diferença significativa ( $p < 0,05$ ), para todos os parâmetros, foi encontrada entre os voluntários diabéticos sem NAC e com NAC.

#### 7.4 ESTUDO PRELIMINAR DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA PUPILAR A UM *FLASH* DE LUZ E A GLICEMIA

No estudo da correlação entre a resposta pupilar a um *flash* de luz e a glicemia, utilizou-se a técnica de "grampeamento" de glicose (do inglês glucose clamping), proporcionando um ambiente controlado onde a glicemia diminuía de 5,7 – 4,5 mmol/L para 2,8 – 2,4 mmol/L. Os dados foram obtidos em um ambiente padronizado, em que glicose e insulina eram injetadas simultaneamente para o controle e manutenção dos níveis glicêmicos desejados.

Em virtude da técnica de grampeamento de glicose ser uma técnica invasiva e difícil de ser realizada, pois requer cuidados médicos especiais, este estudo preliminar limitou-se a um grupo de 4 voluntários diabéticos do Tipo 1, com faixa etária entre 26 e 40 anos. Os voluntários não estavam tomando nenhum medicamento que afetasse as funções pupilares simpáticas e parassimpáticas.

Todos os voluntários diabéticos foram submetidos a testes neurofisiológicos detalhados para avaliar a presença de neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) usando o critério de O'Brien. Os voluntários que apresentaram NAC foram excluídos da pesquisa.

A coleta de dados foi realizada no Royal Hallamshire Hospital (Sheffield, Inglaterra) pelos médicos Emma Robinson e Simon Heller e também pelo professor Jefferson Luiz Brum Marques, que fazem parte da equipe do Centro de Pesquisa de Diabetes. Além da avaliação clínica dos voluntários, eles eram também responsáveis pelo recrutamento.

A cada nível glicêmico (hipoglicemia, euglicemia e hiperglicemia), o voluntário foi submetido à primeira condição experimental de pupilometria dinâmica (mencionada no capítulo 6). A segunda condição experimental não foi testada pela dificuldade de manter os voluntários sem piscar durante 30 segundos e porque, também, estavam sendo realizados outros exames simultaneamente.

Ressalta-se que durante a fase de recrutamento, os voluntários também foram submetidos à primeira condição experimental.

Os resultados obtidos para os diferentes estados glicêmicos são apresentados nas tabelas 13, 14 e 15.

**Tabela 13 :** Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) durante a fase de recrutamento. Os voluntários encontravam-se em estado hiperglicêmico.

Voluntário	Glicemia (mmol/L)	Razão P/I para a máxima dilatação	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
1	10,8	0,394	0,267	0,273	0,500	8	0,333	1,867	1,600	30,075
2	14,7	0,508	0,333	0,413	0,600	6	0,444	1,033	0,700	20,000
3	10,3	0,635	0,300	0,540	0,567	6	0,571	1,167	0,867	20,000
4	13,8	0,576	0,300	0,455	0,633	8	0,515	1,433	1,133	21,858
<b>Média</b>	<b>12,4</b>	<b>0,528</b>	<b>0,300</b>	<b>0,420</b>	<b>0,575</b>	<b>7,000</b>	<b>0,466</b>	<b>1,375</b>	<b>1,075</b>	<b>22,393</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>2,2</b>	<b>0,103</b>	<b>0,027</b>	<b>0,111</b>	<b>0,057</b>	<b>1,155</b>	<b>0,103</b>	<b>0,368</b>	<b>0,393</b>	<b>4,808</b>

**Tabela 14 :** Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) durante o grapeamento de glicose, para o estado euglicêmico.

Voluntário	Glicemia (mmol/L)	Razão P/I para a máxima dilatação	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
1	5,5	0,406	0,267	0,281	0,600	8	0,344	1,533	1,267	21,858
2	4,4	0,508	0,333	0,413	0,567	6	0,444	1,000	0,667	22,472
3	4,6	0,613	0,233	0,516	0,533	6	0,548	1,067	0,833	18,018
4	5,7	0,576	0,300	0,485	0,500	6	0,515	1,167	0,867	25,751
<b>Média</b>	<b>5,1</b>	<b>0,526</b>	<b>0,283</b>	<b>0,424</b>	<b>0,550</b>	<b>6,500</b>	<b>0,463</b>	<b>1,191</b>	<b>0,909</b>	<b>22,025</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>0,6</b>	<b>0,091</b>	<b>0,043</b>	<b>0,104</b>	<b>0,043</b>	<b>1,000</b>	<b>0,090</b>	<b>0,238</b>	<b>0,254</b>	<b>3,171</b>

**Tabela 15** : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) durante o grapeamento de glicose, para o estado hipoglicêmico. Para o voluntário 3, a condição experimental foi realizada duas vezes.

Voluntário	Glicemia (mmol/L)	Razão P/I para a máxima dilatação	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
1	2,4	0,375	0,267	0,281	0,467	6	0,313	1,233	0,967	25,751
2	2,4	0,508	0,300	0,413	0,567	6	0,444	0,900	0,600	20,000
3	2,4	0,613	0,300	0,516	0,567	6	0,548	1,133	0,833	20,000
3	2,7	0,613	0,233	0,516	0,500	6	0,548	1,200	0,967	20,000
4	2,5	0,545	0,300	0,424	0,700	8	0,485	1,267	0,967	18,476
<b>Média</b>	<b>2,5</b>	<b>0,531</b>	<b>0,280</b>	<b>0,430</b>	<b>0,560</b>	<b>6,400</b>	<b>0,468</b>	<b>1,147</b>	<b>0,867</b>	<b>20,845</b>
<b>Desvio padrão</b>	<b>0,1</b>	<b>0,098</b>	<b>0,030</b>	<b>0,097</b>	<b>0,089</b>	<b>0,894</b>	<b>0,097</b>	<b>0,146</b>	<b>0,160</b>	<b>2,820</b>

Analisando as tabelas 13, 14 e 15, o que se pode notar é que não houve diferença significativa nos parâmetros da pupilometria dinâmica para os diferentes estados glicêmicos.

Outra análise que pode ser feita é verificar se houve diferença significativa nos parâmetros da pupilometria dinâmica para o mesmo voluntário, porém com níveis glicêmicos diferentes. As tabelas 16, 17, 18 e 19, apresentam os valores dos parâmetros encontrados para a primeira condição experimental.

**Tabela 16** : Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) para o voluntário 1.

Glicemia (mmol/L)	Razão P/I no escuro	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
10,8	0,394	0,267	0,273	0,500	8	0,333	1,867	1,600	30,075
5,5	0,406	0,267	0,281	0,600	8	0,344	1,533	1,267	21,858
2,4	0,375	0,267	0,281	0,467	6	0,313	1,233	0,967	25,751

**Tabela 17 :** Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) para o voluntário 2.

Glicemia (mmol/L)	Razão P/I no escuro	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
14,7	0,508	0,333	0,413	0,600	6	0,444	1,033	0,700	20,000
4,4	0,508	0,333	0,413	0,567	6	0,444	1,000	0,667	22,472
2,4	0,508	0,300	0,413	0,567	6	0,444	0,900	0,600	20,000

**Tabela 18 :** Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) para o voluntário 3.

Glicemia (mmol/L)	Razão P/I no escuro	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
10,3	0,635	0,300	0,540	0,567	6	0,571	1,167	0,867	20,000
2,4	0,613	0,300	0,516	0,567	6	0,548	1,133	0,833	20,000
2,7	0,613	0,233	0,516	0,500	6	0,548	1,200	0,967	20,000
4,6	0,613	0,233	0,516	0,533	6	0,548	1,067	0,833	18,018

**Tabela 19 :** Resultados obtidos para a primeira condição experimental (1 *flash*) para o voluntário 4.

Glicemia (mmol/L)	Razão P/I no escuro	Tempo de Latência para o início da constrição (s)	Razão P/I para a máxima constrição	Tempo de latência para a máxima constrição (s)	Amplitude (pixels)	Razão P/I no plateau	Tempo de latência para o plateau (s)	Duração da constrição (s)	Velocidade de constrição (pixels/s)
13,8	0,576	0,300	0,455	0,633	8	0,515	1,433	1,133	21,858
5,7	0,576	0,300	0,485	0,500	6	0,515	1,167	0,867	25,751
2,5	0,545	0,300	0,424	0,700	8	0,485	1,267	0,967	18,476

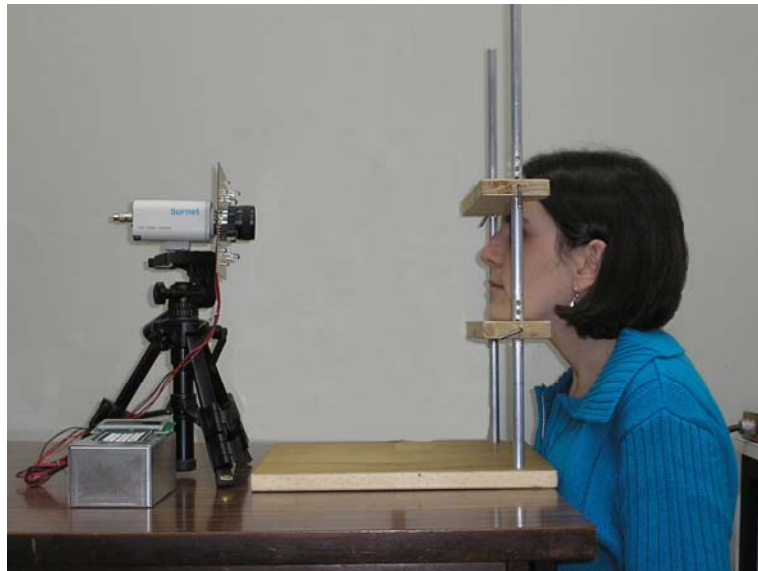
Analisando cada voluntário separadamente, observou-se que não houve diferença significativa dos valores dos parâmetros encontrados na pupilometria dinâmica para os diferentes níveis glicêmicos.

## CAPÍTULO 8

### DISCUSSÃO

#### 8.1 PUPILÔMETRO DESENVOLVIDO

Durante a fase de construção do pupilômetro, imaginou-se que o equipamento seria utilizado em uma sala escura e que o voluntário não poderia mexer a cabeça durante o registro. Pensando nisso e no conforto do voluntário, foi produzido um suporte para a cabeça, que é apresentado na Figura 21.



**Figura 21** : Suporte de cabeça utilizado para o registro da pupilometria dinâmica.

Porém, o equipamento estava susceptível a variação da iluminação externa, já que não se tinha disponível uma sala completamente escura. A solução encontrada foi a construção de um cone, apresentado na Figura 5, que evita a entrada de luz e garante que o olho esteja posicionado corretamente.

Com relação ao circuito de controle dos pulsos, a versatilidade para alterar o número de pulsos e também a frequência dos pulsos facilitou a realização das duas condições experimentais (um *flash* e vinte e cinco *flashes*).

A repetibilidade do sistema foi obtida através da medida da íris de cinco voluntários, e o valor encontrado foi de 95,3%.



O método utilizado para encontrar o raio da pupila e da íris, ou seja, o algoritmo de Canny para a detecção de bordas e transformada de Hough para encontrar a círculo que mais se ajusta, apresentou um erro médio de 3,23%.

## 8.2 ANÁLISE DO EFEITO DA IDADE NO REFLEXO PUPILAR À LUZ

De acordo com Bitsios et al. (1996), o tamanho reduzido da pupila no escuro, a amplitude do reflexo, a velocidade e o tempo de recuperação prolongado após um estímulo de luz são consistentes com uma diminuição da função simpática em pessoas idosas.

Os resultados obtidos para a primeira condição experimental confirmam a disfunção do sistema nervoso autônomo, evidenciada pelos parâmetros: razão pupila-íris para a máxima dilatação e na fase de recuperação, amplitude do reflexo, tempo de recuperação, duração da constrição e velocidade média de constrição.

Assim como Fotiou et al. (2007), não foi encontrada diferença significativa no tempo de latência para o início da constrição entre os grupos, ou seja, a idade do voluntário não interfere no tempo de resposta do reflexo pupilar a um estímulo de luz.

Considerando a segunda condição experimental, nenhuma comparação com estudos anteriores pode ser feita, porque nenhum estudo similar foi encontrado na literatura. Porém, o que se pode observar para essa condição experimental é que a mobilidade da pupila e o equilíbrio funcional entre o sistema nervoso simpático e parassimpático não são dependentes da idade do voluntário, já que nenhuma diferença significativa nos parâmetros medidos, entre os diferentes grupos, foi encontrada.

## 8.3 DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DA NEUROPATIA DIABÉTICA

Em pacientes com neuropatia autonômica, ocorrem manifestações relacionadas a lesões dos sistemas genitourinário, gastrointestinal, da sudorese e cardiovascular, que além de levarem à perda da qualidade vida, se relacionam à morte súbita por arritmias cardíacas, bem como o aumento das taxas de mortalidade por outras causas.

A neuropatia cardiovascular provavelmente contribui para o mau prognóstico da doença cardíaca coronariana e insuficiência cardíaca, tanto no diabetes mellitus tipo 1 como no tipo 2 (SCHMID, 2007).

Nos estágios iniciais a neuropatia é reversível através de um controle glicêmico adequado (KARAVANAKI et al., 1994), e portanto os exames e testes para diagnosticar disfunção autonômica são obrigatórios.

Nos resultados obtidos na primeira condição experimental, isto é, de apenas um *flash*, os pacientes diabéticos apresentaram tamanho da pupila após adaptação ao escuro e amplitude do reflexo reduzidos, o que confirmam os estudos prévios apresentados na Tabela 20.

**Tabela 20 :** Estudos prévios utilizando pupilometria em voluntários diabéticos.

	Dütsch et al. (2004)	Eppens et al. (2006)	Cahill et al. (2001)	Pittasch et al. (2004)
Pupilometria Dinâmica	x	x		
Pupilometria Estática			x	x
Tamanho da Pupila	x	x	x	x
Amplitude do Reflexo	x			
Velocidade de Constrição	x			
Velocidade de Dilatação	x			

Ressalta-se que neste trabalho, utilizou-se a razão pupila-íris ao invés do tamanho da pupila, em virtude dos tamanhos da íris serem diferentes entre os voluntários. Também foram analisados parâmetros da resposta pupilar em função do tempo.

De acordo com Smith e Dewhirst (1986) o tamanho da pupila em repouso é principalmente controlado pelo sistema nervoso simpático e a redução do diâmetro é um sinal de diminuição da resposta simpática dos músculos da íris. Smith e Smith (1983) concluíram que a diminuição do reflexo pupilar em pacientes diabéticos não se deve apenas pelo tamanho reduzido da pupila em repouso, mas sim devido à disfunção parassimpática. Assim, os resultados obtidos na primeira condição experimental mostraram que pacientes diabéticos com ou sem neuropatia autonômica cardiovascular e com ou sem neuropatia periférica tem tanto disfunção simpática como parassimpática, evidenciada pela amplitude do reflexo pupilar diminuído e o tamanho da pupila significativamente menor comparada a voluntários não-diabéticos.

O tamanho da pupila significativamente reduzido no início dos testes é observado tanto no grupo de voluntários diabéticos sem neuropatia periférica quanto no grupo de voluntários diabéticos sem neuropatia autonômica cardiovascular quando comparados com o grupo de voluntários não diabéticos e, portanto, pode ser considerado um dos primeiros sinais de dano do sistema nervoso.

A correlação com outras complicações de longo termo poderia também explicar o tamanho da pupila reduzido sem a evidência de NAC, mas pode também representar um sinal de dano da função pupilar antes da manifestação cardíaca da neuropatia autonômica diabética.

O tempo de latência para o início da constrição foi significativamente maior em voluntários diabéticos com NPD comparados com voluntários não-diabéticos e diabéticos sem NPD. Porém, não houve diferença significativa entre os voluntários diabéticos com NAC comparado com os voluntários não-diabéticos e diabéticos sem NAC. Disfunção no sistema nervoso parassimpático pode causar diminuição do reflexo constritor (BREMNER e SMITH, 2006).

Nenhuma diferença significativa entre os grupos foi encontrada para o tempo de latência para a máxima constrição e nem para o tempo de duração da constrição. Durante a fase de recuperação, também não foi encontrada diferença entre os grupos para o tempo de latência para atingir o *plateau*. O que se pode levar em consideração desses resultados, é que não ocorre variação entre os grupos no tempo de resposta da pupila após o início da constrição até a fase de recuperação. Porém, a amplitude do reflexo em voluntários não-diabéticos é significativamente maior comparado com voluntários diabéticos.

Considerando a segunda condição experimental, nenhuma comparação com estudos anteriores pode ser feita, porque nenhum estudo similar foi encontrado na literatura. Porém, novamente os resultados evidenciaram a prevalência de disfunção tanto simpática quanto parassimpática em voluntários diabéticos.

O que se pode observar para essa condição experimental é que apenas um parâmetro (tempo de latência para a máxima constrição após a disparada do vigésimo quinto *flash*) apresentou diferença significativa entre os diferentes grupos de voluntários diabéticos (sem NPD e com NPD). Para os outros parâmetros, destacaram-se apenas diferenças significativas entre o grupo de voluntários não-diabéticos e diabéticos. A resposta do reflexo pupilar para uma seqüência de vinte e cinco *flashes* não foi diferente entre os voluntários diabéticos com e sem neuropatia autonômica cardiovascular.

#### 8.4 ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A RESPOSTA PUPILAR A UM ESTÍMULO VISUAL E A GLICEMIA

Estudos demonstram que um controle mais restrito da glicemia, adia ou mesmo previne a maioria das complicações micro e macro-vasculares do diabetes mellitus. Porém, os mesmos estudos relatam que tal abordagem terapêutica aumenta a incidência de hipoglicemias, tanto brandas quanto severas, independentemente do tipo de diabetes (MANDRUP-POULSEN, 1998; UKPDS, 1998).

O aumento da frequência das crises hipoglicêmicas tem impacto decisivo no tratamento do diabetes. A prática clínica diária demonstra que esta complicação é a maior restrição ao objetivo-base da terapêutica para o diabetes, que seria a manutenção da taxa de glicose sanguínea dentro da faixa normal de valores em jejum – de 3,0 a 6,0 mmol/L ou de 54 a 108 mg/dL (UKPDS, 1998; AMIEL, 1998). Deste modo, apesar de todos os benefícios comprovados, a adoção irrestrita pela comunidade médica da terapia insulínica intensiva para o diabetes é dependente do monitoramento contínuo da glicose a fim de prevenir hipoglicemias.

Um indivíduo que esteja sofrendo uma crise hipoglicêmica apresenta alguns dos seguintes sinais: confusão, visão dupla ou enevoada, palidez, sudorese, taquicardia, perda de concentração, frio, fadiga, tremores, dores de cabeça, náusea e fala arrastada (CRYER et al., 2003; MCAULAY et al., 2001).

Sabendo que estudos anteriores registraram alterações do eletrocardiograma em pacientes diabéticos em estado hipoglicêmico (GARCIA et al. 2004; MARQUES et al., 1997), o objetivo deste estudo foi analisar a função autonômica pupilar em diferentes níveis glicêmicos, através da pupilometria.

Analisando os resultados da pupilometria obtidos no item 7.3, o que se pode notar é que não houve diferença significativa nos parâmetros da pupilometria dinâmica para os diferentes estados glicêmicos. Vale ressaltar, que também não houve diferença significativa nos parâmetros da pupilometria dinâmica para o mesmo voluntário, porém com níveis glicêmicos diferentes.

Este estudo sugere que a função autonômica pupilar em voluntários diabéticos Tipo 1, avaliada através da pupilometria dinâmica, não é afetada pelo nível glicêmico atual. Porém é necessário um estudo com mais voluntários para poder demonstrar isso.

## CAPÍTULO 9

### CONCLUSÕES

Esta tese descreveu o desenvolvimento de um pupilômetro dinâmico, ou seja, um instrumento capaz de estimular, registrar e determinar os parâmetros relacionados à resposta temporal da pupila a um ou vinte e cinco estímulos de luz. Além disso, apresentou os resultados do estudo de detecção e avaliação de neuropatia diabética e do estudo da correlação da glicemia atual com a função pupilar.

Através da análise do efeito da idade no reflexo da pupila a estímulos de luz, pode-se confirmar estudos anteriores (BITSIOS et al., 1996; FOTIOU et al., 2007) em que o tamanho da pupila no escuro, a amplitude do reflexo, a velocidade e o tempo de recuperação prolongado após um estímulo de luz podem ser relacionados com a idade. Já o tempo de latência para o início da constrição não é dependente da idade.

No estudo de detecção e avaliação de neuropatia diabética, pode-se observar que o reflexo pupilar a um estímulo de luz apresentou alterações na função pupilar tanto em voluntários diabéticos sem sinais de neuropatia periférica ou autonômica cardiovascular. Essas alterações na função pupilar podem indicar o início de uma disfunção autonômica e, portanto, a pupilometria poderia complementar os métodos para acessar neuropatia periférica e autonômica cardiovascular. Ainda mais por se tratar de uma técnica simples, barata e não invasiva.

No estudo da correlação entre a resposta do reflexo pupilar a um estímulo visual e a glicemia, foi utilizada a técnica de grampeamento de glicose. Essa técnica possibilitou a manutenção da glicemia do voluntário diabético em três níveis diferentes.

Embora já tenham sido registradas alterações no eletrocardiograma, ou seja, função autonômica cardiovascular, como, por exemplo, o achatamento da onda T, em pacientes diabéticos em estado hipoglicêmico (GARCIA et al. 2004; MARQUES et al., 1997), a análise estatística dos dados coletados mostrou que não ocorre diferença significativa no reflexo pupilar (função autonômica pupilar) em pacientes diabéticos para diferentes níveis glicêmicos. Desta forma, acredita-se que a pupilometria não seja uma técnica adequada para a análise da glicemia atual do paciente.

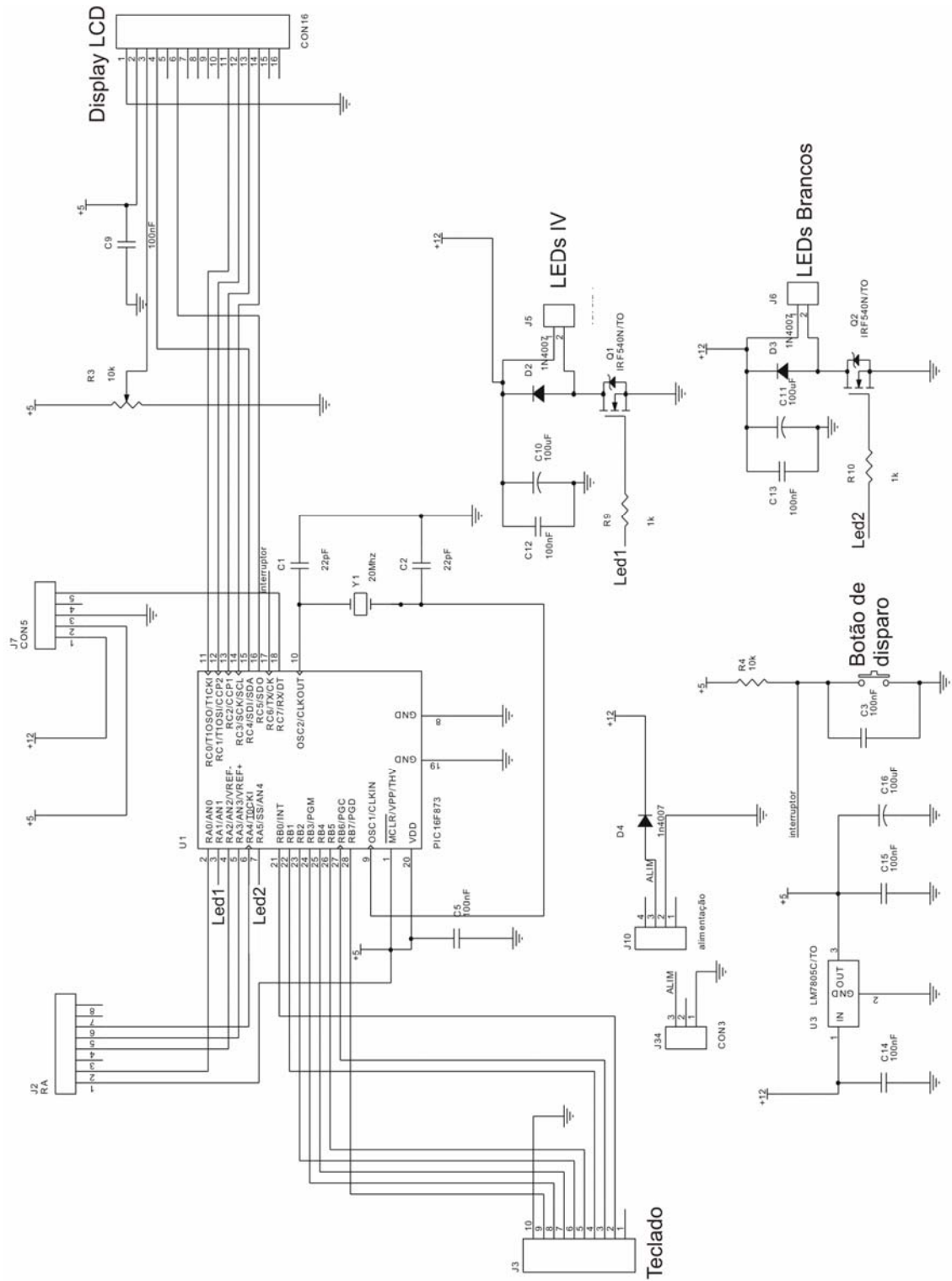
## 9.1 TRABALHOS FUTUROS

Esta tese foi contemplada pelo financiamento da Fundação Araucária (Edital 03/2006) o que irá proporcionar melhorias na construção de um novo sistema de pupilometria dinâmica mais preciso (isto é, melhor resolução em termos de pixels e tempo) e mais robusto. Pode-se ainda implementar um novo algoritmo para a detecção da íris e da pupila, que proporcione uma resolução melhor, já que o algoritmo utilizado tem a resolução de dois pixels.

Além de melhorias do equipamento, a coleta de dados continua sendo realizada pelo professor Dr. Jefferson Luiz Brum Marques no *Royal Hallamshire Hospital* na cidade de Sheffield (Reino Unido) através do financiamento conseguido pelo *National Institutes of Health* (NIH).

A técnica da pupilometria dinâmica também poderá ser utilizada no estudo da avaliação de outras doenças do sistema nervoso autônomo, como Alzheimer, esclerose múltipla, depressão e outras.

# Anexo 1 – Circuito Esquemático



O módulo de controle dos *flashes* é composto por:

- Um microcontrolador – responsável pela escrita no *display* de cristal líquido e leitura do teclado e do botão de disparo;
- Um *display* de cristal líquido (LCD) – apresenta ao usuário os menus para a entrada de dados (número de pulsos e frequência);
- Um teclado – permite ao usuário entrar com o número de pulsos e a frequência;
- Um botão de disparo – inicia a seqüência de *flashes* ajustados pelo usuário;
- Conector de saída para a placa de estimulação e iluminação.



## Anexo 2 – Tabelas de validação do PIPAT

**Tabela 1 :** Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores medido pelos observadores, valor obtido pelo “Detector de Íris” e o erro obtido para as imagens de voluntários diabéticos com neuropatia periférica diabética.

Imagem	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação	Detector de Íris	Erro (%)
1	25,31579	0,447540387	0,01767831	26	2,702703
2	25,42105	0,731496903	0,02877524	26	2,277433
3	25,07895	0,651134862	0,025963405	26	3,672613
4	22,68421	0,671038298	0,029581735	22	3,016241
5	21,31579	0,671038298	0,031480809	22	3,209877
6	21,28947	0,652256542	0,030637514	20	6,05686
7	21,36842	0,796556918	0,037277294	20	6,403941
8	20,65789	0,708139808	0,034279379	20	3,184713
9	21,10526	0,657836255	0,031169299	20	5,236908
10	20,42105	0,692482609	0,033910231	20	2,061856
11	21,02632	0,588635055	0,027995159	20	4,881101
12	20,52632	0,790106958	0,03849239	20	2,564103
13	21,02632	0,56454712	0,02684955	20	4,881101
14	21,07895	0,651134862	0,030890293	20	5,118602
15	21,23684	0,674298422	0,031751351	22	3,593556
16	21,71053	0,630603535	0,029045981	22	1,333333
17	21,07895	0,449170776	0,021308976	22	4,369538
18	22,52632	0,634071592	0,028148038	22	2,336449
19	23,52632	0,772328446	0,032828278	22	6,487696
20	23,21053	0,713282504	0,030730992	22	5,21542
21	23,42105	0,651134862	0,027801264	22	6,067416
22	23,34211	0,708139808	0,030337444	22	5,749718
23	23,52632	0,67646311	0,028753466	24	2,013423
24	24,02632	0,67646311	0,028155091	24	0,109529
25	23,34211	0,602140432	0,025796321	24	2,818489
26	24,39474	0,393663257	0,016137221	24	1,618123
27	23,55263	0,52426501	0,022259297	24	1,899441
28	24,55263	0,621260744	0,025303224	24	2,250804
29	24,65789	0,624780663	0,025337956	24	2,66809
30	24,81579	0,558035401	0,022487111	24	3,287381
31	24,71053	0,560649164	0,022688678	24	2,875399
32	25	0,623609564	0,024944383	24	4
33	24,68421	0,605771462	0,024540848	24	2,771855
34	24,86842	0,620082998	0,024934554	24	3,492063
35	24,78947	0,732495534	0,029548652	24	3,184713
36	24,89474	0,657836255	0,026424712	24	3,59408
37	24,84211	0,708139808	0,028505628	24	3,389831
38	25,10526	0,515831243	0,020546737	24	4,402516

**Tabela 2** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores medido pelos observadores, valor obtido pelo “Detector de Íris” e o erro obtido para as imagens de voluntários não-diabéticos.

Imagem	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação	Detector de Íris	Erro (%)
1	33,86842	0,723458	0,021361	34	0,3885
2	33,71053	0,652257	0,019349	34	0,858704
3	29,97368	0,389932	0,013009	30	0,087796
4	24,23684	0,770433	0,031788	26	7,274701
5	25,78947	0,535303	0,020757	26	0,816327
6	24,26316	0,714307	0,02944	24	1,084599
7	24,26316	0,586146	0,024158	24	1,084599
8	25,15789	0,50146	0,019933	24	4,60251
9	27,71053	0,917663	0,033116	26	6,17284
10	26,76316	0,855837	0,031978	26	2,851524
11	27,73684	0,714307	0,025753	26	6,26186
12	27,76316	0,653376	0,023534	26	6,350711
13	27,65789	0,70814	0,025604	28	1,236917
14	28,44737	0,598487	0,021038	28	1,572618
15	27,68421	0,71123	0,025691	28	1,140684
16	28,86842	0,597265	0,020689	28	3,008204
17	29,55263	0,643228	0,021766	28	5,253785
18	29,15789	0,60214	0,020651	28	3,971119
19	29,5	0,5	0,016949	28	5,084746
20	29,47368	0,564547	0,019154	28	5
21	29,42105	0,533936	0,018148	28	4,830054
22	29,84211	0,442613	0,014832	30	0,529101
23	29,39474	0,515831	0,017548	30	2,059087
24	30,23684	0,510131	0,016871	30	0,78329
25	29,44737	0,437631	0,014861	30	1,876676
26	30,39474	0,542088	0,017835	30	1,298701
27	30,5	0,471405	0,015456	30	1,639344
28	30,57895	0,507257	0,016588	30	1,893287
29	30,60526	0,636373	0,020793	30	1,977644
30	30,42105	0,533936	0,017552	30	1,384083
31	30,65789	0,667762	0,021781	30	2,145923
32	30,39474	0,488164	0,016061	30	1,298701
33	30,65789	0,727489	0,023729	30	2,145923
34	30,76316	0,631762	0,020536	30	2,480753
35	30,52632	0,676463	0,02216	30	1,724138

**Tabela 3** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores medido pelos observadores, valor obtido pelo “Detector de Íris” e o erro obtido para as imagens de voluntários voluntários diabéticos sem neuropatia periférica diabética.

Imagem	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação	Detector de Íris	Erro (%)
1	29,02632	0,676463	0,023305	28	3,535811
2	28,07895	1,387075	0,049399	28	0,281162
3	26,89474	0,965789	0,03591	26	3,32681
4	22,81579	0,988974	0,043346	22	3,575548
5	20,65789	0,866869	0,041963	22	6,496815
6	20,52632	0,873589	0,042559	20	2,564103
7	20,47368	0,904828	0,044195	20	2,313625
8	21,47368	0,696692	0,032444	20	6,862745
9	19,84211	0,746336	0,037614	20	0,795756
10	21,71053	0,652257	0,030043	20	7,878788
11	20,42105	0,803865	0,039365	20	2,061856
12	21,65789	0,688247	0,031778	20	7,654921
13	21,57895	0,870236	0,040328	22	1,95122
14	21,55263	0,705036	0,032712	22	2,075702
15	22,57895	0,692483	0,030669	22	2,564103
16	21,36842	0,879427	0,041155	22	2,955665
17	23,39474	0,737468	0,031523	22	5,961755
18	24,65789	0,78267	0,031741	24	2,66809
19	24,21053	0,871075	0,035979	24	0,869565
20	24,71053	0,821851	0,033259	24	2,875399
21	24,65789	0,667762	0,027081	24	2,66809
22	24,57895	0,731497	0,029761	26	5,781585

**Tabela 4** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores medido pelos observadores, valor obtido pelo “Detector de Íris” e o erro obtido para as imagens de *phantoms*.

Imagem	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação	Detector de Íris	Erro
1	20,65789	0,50146	0,024274	20	3,184713
2	21,60526	0,567131	0,02625	22	1,82704
3	24,65789	0,646629	0,026224	24	2,66809
4	22,78947	0,508696	0,022322	24	5,311778
5	24,68421	0,628281	0,025453	26	5,33049

### Anexo 3 – Publicações

**FERRARI, G. L.**, MARQUES, J. L. B., GANDHI, R. A., EMERY, C. J., TESFAYE, S., HELLER, S. R., SCHNEIDER, F. K., GAMBA, H. R. An Approach to the Assessment of Diabetic Neuropathy Based on Dynamic Pupillometry. In: 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Proceedings, Lion, v. 1, p. 557-560, 2007.

GANDHI, R. A.; MARQUES, J. L. B.; **FERRARI, G. L.**; EMERY, C. J.; TESFAYE, S. Painful diabetic Neuropathy is Associated with Greater Autonomic Dysfunction Compared to Painless Diabetic Neuropathy. Diabetes (New York), v. 56, p. 211, 2007.

GANDHI, R., **FERRARI, G. L.**, MARQUES, J. L. B., EMERY, C., TESFAYE, S. Is Dynamic Pupillometry a better approach to assess early autonomic dysfunction in diabetes mellitus compared to Spectral Analysis of heart rate variability? In: 17<sup>th</sup> Annual Meeting of the Diabetic Neuropathy Study Group of the EASD NEURODIAB XVIII, 2007.

GANDHI, R., MARQUES, J. L. B., **FERRARI, G. L.**, EMERY, C., TESFAYE, S. Relationship of Autonomic Dysfunction with Painless and Painful Diabetic Neuropathy. In: 17<sup>th</sup> Annual Meeting of the Diabetic Neuropathy Study Group of the EASD NEURODIAB XVIII, 2007.

GIACOMITTI Jr., A., **FERRARI, G. L.**, SCHNEIDER, F. K., MARQUES, J. L. B., GAMBA, H. R. Preliminary Evaluation of a SmartCam-based System for Real-Time Pupil Light Reflex Analysis. IFMBE Proceedings, v. 18, p. 365-369, 2007.

**FERRARI, G. L.**, ROVANI, A. Z., FABRIS, J. L., MARQUES, J. L. B., GAMBA, H. R. Pupillometria. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, São Pedro, v.1, p. 1171-1174, 2006.

**Anexo 4 – Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres  
Humanos**



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIEL, S. A. Hypoglycaemia avoidance – technology and knowledge. **The Lancet**, v. 352, p. 502–503, 1998.
- ANSI/IESNA RP-27.1-96. **Photobiological Safety for Lamps and Lamp Systems- General Requirements Illuminating Engineering Society of North America**, 1996.
- BALLARD, D. H. Generalizing the Hough Transform to Detect Arbitrary Shapes, **Pattern Recognition**, v. 13, p. 111-112, 1981.
- BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**, 2005.
- BITSIOS, P., PRETTYMAN, R., SZABADI, E. Changes in Autonomic Function with Age: A Study of Pupillary Kinetics in Healthy Young and Old People. **Age and Ageing**, v. 25, p. 432-438, 1996.
- BRAUNWALD, E., FAUCI, A. S., KASPER, D. L., HAUSER, S. L., LONGO, D. L., JAMESON, J. L. **Harrison's Principles of Internal Medicine**. 15. ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- BREMNER, F. D., SMITH, S. E. Pupil Abnormalities in Selected Autonomic Neuropathies. **Journal Neuro-Ophthalmology**, v. 26, nº 3, p. 209-219, 2006.
- BURMEISTER, J. J., ARNOLD, M. A. Spectroscopic Considerations for Noninvasive Blood Glucose Measurements with Near Infrared Spectroscopy. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2, nº 2, USA, 1998.
- CAHILL, M., EUSTACE, P., JESUS, V. Pupillary autonomic denervation with increasing duration of diabetes mellitus. **British Journal Ophthalmology**, v. 85, 2001.
- CANNY, J. A computational approach to edge detection, **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v., p. 679-698, 1986.
- CASTRO, S. V. **Anatomia Fundamental**. 3. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1985.
- COTRAN, R. S., KUMAR, V., COLLINS, T. **Robbins: Patologia Estrutural e Funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2000.
- CRYER, P. E., DAVIS, S. N., SHAMOON, H. Hypoglycaemia in diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, nº 6, p. 1902–1912, 2003.



- DCCT - THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal Medicine**, v. 13, p. 77-86, 1993.
- DCCT - THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL / EPIDEMIOLOGY OF DIABETES INTERVENTIONS AND COMPLICATIONS RESEARCH GROUP. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. **JAMA**, v. 287, p. 2563–2569, 2002.
- DETCHEER, H., FLOOD, T., SMITH, A. **Preliminary Clinical Evaluation of an Interstitial Fluid Continuous Glucose Monitoring Prototype**, SpectRx, Inc., USA, 1999.
- DÜTSCH, M., MARTHOL, H., MICHELSON, G., NEUNDÖRFER, B., HILZ, M. J. Pupillography refines the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 222, p. 75-81, 2004.
- ENZLIN, P., MATHIEU, C., VANDERSCHUEREN, D., DEMYTTENAERE, K. Diabetes mellitus and female sexuality: a review of 25 years' research. **Diabetic Medicine**, v. 15, p. 809-815, 1998.
- EPPENS, M. C., CRAIG, M. E., CUSUMANO, J., HING, S., CHAN, A. K. F., HOWARD, N. J., SILINK, M., DONAGHUE, K. C. Prevalence of Diabetes Complications in Adolescents with Type 2 Compared with Type 1. **Diabetes Care**, v. 29, n° 6, p. 1300-1306, 2006.
- EWING, D. J., MARTYN, C. N., YOUNG, R. J., CLARKE, B. F. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. **Diabetes Care**, v. 8, p. 491-498, 1985.
- FARUP, C. E., LEIDY, N. K., MURRAY, M., WILLIAMS, G. R., HELBERS, L., QUIGLEY, E. M. M. Effect of domperidone on the health-related quality of life of patients with symptoms of diabetic gastroparesis. **Diabetes Care**, v. 21, p. 1699-1706, 1998.
- FOTIOU, F., FOUNTOULAKIS, K. N., GOULAS, A., ALEXOPOULOS, L., PALIKARAS, A. Automated Standardized Pupillometry with Optical Method for Purposes of Clinical Practice and Research. **Clinical Physiology**, v. 20, n° 5, p. 336-347, 2000.

- FOTIOU, D. F., BROZOU, C. G., TSIPTSIOS, D. J., FOTIOU, A., KABITSI, A., NAKOU, M., GIANTSELIDIS, C., GOULA, A. Effect of age on pupillary light reflex: evaluation of pupil mobility for clinical practice and research. **Electromyogr Clin Neurophysiology**, v. 47, n° 1, p. 11-22, 2007.
- GANONG, W. F. **Fisiologia Médica**. 19. ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2000.
- GARCIA, E. V. Instrumentação para a Monitoração das Alterações Eletrocardiográficas Decorrentes da Hipoglicemia, Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2001.
- GARCIA, E. V.; MARQUES, J. L. B.; JAMES, R. A.; MURRAY, A. Characterization of changes in cardiac repolarisation during hypoglycaemia. In: **International Federation for Medical and Biological Engineering Proceedings**, João Pessoa, v. 5, n. 1, p. 1071-1074, 2004.
- GARDNER, E.; GRAY, D. J.; O'RAHILLY, R. **Anatomia – Estudo Regional do Corpo Humano**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1988.
- GIACOMITTI JR, A., FERRARI, G. L., SCHNEIDER, F. K., MARQUES, J. L. B., GAMBA, H. R. Preliminary Evaluation of a SmartCam-based System for Real-Time Pupil Light Reflex Analysis. In: **Proceedings of CLAIB 2007, IV Latin American Congress on Biomedical Engineering. Margarita Island, Venezuela**, p. 365-369, 2007.
- GONZALEZ, R. C., WOODS, R. E. **Digital Image Processing**, 2008.
- GUYTON, A. C. **Fisiologia Humana**. 6a. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1988.
- HELLER, P. H., PERRY, F., JEWETT, D. L., LEVINE, J. D. Autonomic components of the human pupillary light reflex. **Invest. Ophthalmol. Visual Sci.**, v.31, p. 156-162, 1990.
- INCITS M1/03-0590. **International Committee for Information Technology Standards, Iris Image Interchange Format**, 2003.
- JANG, S., FOX, M. D. Optical Sensor Using the Magnetic Optical Rotatory Effect of Glucose. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2, n° 2, USA, 1998.
- KARAVANAKI, K., DAVIES, A. G., HUNT, L. P., MORGAN, M. H., BAUM, J. D. Pupil size in diabetes. **Archives of Disease in Childhood**, v. 71, p. 511–515, 1994.

- KARAM, J. H., FORSHAM, P. H. Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus. In : **Greespan, F. S., Baxter, J. D., Basic & Clinical Endocrinology. Connecticut: Appleton & Lange**, 1994, p. 571-634.
- KLONOFF, D. C. Mid-Infrared Spectroscopy for Noninvasive Blood Glucose Monitoring. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2 n° 2, USA, 1998.
- LACERDA, S. N. L. D. **Diabetes Mellitus na Prática Médica**, Rio de Janeiro, Pirâmide Livro Médico, 1988.
- LAMBERT, J., STORRIE-LOMBARDI, M., BORCHERT, M. Measurement of Physiologic Glucose Levels Using Raman Spectroscopy in a Rabbit Aqueous Humor Model. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2 n° 2, USA, 1998.
- LANTING, P., HEIMANS, J. J., REULEN, L. P. H., NAUTA, J., VAN DER VEEN, E. A. Assessment of pupillary light reflex and quantitative sensory and motor function tests in diabetic patients. **Journal of Neurology**, v. 235, p. 245-247, 1988.
- LANTING, P., BOS, J. E., AARTSEN, J., SCHUMAN, L., REICHERT-THOEN, J., HEIMANS, J. J. Assessment of pupillary light reflex latency and darkness adapted pupil size in control subjects and in diabetic patients with and without cardiovascular autonomic neuropathy. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 53, p. 912-14, 1990.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2002.
- MANDRUP-POULSEN, T. Recent Advances – Diabetes. **British Medical Journal**, v. 316, p. 1221-1225, 1998.
- MARQUES, J. L. B., GEORGE, E., HARRIS, N.D., MACDONALD, I. A., COCHRANE, T., HELLER, S. R. Altered ventricular repolarization during hypoglycaemia in patients with diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 14, p. 648–654, 1997.
- MCAULAY, V.; DEARY, I. J.; FRIER, B. M. Symptoms of hypoglycaemia in people with diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 18, p. 690–705, 2001.
- McGARRAUGH, G., SCHWARTZ, S., WEINSTEIN, R. Glucose Measurements Using Blood Extracted from the Forearm and the Finger,

- <<http://www.therasense.com/img/TheraSensewhitepaper.pdf>>, 19 de novembro de 2004.
- McNICHOLS, R. J., CAMERON B. D., COTÉ, G. L. Development of a Non-Invasive Polarimetric Glucose Sensor. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2, nº 2, USA, 1998.
- MEEKER, M., DU, R., BACCHETTI, P., PRIVITERA, C. M., LARSON, M. D., HOLLAND, M. C., MANLEY, G. Pupil Examination: Validity and Clinical Utility of an Automated Pupillometer. **Journal of Neuroscience Nursing**, v. 37, nº 1, 2005.
- MENEZES, J. R. Desenvolvimento e avaliação preliminar de um sistema para quantificação da glicose no sangue por meio de imagens da íris humana, Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2000.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Diabetes Mellitus, Guia Básico para Diagnóstico e Tratamento**, Brasília, Brasil, 1996.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus: Protocolo**, Série: Cadernos de Atenção Básica 7, Brasília, Brasil, 2001.
- MURRAY, A., LAWRENCE, G. P., CLAYTON, R. H. Repeatability of dynamic eye pupil response measurement using the PupilsScan instrument. **Clinical Physics Physiological Measurement**, v. 12, nº 4, p. 377-385, 1991.
- PICA, C. Q. Aperfeiçoamento e avaliação de sistema para quantificação da glicemia através de análises de imagens da íris humana, Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2002.
- PITTASCH, D., LOBMANN, R., BEHRENS-BAUMANN, W., LEHNERT, H. Pupil Signs of Sympathetic Autonomic Neuropathy in Patients with Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 25, nº 9, p. 1545-1550, 2002.
- PUIG, M. E. L. **Tratamiento de la Diabetes Mellitus**, 2º ed., Cuba: Instituto Nacional de Endocrinología, 1995.
- ROVANI, A. Z. Sistema para captura automática de imagens de íris, Dissertação de Mestrado, UTFPR, Curitiba, 2006.
- SCHMID, H. Impacto cardiovascular da neuropatia autonômica do diabetes mellitus. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 2, p. 232-243, 2007.

- SCHWINGSHANDL, J., DONAGHUE, K., HOWARD, J. N., BONNEY, M. A., SIMPSON, J., SILINK, M. Pupillary abnormalities in type 1 diabetes occurring during adolescence. Comparisons with cardiovascular reflexes. **Diabetes Care**, v. 16, n° 4, p. 630-633, 1993.
- SCHWINGSHANDL, J. e BORKENSTEIN M. Effect of actual glycaemia on papillary function in children with type 1 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 23, p. 163-168, 1994.
- SMITH, S. A., SMITH, S. E. Evidence for neuropathic aetiology in the small pupil of diabetes mellitus. **British Journal Ophthalmology**, v. 67, p. 89-93, 1983.
- SMITH, S., DEWHIRST, R. A simple diagnostic test for pupillary abnormaliy in diabetic autonomic neuropathy. **Diabetic Medicine**, v. 3, p. 38-41, 1986.
- SMITH, S. E., SMITH, S. A., BROWN, P. M., FOX, C., SÖNKSEN, P. H. Pupillary signs in diabetic autonomic neuropathy. **British Medical Journal**, v. 2, p. 924-927, 1978.
- SOBOTTA, J. **Atlas de Anatomia Humana**. 21. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.
- TALES, A., TROSCIANKO, T., LUSH, D., HAWORTH, J., WILCOCK, G. K., BUTLER, S. R. The pupillary light reflex in aging and Alzheimer's disease. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 13, n° 6, p. 473-478, 2001.
- TAMADA, J. A. et al., Noninvasive Glucose Monitoring – Comprehensive Clinical Results, American Medical Association, **JAMA** Vol. 282, n° 19, 1839-1844, 1999.
- TESTA, M. A., SIMONSON, D. C. Health economic benefits and quality of life during improved glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, controlled, double-blind trial. **JAMA**, v. 280, p. 1490-1496, 1998.
- UKPDS - UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. **The Lancet**, v. 352, p. 837– 853, 1998.
- UKPDS - UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes: prospective observational study. **British Medical Journal**, v. 321, p. 405– 412, 2000.

- VINIK, A. I., MASER, R. E., MITCHELL, B. D., FREEMAN, R. Diabetic Autonomic Neuropathy. **Diabetes Care**, v. 5, n°5, p. 1553-1579, 2003.
- VOET, D., VOET, J. G. **Biochemistry**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- WAREHAM, N. J., O'RAHILLY, S. The Changing classification and diagnosis of diabetes. **British Medical Journal**, v. 317, p. 359-360, 1998.
- WAYNANT, R. W., CHENAULT, V. M. Overview of Non-Invasive Fluid Glucose Measurement Using Optical Techines to Maintain Glucose Control in Diabetes Mellitus. **IEEE Lasers and Electro-Optics Society**, Leos Newsletter, v. 2, n° 2, USA, 1998.
- WILD, S., GOJKA, R., GREEN, A., SICREE, R., KING, H. Global Prevalence of Diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, n° 5, p. 1047-1053, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications**. Departament of Noncommunicable Disease Survillance, Geneva, 1999.