



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA NO DIABETES MELLITUS TIPO 2
E NO PRÉ-DIABETES

TESE DE DOUTORADO

LUCIANE FACHIN BALBINOT

Porto Alegre

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA NO DIABETES MELLITUS TIPO 2
E NO PRÉ-DIABETES

LUCIANE FACHIN BALBINOT

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Neurociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Orientadora: **Prof Dra Matilde Achaval Elena**

Coorientador: **Prof Dr Milton Antônio Zaro**

Porto Alegre

2012

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial aos professores orientadores, **Dra Matilde Achaval** e **Dr Milton Antônio Zaro**, bem como ao **Dr Luís Henrique Canani**, **colaborador** desta pesquisa, responsáveis pelo meu retorno à pesquisa após um período de vida profissional dedicado exclusivamente à clínica médica, agradeço pelo apoio incondicional nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, **Antenor Balbinot** e **Carmen Fachin Balbinot**, professores por vocação e formação, que me transmitiram o gosto e o vício pela vida acadêmica.

Ao meu amado esposo, **Luiz Fernando Laser**, competente médico neurologista, agradeço pela sua crítica pontual a esta pesquisa, bastante construtiva e pela paciência em aguardar pela conclusão desta tese para ter sua esposa de volta.

Aos voluntários desta pesquisa, agradeço sua dedicação, seu interesse e paciência para tolerar, com sorrisos, a bateria de testes um tanto longa proposta por esta pesquisa.

A vocês, muito obrigada!

*“Morre lentamente quem não arrisca o certo pelo incerto para ir atrás de um
sonho, quem não se permite pelo menos uma vez na
vida fugir dos conselhos sensatos.”*

PABLO NERUDA

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E QUADROS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS	7
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Definição e delimitação do problema	11
1.2 Dados epidemiológicos	12
1.3 Critérios diagnósticos para DM2 e Pré-DM.....	13
1.4 Conceito, epidemiologia e mecanismos fisiopatológicos.....	14
1.5 Diagnóstico diferencial da neuropatia diabética.....	23
1.6 Métodos para o diagnóstico da neuropatia diabética	23
1.7 Estadiamento da neuropatia diabética.....	27
2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	29
2.1.Justificativa	29
2.2. Hipóteses	29
3 OBJETIVOS.....	30
3.1.Geral	30
3.2.Específicos.....	30
4 RESULTADOS	31
4.1 Artigo I	32
4.2 Artigo II	48
5 DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
APÊNDICE A.....	66
APÊNDICE B.....	69

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Evolução dos sinais e sintomas da polineuropatia diabética sensitivo-motora crônica. Traduzido e adaptado de Abbot *et al.* 1998.

Figura 2: Dano microvascular leva a neuropatia diabética periférica. Análise de tecidos de pacientes com DM revelam dano capilar, incluindo oclusão do *vasa nervorum*. Redução no aporte sanguíneo resulta em danos na sinalização nervosa que altera as funções nervosas sensitiva e motora. A: figura esquemática de um nervo íntegro. B: figura esquemática de um nervo danificado, com degeneração de fibras nervosas mielínicas e amielínicas e oclusão do *vasa nervorum*. Adaptado de Dyck e Giannini, 1996; Sheetz e King. 2002.

Figura 3: Complicações do pé diabético. A: Dedos em garra, calos e úlceras superficiais; B: úlceras plantares reveladas após a retirada de calos; C: úlcera plantar e calos.

Quadro 1: Protocolo e Tabela de valorização de testes cardíacos segundo Rolim *et al.* (2008).

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
AID	Anisotermia Interdigital
ΔT (Delta T)	Diferença de temperatura
bpm	batimentos por minuto
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
ECG	Eletrocardiograma
ENMG	Eletroneuromiografia
IRT	Índice de Recuperação Térmica
LDI	Laser Doppler Imager
LEPs	Laser Evoked Potential's
LF	Low Frequency
MNSI	Michigan Neuropathy Score Instrument
QST	Quantitative Sensitive Test
QSART	Quantitative Sudomotor Axonal Reflex Test
NAC	Neuropatia Autonômica Cardíaca
ND	Neuropatia Diabética
PD	Pré-diabetes
SNC	Sistema Nervoso Central
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca

Abreviaturas referentes aos artigos I e II

AAEM	American Academy of Electrodiagnostic Medicine
AAN	American Academy of Neurology
AAPM&R	American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation
ADA	American Diabetes Association
ΔT	Delta T
AV	arteriovenous (arteriovenoso)

CAN	Cardiac Autonomic Neuropathy
CST	Cold Stress Test
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus Type 1
DMT2	Diabetes Mellitus Type 2
DPN	Diabetic Polyneuropathy
EAT	Estimated averaged temperature
EMG	Electromyography
HF	High Frequency
IDA	Interdigital Anisothermal
IENF	Intra Epidermal Nerve Fibers
IR	Infrared
HRV	Heart Rate Variability
LDI	Laser Doppler Imager
LF	Low Frequency
MNSI	Michigan Neuropathy Score Instrument
QST	Quantitative Sensitive Test
QSART	Quantitative Sudomotor Axonal Reflex Test
RTI	Rewarming Index
Pre-DM	Pre diabetes
VLF	Very Low Frequency

RESUMO

Segundo dados de 2012 da Sociedade Brasileira de Diabetes, se estima que cerca de 6% da população brasileira tenha diabetes e cerca de 7 a 8% tenha pré-diabetes. A neuropatia diabética é a complicação mais frequente dessa doença podendo já ocorrer no pré-diabetes. O início da neuropatia diabética é precoce e exibe grande variabilidade de manifestações clínicas, incluindo o comprometimento de diversas fibras nervosas somáticas e autonômicas. O diagnóstico tardio da neuropatia em diabéticos está associado à maior incidência de complicações como, por exemplo, ulcerações e amputações típicas do “pé diabético” e risco cardiovascular aumentado, incluindo a morte súbita. Dados como os citados acima motivaram a presente pesquisa, que se propõe a associar métodos diagnósticos não invasivos, disponíveis em nosso meio, a protocolos de investigação já recomendados pela comunidade científica internacional para neuropatia diabética. Aplicou-se um extenso protocolo de testes com finalidade de rastreamento da neuropatia somática e autonômica em três grupos de indivíduos: grupo DM (com diabetes melitus tipo 2), grupo Pré-DM, pré diabético e grupo C, de controles saudáveis. O teste em estudo foi a Termografia Computadorizada por Infravermelho, método sem contato que capta a emissão da radiação infravermelha pelo corpo humano e que, com auxílio de softwares, possibilita medições de temperatura em graus Celsius. A termografia foi testada na região plantar, utilizando-se de duas variáveis: Índice de Recuperação Térmica e presença ou não de Anisotermia Interdigital. O padrão de referência para a Termografia plantar foram os testes cardíacos de Variabilidade da Frequência Cardíaca. Pesquisas prévias demonstraram uma relação estreita entre a Neuropatia Autonômica Cardíaca (NAC) e neuropatia autonômica sistêmica. Quanto à reprodutibilidade das medidas termográficas, encontrou-se que as medidas relativas de diferenças de temperatura (Δt) são reprodutíveis nos diferentes grupos estudados e são preferíveis às medições de temperatura absoluta, confirmando a literatura. A presença de Anisotermia Interdigital parece ser o teste mais apropriado para identificar neuropatia em suas formas iniciais no grupo com diabetes e pré- diabetes, pela simplicidade de sua aplicação e pela sua boa sensibilidade e especificidade. Com a inclusão da termografia plantar em programas de rastreamento de neuropatia diabética pode-se prever um diagnóstico mais precoce e, assim, um controle mais efetivo de fatores de risco para esta patologia bem como tratamento mais precoce.

Palavras-chave: *termografia, diabetes, pré-diabetes, polineuropatia diabética, neuropatia autonômica cardíaca, diagnóstico.*

ABSTRACT

According to 2012 data from the Brazilian Society of Diabetes it is estimated that about 6% of the population have diabetes and about 7 to 8% have pre-diabetes. Diabetic neuropathy is the most common complication of this disease and may already occur in the pre-diabetes. The onset of diabetic neuropathy is early and shows great variability of clinical manifestations, including the commitment of various somatic and autonomic nerve fibers. Delayed diagnosis of diabetic neuropathy is associated with higher incidence of complications such as ulcerations and amputations, typical "diabetic foot" and increased of cardiovascular risk, including sudden death. Data such as those mentioned above have motivated this research, which aims to involve non-invasive diagnostic methods available in our area, the research protocols as recommended by the international scientific community for diabetic neuropathy. We applied an extensive testing protocol with the purpose of tracking somatic and autonomic neuropathy in three different groups: DM group, with type 2 diabetes, Pre-DM group, pre diabetic, and C, healthy controls. The test under study was Computerized Infrared Thermography, a no contact method that captures the emission of infrared radiation by the human body and, with the help of software, can make measurements of temperature in degrees Celsius. Thermography was tested in the plantar region, using two variables: Thermal Recovery Index and presence or absence of Interdigital Anisothermal. The reference standard for the plantar thermography tests were cardiac Heart Rate Variability. Previous studies have demonstrated a close relationship between Cardiac Autonomic Neuropathy (CAN) and systemic autonomic neuropathy. The reproducibility of the thermographic measurements was found that the relative measures of temperature differences (Δt) are reproducible in different groups, and are preferable to absolute temperature measurements, confirming the literature. The presence of Interdigital Anisothermal seems to be the most appropriate test to identify neuropathy in their initial forms in the group with diabetes and pre diabetes, because the simplicity of its application and its good sensitivity and specificity. With the addition of plantar thermography in the screening of diabetic neuropathy we may predict an earlier diagnosis and thus a more effective control of risk factors for this disease and earlier treatment.

Keywords: *thermography, diabetes, prediabetes, diabetic neuropathy, cardiac autonomic neuropathy, diagnosis.*

1 INTRODUÇÃO

A avaliação da função nervosa em diabéticos é importante tanto para o diagnóstico como para a prevenção da neuropatia diabética (DICK, 1988; KAHN, 1992; CLAUS e MUSTAFA, 1993; PERKINS & BRIL, 2003; ENGLAND *et al*, 2009).

O início da neuropatia diabética é precoce e exibe grande variabilidade de manifestações clínicas, incluindo o comprometimento de diversas fibras nervosas somáticas e autonômicas (ZIEGLER *et al.*, 2006; ROLIM, 2008).

O diagnóstico tardio da neuropatia em diabéticos está associado à maior incidência de complicações dessa doença como, por exemplo, ulcerações e amputações típicas do “pé diabético” (LIRA *et al.*, 2005; LOW *et al.*, 2003) e risco cardiovascular aumentado, incluindo morte súbita (ROLIM, 2008).

Dados como os citados acima motivaram a presente pesquisa, que se propõe a associar métodos diagnósticos pouco ou não invasivos, disponíveis em nosso meio, a protocolos de investigação já recomendados pela comunidade científica internacional para a neuropatia diabética.

1.1 Definição e delimitação do problema

O diagnóstico de neuropatia em indivíduos diabéticos é usualmente tardio e não preconizado no pré-diabetes – segundo a *American Diabetes Association* (ADA, 2012) são diagnosticados como pré-diabéticos indivíduos com níveis de glicemia entre 100 e 125 mg/dl. Entretanto, sabe-se que a evolução da neuropatia diabética pode causar severas complicações, secundárias a déficits sensitivos e motores nos pés, com conseqüente dor neuropática de difícil controle, formação de úlceras plantares e amputações (OHSAWA & INAMORI, 2001; ASZMANN, TASSLER & DELLON, 2004; LAVERY, HIGGINS & LANCTOT, 2004). E ainda, no caso da neuropatia autonômica, o risco aumentado para eventos cardiovasculares (ROLIM, 2008).

O tratamento da neuropatia diabética costuma ser instituído apenas após confirmação do diagnóstico clínico pela eletroneuromiografia (ENMG), em geral quando há um quadro doloroso e incapacitante, fazendo com que o início de qualquer intervenção também seja

tardio (LIRA *et al.* 2005; TESFAYE, BOULTON & DICK, 2010).

Nesse contexto, métodos diagnósticos sensíveis associados com a finalidade do diagnóstico precoce das neuropatias seriam de grande utilidade em saúde pública devido à eficácia na prevenção de complicações, e risco de morte por um evento cardíaco súbito (ROLIM, 2008).

O diagnóstico da neuropatia diabética é extremamente importante, devendo ser o mais precoce possível, visto que os sintomas podem ser subclínicos por um longo período até o diagnóstico definitivo (ALBERS *et al.* 2007). Além disso, o tratamento nas fases iniciais pode corrigir alterações morfológicas das fibras nervosas, não recuperáveis tardiamente (VINIK, 2005).

1.2 Dados epidemiológicos

O Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e, ou, da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos metabólicos. Caracterizam-se por hiperglicemia crônica, frequentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - ADA, 2012).

Conforme a ADA (2012), a classificação do DM inclui quatro classes clínicas: diabetes tipo 1 (DM1), insulino-dependente, que ocorre por destruição das células β do pâncreas, geralmente levando à deficiência absoluta de insulina; diabetes tipo 2 (DM2, não insulino-dependente, que ocorre por resistência à insulina e deficiência de insulina); outros tipos específicos de diabetes (provenientes de outras causas tais como defeitos genéticos do funcionamento das células β do pâncreas ou da ação da insulina, doenças exógenas ou endógenas que danifiquem o pâncreas, indução do diabetes por drogas, substâncias químicas ou infecções); e DM gestacional (que ocorre apenas durante o período gestacional).

Estima-se que a prevalência do diabetes, considerando DM1 e DM2 apenas, esteja entre 1 a 4% da população mundial (VALENSI *et al.*, 1999).

Em termos mundiais, cerca de 30 milhões de indivíduos apresentavam DM em 1985, passando para 135 milhões em 1995 e 240 milhões em 2005, com projeção de atingir 366 milhões em 2030, dos quais dois terços habitarão países em desenvolvimento (WILD *et al.*, 2004).

No Brasil, dados sobre prevalência de DM, representativos da população residente em nove capitais, datam do final da década de 1980 (MALERBI; FRANCO, 1992). Naquela época, estimou-se que, em média, 7,6% dos brasileiros entre 30 e 69 anos de idade

apresentavam DM, que incidia igualmente nos dois sexos, mas que aumentava com a idade e a adiposidade corporal. As maiores taxas foram observadas em cidades tais como São Paulo e Porto Alegre, sugerindo o papel da urbanização e industrialização na patogênese do DM2. Um achado relevante foi o de que metade dos indivíduos diagnosticados diabéticos desconhecia sua condição. Isso significa que os serviços de saúde têm diagnosticado casos de DM tardiamente, dificultando o sucesso do tratamento em termos de prevenção das complicações crônicas.

Segundo os dados do estudo de Ribeirão Preto (SP), a prevalência do DM, na faixa dos 30 aos 69 anos, foi de 12,1% (em comparação com o Censo Nacional de Diabetes de 1988, no qual a prevalência nessa mesma faixa etária foi de 7,6%) sugerindo que o DM deve estar se tornando mais prevalente, pelo menos na população adulta residente neste estado (GOLDENBERG *et al.*, 2003).

Para uma estimativa mais atualizada da prevalência do DM em uma determinada população, como num município, por exemplo, deve-se levar em consideração a prevalência média do DM em três faixas etárias: abaixo de 30 anos, entre 30 e 69 anos e com 70 anos ou mais, aplicando esses índices de prevalência às respectivas populações de cada faixa etária, conforme o último censo populacional do IBGE. Com esta metodologia de cálculo, utilizando-se a prevalência do estudo de Ribeirão Preto (12,1%) ao invés da prevalência do Censo Nacional de Diabetes (7,6%) para a faixa etária de 30 a 69 anos, o número estimado de portadores de DM no Brasil é de aproximadamente 10,3 milhões (GOLDENBERG *et al.*, 2003).

Já em relação ao Pré-DM, conforme dados americanos de 2008, cerca de 57 milhões de pessoas nos EUA são portadoras, o que corresponde a mais de 25% da população (GARBER *et al.*, 2008). Grupos com um risco aumentado de desenvolver o Pré-DM incluem indivíduos com Síndrome Metabólica, pessoas com história familiar de diabetes, principalmente filhos de indivíduos com DM e mulheres com história pessoal diabetes gestacional (GARBER *et al.*, 2008).

1.3 Critérios diagnósticos para DM2 e Pré-DM

Conforme a ADA (2012), o diagnóstico do DM pode ser confirmado através de quatro critérios diferentes:

1. Exame de hemoglobina glicada (A1C) $\geq 6,5\%$. O teste deve ser realizado em laboratório utilizando-se o método certificado pelo *National Glycohemoglobin*

Standardization Program e padronizado pelo instrumento de avaliação *Diabetes Control and Complications Trial*; ou:

2. Glicose plasmática em jejum de, no mínimo, 8 horas ≥ 126 mg/dL; ou
3. Sintomas de hiperglicemia (poliúria, polifagia e excessiva perda de peso) e glicose plasmática casual ≥ 200 mg/dL, sendo a glicemia plasmática casual definida como aquela realizada a qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição; ou
4. Duas horas após a ingestão de 75 g de glicose anídrica dissolvida em água: glicose plasmática ≥ 200 mg/dL.

O critério utilizado deve ser repetido em mais um dia, caso o valor tenha ficado abaixo do esperado para hiperglicemia no primeiro exame. Já o critério 1 deve ser repetido pelo menos mais uma vez em um horário diferente do primeiro exame (ADA, 2012).

Quando a hiperglicemia não alcança os valores suficientes estabelecidos pelos critérios para diagnosticar diabetes, é classificada como dano à tolerância da glicose em jejum ou intolerância à glicose, dependendo do critério para diagnóstico que foi utilizado:

1. Glicose plasmática em jejum de, no mínimo, 8 horas entre 100 a 125 mg/dL; ou
2. Duas horas após a ingestão de 75 g de glicose anídrica dissolvida em água: glicose plasmática entre 140 a 199 mg/dL.

Essas condições são oficialmente denominadas Pré-DM pela ADA, sendo fator de risco para diabetes e doenças cardiovasculares.

Sabe-se através de estudos recentes que, a neuropatia autonômica cardíaca, que usualmente precede a neuropatia periférica em indivíduos com DM2, também pode ser precocemente diagnosticada no Pré-DM e portadores de Síndrome Metabólica, através de testes cardiovasculares como Espectograma e Variabilidade do intervalo R-R do eletrocardiograma (VALENSI et al., 1999; VINIK et al., 2003).

1.4 Conceito, epidemiologia e mecanismos fisiopatológicos da neuropatia diabética

A definição de neuropatia diabética para a prática clínica, segundo a posição oficial da ADA (2012) data de 2005, estabelecida por Boulton e colaboradores: “a presença de sintomas ou sinais de disfunção nervosa periférica em indivíduos diabéticos após a exclusão de outras causas” (BOULTON

et al., 2005).

Embora o diagnóstico não possa ser feito sem uma cuidadosa anamnese e exame clínico detalhado dos membros inferiores, a ausência de sintomas não deve ser interpretada como ausência de sinais e, a confirmação diagnóstica pode ser estabelecida através de testes quantitativos eletrofisiológicos, sensitivos e de função neurovegetativa (BOULTON e VINIK; 2001 e BOULTON *et al.*, 2005; MOREIRA; LEITE, CAVALCANTI; OLIVEIRA, 2005; BOULTON & MALIK, 2010).

As neuropatias diabéticas são as complicações mais comuns do diabetes atingindo, em estatística norte-americana de 2007, prevalência de 45 a 50% comparada a 25 a 30% da retinopatia e 20% da nefropatia diabética (SHAW; ZIMMET, 2007). Apresentam formas heterogêneas, podendo ser focais ou difusas, mas as forma mais comuns são a polineuropatia simétrica sensitivo-motora crônica e a neuropatia autonômica (ADA, 2012).

A classificação proposta por Thomas (1997) para a neuropatia diabética é ainda utilizada como referência atual e divide, primariamente, as neuropatias em polineuropatias simétricas generalizadas (sensitiva aguda, sensitivo-motora crônica e autonômica) e neuropatias focal e multifocal (pares cranianos, truncal, focal e motora proximal ou amiotrofia).

A **neuropatia sensitiva aguda** é pouco frequente e relacionada com falha no controle metabólico como cetoacidose ou rápida alteração de glicemia; é caracterizada por crise severa e intensa de sintomas sensitivos com exacerbação noturna e carência de sinais ao exame físico. A história natural desse tipo de neuropatia é a melhora espontânea, que ocorre dentro de um ano após o início dos sintomas, geralmente seguindo-se ao controle metabólico (ROLIM *et al.*, 2006).

A **polineuropatia sensitivo-motora crônica** é o quadro mais frequente de neuropatias diabéticas, provocando sintomas em mais de 50% dos pacientes (mais comumente dor em queimação, parestesia, hiperestesia e dor profunda em queimação). Os sintomas tipicamente pioram à noite e são mais frequentes em pés e membros inferiores, sendo que, em alguns casos, podem acometer também as mãos (VINIK; ERBAS, 2001). Como quase a metade dos pacientes é assintomática, o diagnóstico pode ser feito, muitas vezes, apenas por exames físicos e laboratorial minucioso ou, infelizmente, quando o paciente já apresenta úlcera plantar indolor. Sua prevenção, pelo que se sabe até o momento, é através de cuidados com o controle metabólico do paciente e, em especial, dos níveis glicêmicos (CLAUS *et al.*, 1993; LOW *et al.*, 2003).

As **neuropatias autonômicas** são disfunções do sistema nervoso neurovegetativo relacionadas com as alterações metabólicas do diabetes e pré-diabetes, após exclusão de outras causas. Podem afetar os sistemas cardiovascular, gastrointestinal, urogenital e funções sudomotoras.

Isto pode resultar em sinais e sintomas vagos, permanecendo não reconhecidos por algum tempo ou apenas ser detectado por testes específicos por serem alterações subclínicas (EWING *et al.*, 1980; DICK, 1988; VINIK, 2003; BOULTON, 2005). Entretanto, a neuropatia autonômica grave pode se apresentar com uma variável combinação de hipotensão postural, diarreia noturna, problemas gástricos, sintomas urinários, sudorese anormal, impotência (em homens) e dificuldade de reconhecer a hipoglicemia. Do ponto de vista de morbimortalidade do diabetes, a neuropatia autonômica tem um papel importante quando compromete o controle autonômico cardiovascular (RATHMAN *et al.*, 2003; BOULTON *et al.*, 2005; VINIK *et al.*, 2007). A neuropatia autonômica pode também ser somática, comprometendo a inervação simpática de extremidades, como pés e mãos, provocando respostas vasculares alteradas a estímulos térmicos e que pode ser avaliado clinicamente em casos avançados (falhas nos *shunt* arteriovenoso) ou mapeados termicamente através da termografia (SUNDKVIST *et al.*, 1986; BRIOSCHI *et al.*, 2003; BHARARA *et al.*, 2006; RING, 2010; NAGASE *et al.*, 2011-a,b).

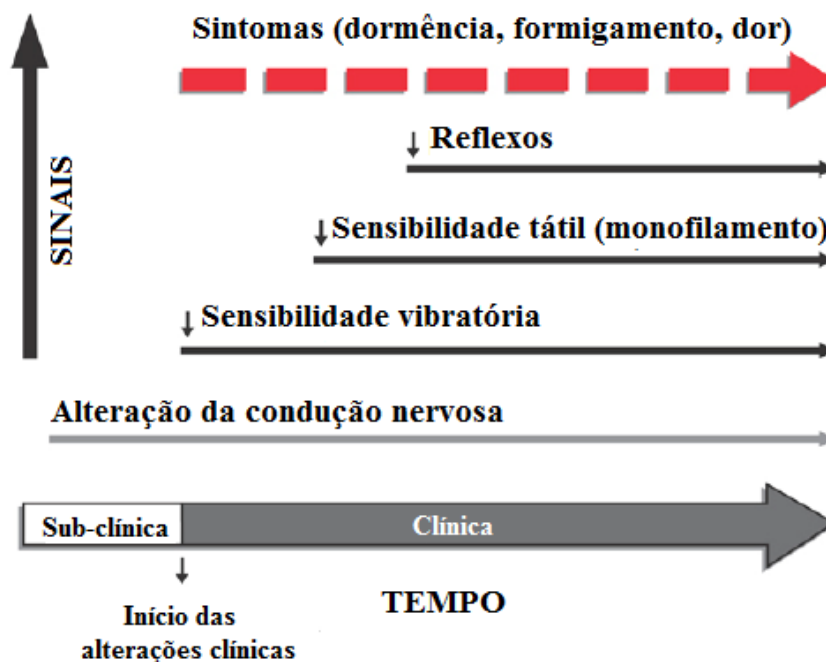


Figura 1: Evolução dos sinais e sintomas da polineuropatia diabética sensitivo motora crônica. Adaptado de Abbot *et al.* 1998.

A Neuropatia Autonômica Cardíaca (NAC) apresenta uma prevalência de 2,5 a 50% em indivíduos diabéticos. Fatores que influenciam esta prevalência incluem os critérios diagnósticos utilizados, a idade e a duração do diabetes (VALENSI *et al.*, 2003; LOW *et al.*,

2004; TESFAYE *et al.*, 2010). Há correlação com fatores de risco cardiovasculares e preditores como a falta de controle glicêmico, presença concomitante de polineuropatia diabética, nefropatia e retinopatia, níveis elevados de pressão arterial, obesidade, tabagismo, e níveis elevados de colesterol e triglicérides (VALENSI *et al.*, 2003; WITTE, TESFAYE, *et al.*, 2005).

A presença de NAC está associada significativamente com o maior índice de mortalidade e de morbidade em pacientes diabéticos, expressos nos eventos como isquemia miocárdica silenciosa, doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico, entre outras (EWING *et al.*, 1980; HOWORKA *et al.*, 1998; RATHMANN *et al.*, ROLIM *et al.*, 2008).

Alguns autores recomendam a estratificação do risco cardiovascular em pacientes com ou sem doença cardiovascular estabelecida como um marcador para pacientes que requeiram monitorização mais intensiva no período pós-operatório e outras situações de estresse fisiológico, bem como o manejo farmacoterapêutico e condições de comorbidades (WITTE, TESFAYE, *et al.*, 2005; MASER *et al.*, 2005; ROLIM *et al.*, 2008).

A avaliação da NAC é feita por testes reflexos já padronizados, com boa sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, não invasivos e seguros para os pacientes (EWING, 1973; PERKINS; BRIL, 2003). Os mais amplamente utilizados são baseados na avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) no domínio do tempo ou da frequência, em resposta a manobras provocativas como respiração profunda, Manobra de Valsalva, e mudanças de postura. Desses testes, a VFC à respiração profunda tem a maior especificidade para avaliação de funções parassimpáticas (cerca de 80%). A função cardiovascular simpática é avaliada medindo a pressão arterial em resposta a alterações ortostáticas e à manobra de Valsalva. Uma combinação desses testes, seguindo rigoroso protocolo pré-exame (restrição a medicações por um período específico, jejum, medição de índice glicêmico, entre outras medidas pertinentes a testes autonômicos). Correções com a faixa etária, e associação com testes de função sudomotora (ou como proposto aqui, pela associação com a Termografia plantar) podem permitir uma maior acurácia diagnóstica da neuropatia autonômica diabética (ROLIM *et al.*, 2008; ENGLAND *et al.*, 2009).

Há a recomendação de triagem para NAC pelos Consensos publicados pelas principais sociedades internacionais de DM (ADA, 2012; ENGLAND *et al.*, 2009; TESFAYE *et al.*, 2010): no momento do diagnóstico do DM2, cinco anos após o diagnóstico do DM1 (MAKIMATILA *et al.*, 2000), particularmente em pacientes de maior risco por história de controle glicêmico pobre, fatores de risco cardiovasculares associados e presença de complicações da doença. Os critérios diagnósticos e estadiamento da NAC é discutido nos

Consensos citados acima, com a concordância de que, no mínimo, dois testes são necessários para definir o diagnóstico de NAC. Em nosso protocolo optamos pela classificação proposta por Rolim e colaboradores em 2008, considerando sua alta reprodutibilidade.

Índices no domínio da frequência obtidos pela aplicação da análise espectral da VFC em exames de curta duração (5 minutos de ECG de repouso) proveem medidas da modulação simpática e parassimpática cardiovascular (MALLIANI *et al*, 1991). A NAC estabelecida é considerada quando ao menos três dos sete parâmetros testados estão alterados (especificidade de 100%); se há dois parâmetros alterados, considera-se NAC incipiente (especificidade de 98%).

Quadro 1: Protocolo e Tabela de valorização de testes cardíacos segundo Rolim (2008).

PROTOCOLO DE TESTES CARDIOVASCULARES

Testes de Ewing (03 principais)

1) Variação da Frequência Cardíaca durante Respiração Profunda:

Paciente em decúbito dorsal com tronco superior elevado a 30º e calmo, solicitando-se que faça 06 respirações profundas em 1 minuto, inspirando durante 5 segundos e expirando por outros 5 segundos. Durante este período é realizado o ECG, marcando-se no traçado o início de cada inspiração e expiração. O menor intervalo R-R da inspiração e o maior da expiração, a cada ciclo, são convertidos em batimentos por minutos (bpm). O resultado é expresso como a média da diferença da FC máxima e FC mínima dos 06 ciclos, dentro dos limites de normalidade. Normal: ≥ 15 bpm; limítrofe, 11 a 14 e anormal: ≤ 10 bpm.

2) Resposta da Frequência Cardíaca à Manobra de Valsalva:

Paciente em decúbito dorsal com tronco superior elevado a 30º, soprando um bico conectado a um manômetro de mercúrio com esforço suficiente para manter a pressão expiratória em 40 mm Hg e por 15 segundos, enquanto se registra continuamente o ECG, que se continua por outros 15 segundos após a liberação do esforço. A manobra é realizada por 3 vezes, com intervalo de 1 minuto. O resultado é expresso em taxa de Valsalva, que é a razão entre as durações do maior intervalo R-R após a manobra (bradicardia) e do menor intervalo R-R durante o esforço (taquicardia do esforço). A medida é feita com régua milimetrada. No traçado do ECG. A média das 3 razões é aceita como valor final, dentro dos seguintes parâmetros: normal, $\geq 1,21$ mm/seg; limítrofe, 1,11 a 1,21 mm/seg; anormal, $\leq 1,10$ mm/seg.

3) Teste da razão 30:15 (resposta imediata da frequência cardíaca ao levantar):

Inicia com o indivíduo deitado com tronco superior elevado a 30º e com traçado de ECG contínuo. A seguir, ele é solicitado a levantar-se de uma só vez. O instante em que coloca o pé no chão é anotado no traçado do ECG até o 31º batimento que continua registrando ECG. O encurtamento do intervalo R-R entre o 10º e 15º batimento e o alongamento do intervalo do 30º batimento e o seguinte são medidos por régua. A taxa cardíaca é expressa pela razão 30/15, dentro dos limites: normal, $\geq 1,04$, limítrofe, 1,01 e 1,03; anormal, $\leq 1,00$.

4) Teste da pressão arterial ao ortostatismo:

O teste é realizado medindo a pressão arterial com o indivíduo deitado e relaxado, por 3 a 5 minutos e, novamente, no primeiro minuto após levantar-se. O cálculo é feito pela diferença das pressões sistólicas, deitado e em pé. Este simples teste é anormal apenas quando há SEVERO comprometimento simpático e seus limites são os seguintes: normal, ≤ 10 mm Hg; limítrofe, 11 a 20 mmHg e anormal, ≥ 30 mmHg.

Interpretação dos resultados:




PARÂMETRO		FAIXA NORMAL
TP	3416+/- 1018	
VLF	1440 a 525	> 142 ms2
LF	1170 +/- 416	> 54ms2
HF	975 +/- 203	> 142 ms2
LF/HF		

PARÂMETRO	Normal	Valor limítrofe	Valor Patológico
C resp	> 1,12	1,12- 1,12	< 1,12
C 30/15	> 1,09	1,09 -1,09	< 1,09
C vals	> 1,45	1,45 -1,45	< 1,45
PAS reduzida (orto)	< 11	11-25	> 25

NAC ESTABELECIDA: ao menos 3 dos 7 parâmetros estão alterados (especificidade de 100%).

02 testes anormais: NAC INCIPIENTE (especificidade de 98%).

Eixo Y: Magnitude da FC/ms / Eixo X: frequências , em Hz

		
HIPOTÁLAMO (SNC) Regula tônus vasomotor	BARORECEPTOR (Simpático, modulado pelo Vago)	VAGO Tônus vagal; Altera frequentemente com respiração (teste de Respiração Profunda)

Há 08 sub-tipos de NAC

Em diabéticos: altera primeiro HF (AZUL), em segundo, LF (VERMELHO) e , por último , VLF (VERDE).

NAC INICIAL:

Redução da atividade do nervo vago (PARASSIMPÁTICO). Até pode ter atividade aumentada SIMPÁTICA: insuficiência diastólica assintomática –déficit de enchimento (ecodoppler colorido bem feito pode mostrar). Diabéticos desnervados= equivalente isquêmico= dispnéia.

Estadiamento:

*Teste com Valsalva alterado: mais GRAVE.

**VALSALVA avalia SIMPÁTICO+ PARASSIMPÁTICO. Mostra relação com isquemia silenciosa.

*Grave: também com hipotensão ortostática. Taquicardia máxima no décimo quarto segundo.

TESTE ORTOSTÁTICO: Se dá valor, atualmente, somente à pressão sistólica.

Sistólica > 20 mm Hg no terceiro minuto após ortostatismo . Entre 10-20, “ border-line”.

Índice 30:15= em torno do trigésimo batimento após o indivíduo levantar-se.

RESPIRAÇÃO PROFUNDA: Arritmia sinusal; taquicardia na inspiração e bradicardia na expiração.

Acréscendo-se os três principais índices da **Análise Espectral** aos Testes de *Ewing* a sensibilidade e especificidade da análise de VFC (variabilidade da frequência cardíaca) aumenta para 99%. Com este protocolo, a presença de NAC (Neuropatia Autonômica Cardíaca) incipiente é definida por dois testes anormais, com especificidade de 98% e a NAC estabelecida é definida por três testes anormais, com especificidade de 100%.

(Task Force of the European Society. **Circulation** 1996; ROLIM *et al.*,2008)

O termo sistema nervoso simpático foi criado por Jacob B. Winslow, anatomista francês nascido na Dinamarca também conhecido como Jacques Benigne Wilson, em 1732 (apud SOBRINHO, 2003), tirado da palavra grega "Simpatein=sofrer com" para descrever uma parte do sistema nervoso que fazia com que ocorresse uma disfunção ou lesão em um

órgão pela doença ou alteração de outro órgão, graças às inúmeras interconexões dessa porção do sistema nervoso ligando praticamente todas as vísceras entre si. A partir disso vem também a denominação "sistema nervoso parassimpático" (SOBRINHO, 2003).

O termo "sistema nervoso autônomo" foi proposto por John Langley em 1921 (apud SOBRINHO, 2003) que considerava este sistema como que independente das regiões não vegetativas do sistema nervoso central. No entanto a participação do sistema nervoso neurovegetativo no controle do organismo se faz presente em todas e quaisquer funções, proporcionando reações adequadas e coordenadas com o sistema nervoso da vida de relação, através de suas íntimas conexões com os centros corticais tanto pré como pós-rolândricos, com os núcleos da base, com o diencéfalo e formação reticular. Estas conexões são recíprocas, agindo os centros neurovegetativas sobre os centros de vida de relação e vice-versa, modulando-se reciprocamente (SOBRINHO, 2003). No presente trabalho o "sistema nervoso neurovegetativo" será tratado ainda como "sistema autonômico simpático e parassimpático" devido ao uso ainda corrente desse termo na literatura clínica médica.

A **neuropatia focal** (ou mononeuropatia) ou **multifocal** (mais de um nervo periférico afetado, porém, sem padrão de simetria) pode ocorrer de forma insidiosa e acomete, nesta ordem de prevalência, o nervo mediano, ulnar, radial e fibular comum. Neuropatias de pares cranianas são bastante raras. Os estudos eletrofisiológicos são importantes no diagnóstico diferencial e localização de bloqueios de condução localizados. A **amiotrofia diabética** ocorre mais comumente em pacientes com DM2, com quadro clínico expressando severa dor neuropática e fraqueza muscular uni ou bilateral e atrofia de músculos proximais das coxas.

A fisiopatologia da neuropatia diabética é caracterizada pela progressiva perda de fibras nervosas, causando sintomas e sinais positivos e negativos como dor, parestesia e perda de sensibilidade. A perda de fibras nervosas apresenta um padrão pan-modal com gradiente distal-proximal, relacionado com o comprimento das fibras; as fibras finas são preferencialmente afetadas em estágios iniciais da doença, seguidas pelo comprometimento das fibras grossas, evidenciado por redução da velocidade de neurocondução ou redução da sensibilidade vibratória. Sabe-se atualmente, que em estágio iniciais, alterações microangiopáticas precedem a perda de fibras nervosas (YAGIHASHI; YAMAGISHI; WADA, 2007).

Baseado nas alterações estruturais evidenciadas nos nervos periféricos de diabéticos, pode-se considerar que os sintomas e sinais seguem uma evolução lógica; durante o processo ativo de

degeneração de fibras nervosas ou de reinervação incompleta, surgem dele os sintomas como dor ou parestesia (sintomas positivos). Já quando as fibras foram perdidas, a perda de sensibilidade toma lugar e surgem os sintomas chamados de “negativos”. O risco dos sintomas negativos é justamente a falta de queixa do paciente diabético e, conseqüentemente, o maior risco de úlceras plantares (YAGIHASHI;YAMAGISHI;WADA, 2007).

Uma característica particular da neuropatia diabética é a presença de microangiopatia endoneural, que aparece em estudos histológicos como uma redução de espessura e multiplicação de membranas basais dos vasos endoneurais, e células endoteliais edemaciadas similares a outras encontradas em tecidos como pele, músculo, rim de diabéticos, e que aparecem de forma paralela à redução da densidade de fibras nervosas mielinizadas pela perda de fibras nervosas, sugerindo forte correlação entre microangiopatia e o desenvolvimento da neuropatia diabética (YAGIHASHI;YAMAGISHI;WADA, 2007).

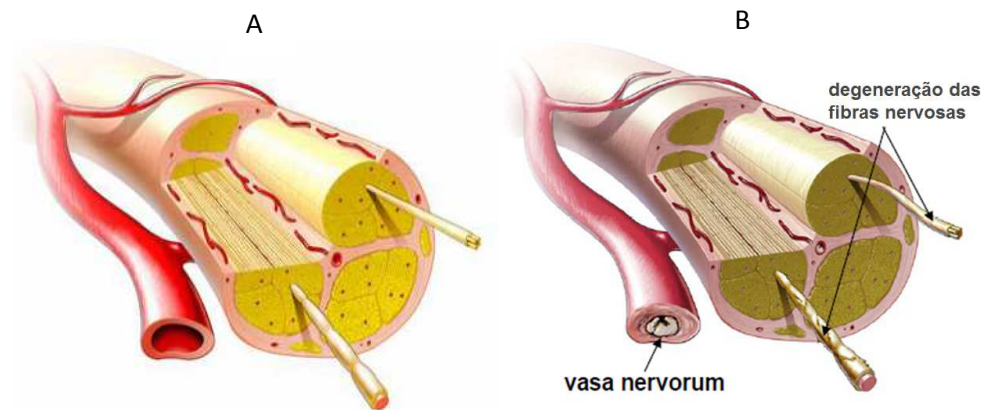


Figura 2: Dano microvascular leva a neuropatia diabética periférica. Análise de tecidos de pacientes com DM revelam dano capilar, incluindo oclusão do *vasa nervorum*. Redução no aporte sanguíneo resulta em danos na sinalização nervosa que altera as funções nervosas sensitiva e motora. A: figura esquemática de um nervo normal. B: figura esquemática de um nervo danificado, com degeneração de fibras nervosas mielinizadas e amielínicas e oclusão do *vasa nervorum*. Adaptado de DICK e GIANNINI, 1996; SHEETZ e KING. 2002.

Alterações funcionais e estruturais detectadas em estudos experimentais de nervos periféricos em modelos animais têm explorado os mecanismos moleculares envolvidos, sugerindo causas multifatoriais. Entretanto, a hiperglicemia parece ser o fator causal mais evidente, relacionado ao estresse oxidativo gerado. O desenvolvimento parece estar associado não apenas à perda neuronal no diabetes, mas, na redução da capacidade de regeneração, particularmente, de fibras finas. Em pacientes com neuropatia diabética, ambas as situações podem estar presentes de forma simultânea: degeneração e regeneração, indicando uma situação dinâmica. A incapacidade de regeneração de fibras nervosas está relacionada ao grau

de neuropatia sugerindo que, intervenções terapêuticas para regeneração serão mais efetivas em estágio iniciais da doença (POLYDEFKIS, GRIFFIN & McARTHUR, 2003). Os mecanismos relacionados com a perda de capacidade de regeneração podem incluir a deficiência do mecanismo de insulina, perda do sistema de fatores de crescimento e redução de isoformas específicas de proteína C Kinase. Células de Schwann são importantes no processo regenerativo e também podem estar deficitárias no diabetes devido a hiperglicemia, hipóxia, e estresse oxidativo (21).

A hiperglicemia duradoura ou em picos **estimula a ativação da via poliol**, convertendo glicose a sorbitol através da enzima aldose redutase, consumindo NADPH e, conseqüentemente, glutatona, do citosol, aumentando assim, o estresse oxidativo e deixando a célula vulnerável aos radicais livres. O acúmulo de sorbitol também promove um estresse osmolar celular, que pode gerar um adicional estresse oxidativo.

Hiperglicemia também promove uma atividade alterada da proteína quinase C, que, em acabar afetando o fluxo vascular, gerando doença microvascular mais do que as células nervosas diretamente. O papel da proteína C quinase na gênese da neuropatia possivelmente se relaciona com a lesão da célula endotelial que, quando normalizada em ratos diabéticos levou a uma normalização na condução nervosa (DAS EVICIMEN & KING, 2007). Ensaios clínicos baseados nesses conceitos confirmam que o manejo precoce da hiperglicemia já é um tratamento preventivo da neuropatia diabética (YAGIHASHI;YAMAGISHI;WADA, 2007).

Não pretendendo esgotar o assunto, cabe ainda citar como mecanismos envolvidos na gênese na neuropatia diabética a atividade de três classes de MAP quinases , ERK1/2, JNK e p38, ativadas na raiz do gânglio dorsal de ratos diabéticos. Estas vias são sinalizadas por espécies reativas de oxigênio em diferentes maneiras e respondem experimentalmente a tratamento com drogas antioxidantes (TOMLINSON & GARDINER, 2008). Também, o mecanismo mitocondrial de formação de espécies reativas de oxigênio e lesão neuronal ativados por picos de hiperglicemia pode ser um contribuinte na gênese da neuropatia diabética em pacientes com bom controle geral da glicemia. Esta hipótese explicaria a neuropatia, por vezes significativa e dolorosa gerada por picos pós-prandiais de hiperglicemia ou mesmo em pré-diabéticos (POLYDEFKIS, GRIFFIN & McARTHUR, 2003).

Alterações no sistema microvascular em diabéticos parecem estar em íntima relação com as neuropatias distais, visto que, a regulação do fluxo cutâneo depende das anastomoses arterio-venosas, que são estruturas altamente inervadas. Apesar da conhecida função de fibras simpáticas no controle microcirculatório das extremidades, não se sabe, até o momento, o

quanto a disfunção das anastomoses arterio-venosas resulta de uma lesão nervosa fibra-específica ou é um reflexo do dano vascular (VINIK *et al.*, 2001b). Este aspecto será posteriormente discutido quando da aplicação da termografia computadorizada por infravermelho na avaliação de pés diabéticos.

Mesmo com adequado monitoramento dos indicadores de desequilíbrio metabólico, neuropatias periféricas que acometem preferencialmente as fibras mielínicas finas e fibras amielínicas, poupando as grossas, podem ser subclínicas e não serem identificadas pelo métodos laboratoriais convencionais (ALBERS *et al.*, 2007).

O diagnóstico da neuropatia diabética se dá através do exame clínico neurológico, incluindo teste de reflexos e sensibilidades vibratória e tátil, preferencialmente associados a testes neurofisiológicos quantitativos (DICK, 1988; PERKINS & BRIL, 2003; SOUZA *et al.*, 2005; TESFAYE *et al.*, 2010). Seu tratamento costuma ser iniciado apenas quando há dor neuropática, ou mais tardiamente pela existência de calosidade e ulcerações nos pés ocasionadas como uma complicação da perda ou redução da sensibilidade plantar (TESFAYE *et al.*, 2010).

Já desde a década de 1990, com a divulgação do Consenso Europeu sobre neuropatia diabética (KAHN, 1992; BOULTON, 1998) iniciou-se a recomendação do exame anual para detecção precoce da NAC, através de *testes de Ewing* (EWING *et al.*, 1985), somados a métodos de avaliação da VFC tanto para diabéticos como para os Pré-DM. Entretanto, existe um número escasso de serviços especializados públicos ou privados, em nosso país, que oferecem estes testes aos seus pacientes. A NAC em geral precede os sintomas neuropáticos periféricos, sendo, quando diagnosticada laboratorialmente de forma sub-clínica, um alerta preventivo ao “pé diabético”, secundário à neuropatia diabética (BOULTON, 1998; ROLIM *et al.*, 2008).

1.5 Diagnóstico diferencial da neuropatia diabética

Na avaliação diagnóstica de neuropatia diabética, inicialmente é necessário excluir outras causas secundárias de polineuropatia, tais como alcoolismo, hipotireoidismo descompensado, disproteinemias, anemia, uso de drogas potencialmente neurotóxicas, radiculopatia lombossacral, compressão medular. Essa avaliação pode ser realizada através da história do caso e de exames laboratoriais (LOW *et al.*, 2003; BOULTON; VINIK *et al.*, 2005).

1.6 Métodos para o diagnóstico da neuropatia diabética

Divergências entre os métodos de investigação diagnóstica da neuropatia diabética divulgados nas publicações científicas ocorrem, justamente porque as mesmas são oriundas de objetivos diferentes quanto ao diagnóstico em questão. Além da eficácia do método diagnóstico, deve-se ter em mente a possibilidade de aplicação de um método específico para uma população-alvo. Exemplificando o acima exposto, percebe-se que, no Consenso da Associação Americana de Diabetes, publicado em janeiro de 2012, há uma valorização dos aspectos clínicos em seu conjunto (sintomas e sinais clínicos) como protocolo padrão recomendado na triagem da neuropatia diabética. Exclui-se a obrigatoriedade de testes laboratoriais quantitativos ou por não estarem disponíveis devido ao seu alto custo e complexidade ou porque os estudos publicados apresentavam uma amostra pequena, não representativa ou mesmo por viés no desenho do estudo (*Standards of Medical Care in Diabetes-2009-American Diabetes Association*). Entretanto, há pesquisas já publicadas ou em andamento com métodos diagnósticos quantitativos em neuropatia diabética que são promissores, ou por possibilitarem diagnóstico mais precoce do que sinais e sintomas clínicos, por serem reprodutivos e menos subjetivos, como os são os aspectos clínicos (VARGAS *et al.*, 2009; ENGLAND *et al.*, 2009). Pode-se pensar que estes métodos, hoje pouco disponíveis, poderão ser incluídos, em um futuro próximo em protocolos de triagem. Salienta-se aqui a inclusão de testes neurofisiológicos.

Os testes neurofisiológicos convencionais para o estudo das polineuropatias são testes de neurocondução sensitivo-motora para confirmação de uma suspeita clínica. A eletroneuromiografia com medidas de velocidade de condução nervosa é considerada como o padrão de referência ou “padrão-ouro” no diagnóstico das neuropatias de fibras nervosas grossas (PERKINS & BRIL, 2003).

Devemos lembrar que, uma das complicações mais severas do indivíduo diabético é a úlcera plantar e seu maior risco para amputação. Disfunções sudomotoras podem resultar em ressecamento da pele da região plantar e esta está associada a um maior risco de ulceração, bem como alterações de temperatura local por pressão plantar mal distribuída (LAVERY *et al.*, 2004). Glândulas sudoríparas são inervadas por fibras-C simpáticas não-mielinizadas colinérgicas, pós-ganglionares e possuem função sudomotora. A avaliação da função sudomotora nos pés torna-se, então, de grande valia na pesquisa diagnóstica da neuropatia diabética e, como não envolve fibras grossas, não será detectada pela ENMG ou mesmo pela bateria de testes clínicos, incluindo o exame neurológico do Inventário de Michigan (ENGLAND *et al.*, 2009).

Os testes sensitivos quantitativos como, por exemplo, o QST (*Quantitative Sensitive*

Test), o QSART (*Quantitative Sudomotor Axonal Reflex Test*) são métodos de referência capazes de detectar polineuropatia de fibras finas com uma sensibilidade de 75% (ENGLAND *et al.*, 2009) e pode ser usado tanto para a clínica como para a pesquisa. Não utilizamos em nosso protocolo pela indisponibilidade do equipamento para a presente pesquisa.

A biópsia de pele é um procedimento minimamente invasivo, que permite avaliar e quantificar fibras nervosas epidérmicas e terminações livres (IENF). Apresenta sensibilidade de 77.2 % e especificidade de 79.6%, com baixa variabilidade inter e entre-observador (ENGLAND *et al.*, 2009). A *American Academy of Neurology (AAN)*, *American Academy of Electrodiagnostic Medicine (AAEM)*, e *American Academy of Physiscal Medicine & Rehabilitation (AAPMR)* provê o nível C de recomendação para a biopsia de pele no diagnóstico da ND. Já a *European Federation of Neurological Societes* em sua ultima revisão, indica nível A de recomendação para este diagnóstico.

A biópsia de nervo pode detectar lesão em fibras não mielinizadas de forma precoce porém, trata-se de um método invasivo, não isento de riscos, restringindo seu uso como rotina e reservando-o para casos individualizados (ENGLAND *et al.*, 2009) .

A microscopia corneal confocal é uma técnica não invasiva que também pode detectar lesão de fibras finas em diabéticos e ainda pouco disponível em nosso meio para diagnóstico de neuropatia de fibras finas (ENGLAND *et al.*, 2009).

A estimulação de fibras C-nociceptivas por iontoforese com acetilcolina induz vasodilatação que pode ser quantificada e, assim, avaliar função de fibras nervosas finas. Os Potenciais Evocados por LASER (AGOSTINO; CRUCCU *et al.*, 2000) e Imagem por Laser Doppler (*LDIflare*), para avaliar fibras C (KRISHNAN;RAYMAN, 2004), são bem validados mas, pouco disponíveis fora dos ambientes de pesquisas acadêmicas pelo seu alto custo e exigência de operador bem treinado.

A termografia computadorizada por infravermelho, de interesse especial da presente pesquisa é proposta aqui, na avaliação plantar, como método de estudo de função vasomotora e de seu componente neurovegetativo (autônômico), sabidamente comprometido nas neuropatias diabética (LANGER, L.;FAGERBERG, SE.,JOHNSÉN, 1972; EWING;CLARKE, 1991; FUSHIMI *et al.*, 1996; SANTIAGO;FERRER;ESPINOSA,2000; ZOOTER *et al.*, 2003). O método é reconhecido pela *Food and Drug Administration* como método diagnóstico coadjuvante em patologias vasculares centrais e periféricas, patologias de mamas e tireóide, distúrbios músculo-esqueléticos, processos inflamatórios em geral, neoplasias e neuropatias (*American Academy of Thermology*).

O Consenso da ADA(2009) recomenda que todos os pacientes diabéticos passem por triagem anual através dos testes de sensibilidade tátil, temperatura e percepção vibratória com diapásão de 128 Hz, aplicação de monofilamento de 10 g no hálux distal e reflexo Aquileu. Entretanto, cabe aqui lembrar aspectos neurofisiológicos dos recursos diagnósticos citados acima, que avaliam apenas fibras nervosas grossas, que são tardiamente acometidas na neuropatia diabética. O examinador deve estar atento a sintomas e sinais de disfunção autonômica, que, frequentemente, incluem pés quentes ou frios, algumas vezes com as veias dorsais dos pés distendidas (em ausência de obstrução vascular periférica), pele seca e presença de calosidades em áreas de maior pressão plantar (BHARARA *et al.*, 2006).

No Brasil, o “Projeto Diretrizes”, da Associação Médica Brasileira em conjunto com o Conselho Federal de Medicina, publicado em 2005 (MOREIRA; LEITE, CAVALCANTI; OLIVEIRA, 2005), também considerou o exame clínico como o padrão “ouro” no diagnóstico da neuropatia diabética, incluindo tanto a obtenção de uma história clínica completa como o exame detalhados dos pés, incluindo testes para a sensibilidade dolorosa, vibratória, e teste do reflexo aquileo.

Perkins e Brill (2003) em sua revisão publicada na revista *Clinical Neurophysiology*, compararam diferentes testes diagnósticos utilizados em protocolos de neuropatia diabética. Comentam que, a associação de testes diagnósticos alcança uma maior acurácia diagnóstica e recomendam protocolo de neurocondução de nervos mediano e sural (sensitivos) e nervo fibular (motor) considerando a variável amplitude dos potenciais e latências distais, que apresentam maior sensibilidade do que outros nervos ou medidas de velocidades de neurocondução. Estes testes também apresentam boa reprodutibilidade. Quando comparados os testes clínicos (sensibilidade tátil, térmica e vibratória), foram menos sensíveis do que os testes de neurocondução. O teste de sensibilidade vibratória com instrumentos eletrônicos não foram superiores ao uso do diapásão. Testes de sensibilidade térmica e de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foram úteis na bateria de testes para avaliar fibras C e autonômicas, respectivamente, mas, não substituem os testes de neurocondução no diagnóstico de neuropatia diabética. A combinação de diferentes testes obteve 98% de eficácia na classificação da neuropatia em grupos (estadiamento): velocidade de condução nervosa sensitiva do nervo sural, velocidade de condução nervosa motora dos nervos mediano e fibular, sensibilidade vibratória com diapásão de 128 Hz no hálux, teste de sensibilidade térmica ao frio e coeficiente de VFC. Em resumo, os autores recomendam que, para triagem diagnóstica de polineuropatia diabética se incluam testes combinados que permitam avaliar fibras sensitivas e motoras somáticas, bem como funções autonômicas e viscerais, como

recomendado já em 1998 na *San Antonio Conference (San Antonio, Texas, USA, 1988)*.

Sundkvist e colaboradores (1986) publicaram um estudo prospectivo comparando eventos termográficos na superfície plantar e testes padronizados de *Ewing*, para detectar NAC e alterações termográficas nos pés de indivíduos com DM1 em dois momentos evolutivos; com amostra de vinte e três pacientes, encontraram correspondência na interpretação de fenômenos fisiológicos envolvidos na NAC e nas reações termográficas plantares secundárias ao esfriamento (manobra provocativa com frio), pelo exacerbado tônus simpático ou parassimpático. Hauer e colaboradores (1991) estudaram as imagens termográficas das mãos de diabéticos com NAC confirmada pelos testes de *Ewing* (padrão de referência para esse diagnóstico) comparados a um grupo controle de não-diabéticos, reforçando a ideia inicial da sensibilidade da termografia por imagem infravermelha no diagnóstico de disfunções neurovegetativas.

1.7 Estadiamento da neuropatia diabética

Para a avaliação da evolução da neuropatia diabética, bem como para o acompanhamento de intervenções terapêuticas, é necessário o desenvolvimento de uma forma de estadiamento. Estudos de Dick e colaboradores (apud PERKINS e BRIL, 2003) propuseram quatro estágios: estágio 0, sem neuropatia; estágio 1, neuropatia assintomática; estágio 2, neuropatia sintomática; e estágio 3, neuropatia incapacitante.

Em cada um desses estágios, a neuropatia é subclassificada como motora (M), sensitiva (S) ou autonômica (A). Os critérios mínimos para o diagnóstico são: duas ou mais anormalidades em um ou mais dos seguintes testes: escore de sintomas de membros inferiores, estudo eletrofisiológico, avaliação quantitativa da sensibilidade (vibratória ou térmica), estudo autonômico cardiovascular (sendo pelo menos um dos testes anormais: condução nervosa ou teste autonômico). A perda motora, manifestada pela incapacidade de caminhar sobre os calcanhares, é utilizada para fazer a distinção, no estágio 2, entre comprometimento leve e grave.

Outra abordagem de estadiamento um pouco mais simples foi elaborada pela Universidade de Michigan (apud PERKINS e BRIL, 2003; *MNSI online* (<http://www.med.umich.edu/mdrtc/profs/survey.html>))

Nessa, inicialmente o paciente é submetido a um questionário simples e exame físico passível de ser realizado por clínicos ou enfermeiras. O paciente que tem um escore elevado é

avaliado posteriormente conforme um instrumento conhecido como Escore de Michigan, no qual se verificam sintomas, anormalidades eletrofisiológicas, sensibilidade e motricidade. Com base nessa categorização, o paciente é classificado em um dos quatro estágios: 0, sem neuropatia; 1, neuropatia leve; 2, neuropatia moderada; e 3, neuropatia grave. O Escore de Michigan se correlaciona com o de Dick (1988), embora não avalie neuropatia autonômica. Experiências adquiridas na aplicação do rastreamento mostram que os testes são reprodutíveis. Quando o paciente apresenta escore maior ou igual a quatro, tanto a sensibilidade como a especificidade para a presença de polineuropatia são superiores a 70%.

O exame dos pés deve ser continuado com a monitorização periódica das condições angioneurotróficas dos pés e pernas. A maioria das lesões nos pés só é identificada quando o médico tem muito pouco a oferecer ao paciente, ou seja, quando é necessária uma amputação.



Figura 3: Complicações do pé diabético. A: Dedos em garra, calos e úlceras superficiais; B: úlceras plantares reveladas após a retirada de calos; C: úlcera plantar e calos.

Pacientes com neuropatia diabética frequentemente evoluem para um grau de desnervação de seus membros inferiores que pode culminar em anestesia. A ausência de dor acaba por desmotivar para os cuidados com os pés, propiciando a ocorrência de lesões ulcerativas. Além disso, as lesões no pé do diabético apresentam dificuldade de cicatrização se a circulação está marcadamente comprometida (RATHMANN *et al*, 1993; LOW *et al.*, 2003).

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES

2.1. Justificativa

O diagnóstico da neuropatia diabética é extremamente importante, devendo ser o mais precoce possível, visto que os sintomas podem ser sub-clínicos por um longo período até o diagnóstico definitivo. Além disso, o tratamento nas fases iniciais desta neuropatia pode corrigir alterações morfológicas nervosas, não recuperáveis tardiamente (VINIK, 2005).

2.2. Hipóteses

Com a aplicação de um extenso protocolo de testes incluindo Inventário Clínico (Michigan), termografia plantar sob dois diferentes testes, bateria de testes autonômicos cardíacos e ENMG em protocolo padrão para polineuropatia espera-se encontrar uma baixa acurácia diagnóstica para o Inventário Clínico, uma boa correlação de sensibilidade e especificidade para os testes autonômicos cardíacos e a termografia plantar e uma maior sensibilidade para a termografia quando em comparação com a ENMG. Além disso, espera-se encontrar reprodutibilidade nas medidas termográficas realizadas em dias diferentes e, como acontece com outras medidas funcionais, maior variabilidade no grupo controle saudável do que no grupo com DM.

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

O objetivo geral do presente estudo é a aplicação de um protocolo de testes diagnósticos com uso da termografia plantar por imagem infravermelha, para neuropatia diabética em amostras de duas populações de indivíduos, com diagnóstico de DM2 e Pré-DM, considerados fatores de risco para polineuropatia simétrica distal (sensitiva, sensitivo-motora e/ou autonômica) que é a neuropatia diabética típica (THOMAS, 1997).

Na presente pesquisa, valorizou-se a bateria de testes cardíacos como um padrão de referência para o estudo da termografia plantar, reforçando a ideia de outros autores de que novos estudos combinando métodos diagnósticos para avaliação do sistema nervoso neurovegetativo possa melhorar a acuidade diagnóstica, bem como, servir como ferramenta de seguimento evolutivo (ROLIM *et al.*, 2008; ENGLAND *et al.*, 2009).

3.2. Específicos

3.2.1. Avaliar a reprodutibilidade das medidas de termografia plantar em dois grupos de sujeitos (DM2 e controles saudáveis), em virtude da escassez de literatura sobre este assunto.

3.2.2. Determinar a acurácia diagnóstica da termografia plantar na neuropatia diabética autonômica sob a forma de dois testes: Índice de Recuperação Térmica com manobra provocativa (*Cold Stress*) e presença de Anisotermia Interdigital ($\Delta t \geq 0,4^{\circ}\text{C}$ interdigital), avaliados individualmente e de forma associada, tendo como padrão de referência (“padrão-ouro”) testes de variabilidade da frequência cardíaca.

3.2.3. Definir se a termografia plantar em DM2 e em Pré-DM difere da termografia plantar de indivíduos controles saudáveis.

4 RESULTADOS

4.1 Artigo I

A primeira parte dos resultados está submetida ao periódico *Physiological Measurement*, sob o título **“Repeatability of Infrared Plantar Thermography in diabetics: a pilot study”**, e aguarda publicação.

4.2 Artigo II

A segunda parte dos resultados recebeu ACEITE para publicação no periódico *Clinics* em 24 de agosto de 2012, e foi publicado em dezembro de 2012 (*Clinics* 2012;67(12):1-7). Seu título é **“Plantar thermography is useful for the early diagnosis of diabetic neuropathy”**.

Title: Repeatability of Infrared Plantar Thermography in diabetics: a pilot study

Run title: Infrared Plantar Thermography in diabetics

Authors:

Luciane Fachin Balbinot (responsible for the research theme development, data acquisition, paper redaction and final paper review).

Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS- Post Graduation Program in

Neuroscience

Caroline Cabral Robinson (responsible for data acquisition, paper redaction and final paper review).

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Post Graduation Program in

Neuroscience

Matilde Achaval (responsible for technical support concerning diabetes and thermoregulatory control; final paper review).

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)- Post Graduation Program in

Neuroscience

Milton Antônio Zaro (responsible for technical support concerning infrared thermography, and final paper review).

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Post Graduation Program in

Neuroscience

Abstract

Objective: Infrared (IR) thermography has been used as a complementary diagnostic method in several pathologies including distal diabetic neuropathy by tests that induce thermoregulatory responses, but nothing is known about repeatability of this tests. This study aimed to assess the repeatability of Rewarming Index after Cold Stress Test between two days apart a week in diabetic and non-diabetic control subjects.

Methods: Plantar IR images were collected baseline (pre) and ten minutes after (post) Cold Stress Test on two different days with seven days of interval by using an IR camera. Plantar absolute average temperatures pre and post Cold Stress Test, the difference between them (ΔT) and the Rewarming Index were obtained and compared between days. Repeatability of Rewarming Index after Cold Stress Test was assessed by Bland Altman Plot limits of agreement.

Results: Ten diabetic and ten non-diabetic subjects have both feet analyzed. Mean age did not differ between groups ($p=0.080$). Absolute average temperatures of plantar region pre ($p=0.033$) and post Cold Stress Test ($p=0.019$) differed between days in non-diabetic subjects whereas did not differs in diabetic (pre, $p=0.329$; post, $p=0.540$). ΔT and Rewarming Index did not differ between days for both groups and Rewarming Index presented a 100% of agreement of day-to-day measurements from diabetic and 95% to non-diabetic subjects.

Conclusion: Rewarming Index after Cold Stress Test presented a good repeatability between two days apart a week in both groups. Despite diabetic subjects presented no differences on absolute temperature values between days, ΔT or Rewarming Index after Cold Stress Test remain recommended beside absolute temperature values at clinical use.

Keywords: Thermography, Repeatability of tests, Body Temperature Regulation, Diabetes

1. Introduction

Alterations to local or regional skin temperature have aroused the interest of physicians and researchers since the time of Hippocrates (1). The use of thermal infrared (IR) imaging cameras in the accurate and objective thermal mapping of the human body has been increasingly applied in clinical situations, particularly as a complementary non-invasive and non-radioactive diagnostic method, especially in cases where the established methods are of little use, either due to their highly invasive nature or the costs of the equipments or inputs (2, 3, 4, 5).

In clinical diagnostics, IR imaging is used as a physiological test that measures the subtle physiological changes that might have been caused by many conditions such as contusions, fractures, burns, carcinomas, dermatological diseases, rheumatoid arthritis, diabetes mellitus and associated pathology and deep vein thrombosis (1, 2, 6,7). In the case of foot temperature imaging by IR radiation in diabetic patients with neuropathy, important parameters such as mean foot temperature, temperature difference (ΔT), and Recovery Index after Cold Stress Test can be used for neuropathy screening (5,7,8). However, few of them report the repeatability of thermal imaging in healthy subjects with different pathologies or in diabetic patients (2, 9, 10, 11, 12).

Thermoregulation of the skin is coordinated and regulated by the neurovegetative nervous system through central and peripheral vasomotor activity. The skin temperature recorded and measured by the IR camera is more stable in the trunk, but in the extremities the variation is great and seems to depend on several endogenous factors such as the activity of the neurovegetative sympathetic nervous system as well as on the environmental temperature (1, 2, 13, 14).

The significance of the thermography's diagnostic is based on the side-to-side ΔT since it is believed to indicate a dysfunction of the sympathetic nerves (1). In normal, healthy conditions this system is anatomically and physiologically symmetrical but, in diabetic autonomic neuropathy, abnormalities of sweating, increased or decreased foot skin temperature, and absent or diminished vasomotor function has been described as typical features of this condition. This mechanism seems to be an interaction between microcirculation damage (functional or structural) and autonomic neuropathy (1, 2, 13, 15, 16, 17).

Peripheral neurovegetative sympathetic nerves degeneration in advanced

neuropathy would damage neurogenic control mechanisms which regulate capillary and arteriovenous (AV) shunt flow, leading to a increase in the AV shunt in a diabetic neuropathic foot (1, 2, 13, 15, 16, 17). The surface plantar foot skin is apical in type, which contains a large number of AV anastomoses or AV shunts, which are highly innervated structures involved in thermoregulatory processes. In humans, cutaneous blood vessels are controlled by both neurogenic reflexes and local factors; the regulation of blood flow to the skin is complex, involving long descending neurovegetative fibers that mediate central reflex control of vascular tone, short reflex arcs through the spinal cord, and local reflexes within the skin. AV shunts provide a potential low-resistance pathway by which blood flow can be diverted from the arteriolar to venular circulations, bypassing the capillary bed. These shunts are maintained in the constricted state by neurovegetative sympathetic tone. Loss of this tone due to sympathetic neuropathy results in opening of the shunt and deviating blood flow from the skin (15-22).

Plantar thermography has been used as a complementary diagnostic method for various clinical entities including distal diabetic neuropathy (5, 8, 17, 20, 21, 23). Thermometry of the plantar skin temperature constitutes an important parameter for assessing the risk of ulceration in diabetic patients either by the presence of inflammation or by that of the neuropathy (24). At IR thermographic diabetes evaluation, is useful to apply provocative tests to the peripheral circulation and skin area of interest (5, 6, 23, 25). The most used test is the Cold Stress Test in which dorsal surface of the hands or plantar feet is covered with thin plastic and immersed in cold water for 1 minute or longer. Basal and 10 minutes post cooling immersion IR images are recorded and a Rewarming Index is calculated. Rapid rewarming or recovery in a time such as 10 minutes post cooling by immersion usually indicates a normal response. A delayed and prolonged recovery, with fingers colder than before immersion, may be typical of vascular pathologies or neuropathy. Besides, some may produce overspill of recovery, reactive hyperemia, where fingers become hotter for a time than the rest of the hand or foot. The advantage of IR imaging is that this test can be graded for severity by quantification, and the effects of any prescribed medication to improve the symptoms can be measured (6, 23).

Although a considerable evidence for clinical IR applications (1, 2, 6), according to some authors, thermography is not a reliable diagnostic tool because of the low stability of the skin temperature day-to-day. These opinions are restricting the recommended use of thermography to research purposes (3, 9, 11, 26, 27, 28). These controversial findings can be attributed to the dynamic characteristics of skin temperature regulation (1, 28), which,

in fact, may reflect adaptive physiological changes.

Considering this, the objective of this research was to compare the measures of plantar temperatures between days and to assess the repeatability of the plantar Rewarming Index after Cold Stress Test in two different days, in two groups of subjects: diabetic and non-diabetic.

2. Methods

This study was carried out over four consecutive months in the year of 2011. The principles of the Declaration of Helsinki (29) were applied and all patients gave written informed consent to participate. The study was approved by the Ethics Committee of the *Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA)*, RS, Brazil, in decision No. 09-446, January 2010.

2.1. Subject selection

Ten diabetic subjects with a confirmed diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus, by referred physicians collaborating in the research, following the American Diabetes Association (30) criteria, were assigned from the Department of Endocrinology of the *Hospital de Clinicas de Porto Alegre*, RS, Brazil. Ten non-diabetic subjects were recruited as healthy control subjects following a call for volunteers made among graduate students and professors at Federal University of *Rio Grande do Sul*, who had a normal test for fasting glucose in the last three months. As inclusion criteria for diabetic and non-diabetic subjects, age between 29 to 69 years, both gender, and absence of neuropathy at a clinical assessment in concern with the Michigan Neuropathy Screening Instrument (MNSI): plantar aspect of the hallux with preserved Semmes-Weinstein 5.07 (10 g) monofilament sensibility, preserved 128 Hz vibratory sensibility at the top of the first foot phalange, positive Achilles tendon reflex response and without callus, ulcer or important deformities at the foot (31). As exclusion criteria: presence of other potential causes of distal neuropathy, lumbosacral pain radiating to the leg or plantar pain of any kind at the time of IR image register.

2.2. IR images acquisition

IR thermographic images acquisition followed the guidelines proposed by the recommendations of the American Academy of Thermology (32) followed by prior authors (4, 6, 20, 23) which include non-ingestion of caffeine or other vasoactive substances and the prohibition of the use of moisturizing or talc on the feet and legs.

An IR camera (IRISYS®, model IRI 4010, United Kingdom) with wavelength formats sensitivity of 8.0 μM to 14.0 μM , uncertainty index of 2% or 0,02⁰ C, suitable for application in clinical diagnosis as it includes the wavelength emitted by human skin (9.4 μm) was used for the IR thermographic images acquisition. Device calibration is automatic, as recommended by the manufacturer, occurring constantly while it is connected. A precise thermometer (Minipa®, Brazil) was used to monitor the ambient temperature, which was maintained at between 23 °C and 24 °C.

The images were reordered on two different days for all subjects, day 1 and day 2 with an interval of seven days between them. All measurements were performed in the morning to eliminate diurnal temperature variation influence. All subjects were asked to remain in a prone position on examination table, bare legs and feet, for 15 minutes to achieve equilibration with the controlled ambient temperature. The Cold Stress Test was performed to obtain the Rewarming Index. The Cold Stress Test increases the sensitivity of the diagnostic test for neuropathy and consists of immersing both feet, covered by thin waterproof plastic bag, in water at 15⁰ C for 60 seconds (modified from Guidelines of the American Academy of Thermology (31). Vasomotor response can be assessed by Rewarming Index. Two IR images were obtained for all subjects: one baseline (Pre Cold Stress Test), and other ten minutes after the Cold Stress Test (Post), both images in the same position. IR camera was positioned one meter away from the subject and held perpendicular (90 °) to the plantar foot region.

2.3. Data analysis

IR thermographic images were analyzed using the IeSYS 4000 Software®, provided by the manufacturer of the camera used. Five marker points were selected in the plantar region (hallux, 1st metatarsal, 3rd metatarsal, 5th metatarsal and heel) and based on the absolute temperature of these points the average temperature of the foot was calculated for pre and post Cold Stress Test (Figure 1). For the Rewarming Index, the relative average

temperature post Cold Stress Test was calculated in relation to the average temperature pre Cold Stress Test as follow:

$$\text{Rewarming Index} = \frac{\text{Average temperature post Cold Stress Test} \times 100}{\text{Average temperature pre Cold Stress Test}}$$

The variation of temperature (ΔT) between the average temperature pre and post Cold Stress Test was calculated for each day by subtracting the post Cold Stress Test averaged temperature from pre Cold Stress Test averaged temperature.

The right and left feet of each individual were counted as independent samples, resulting in 14 feet from diabetic and 20 feet from non-diabetic subjects.

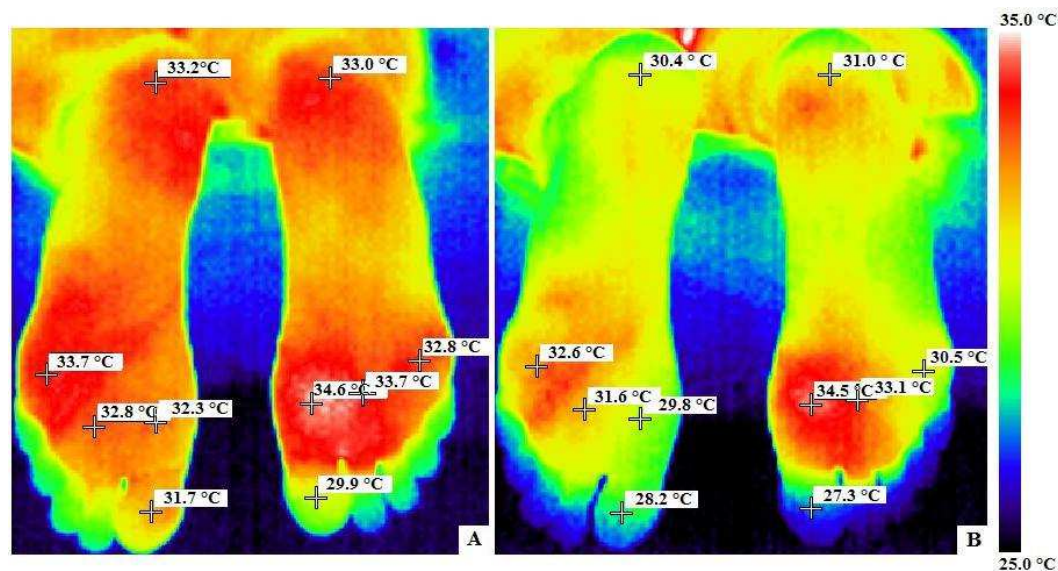


Figure 1 - Infrared images from a diabetic subject pre (A) and post (B) Cold Stress Test with the marker point for the average temperature of the plantar region.

2.4 Statistical analysis

All numerical values are expressed as the mean \pm standard deviation. Normal distribution was tested using Shapiro-Wilk test. The average temperature pre and post Cold Stress Test, ΔT and Rewarming Index comparisons between days 1 and 2 were evaluated using the t-test for dependent samples (the paired t-test). The comparison of age and

Rewarming Index between diabetic and non-diabetic subjects was performed by t-test for independent samples. A significance level of $\alpha \leq 0.05$ was adopted. An analysis of the day-to-day repeatability for Rewarming Index was carried out using the Bland Altman limits of agreement plot. SPSS 17.0 software was used for the statistical analysis.

3. Results

The ten diabetic subjects (seven women, mean age 51.8 ± 12.5) and the ten non-diabetic subjects (eight women, mean age 39.7 ± 16.8) have both feet (20 feet from diabetic subjects and 20 feet from non-diabetic subjects) analyzed in two different days with an interval of seven days between them. Mean age did not differ between the two groups ($p=0.080$).

Table 1 - Mean values for plantar temperatures and rewarming after then minutes of Cold Stress Test measured seven days apart in diabetic and non-diabetic subjects by IR thermography images.

	<i>DIABETIC</i>					<i>NON-DIABETIC</i>				
	<i>(n=20)</i>					<i>(n=20)</i>				
	<i>Mean (SD)</i>					<i>Mean (SD)</i>				
	<i>D1</i>	<i>D2</i>	<i>Diff (SD)</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>D1</i>	<i>D2</i>	<i>Diff (SD)</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
PreCST _{AT} °C	28.5 (2.5)	27.7 (3.4)	0.9 (4.0)	1.002	0.329	29.7 (2.9)	28.2 (2.5)	1.5 (3.0)	2.306	0.033
PostCST _{AT} °C	26.5 (2.3)	26.2 (3.8)	0.5 (3.9)	0.624	0.540	28.2 (3.1)	26.8 (1.7)	1.3 (2.3)	2.579	0.019
ΔT °C	2.0 (1.6)	1.5 (1.2)	-0.4 (1.7)	-0.946	0.356	1.6 (1.0)	1.4 (1.9)	-0.25 (2.0)	-0.526	0.606
RI %	93.1 (5.3)	93.9 (5.9)	-0.9 (5.3)	-0.807	0.430	94.5 (3.5)	95.5 (6.3)	-0.97 (6.3)	-0.674	0.509

Values are presented as mean and standard deviation. D1: day1, D2: day2, Diff (SD): differences of the means and standard

deviation, t: coefficient of dependent t test, PreCST_{AT} °C: average temperature before Cold Stress Test in Celsius degrees, PostCST_{AT}: average temperature ten minutes after Cold Stress Test, ΔT: temperature variation from PreCST_{AT} to PostCST_{AT}, RI%: Rewarming Index, °C: Celsius degree. Difference is significant when $p \leq 0.05$.

The average temperature pre Cold Stress Test did not differ between day 1 and day 2 for diabetics, as well as average temperature post Cold Stress Test was not different in these subjects between days. In non-diabetic subjects, both pre and post Cold Stress Test average temperature were significantly different from day 1 and day 2 (Table 1). Values of ΔT and Rewarming Index did not differ between days (Table 1).

The Rewarming Index did not differ between diabetic and non-diabetic subjects at day 1 ($p=0.347$) and day 2 ($p=0.445$).

The assessment of the repeatability of the measures between the two different days using the Bland-Altman analysis for the diabetic subjects is shown in Figure 1 and for non-diabetic subjects in Figure 2. The difference in the responses between day 1 and day 2 is plotted as a function of the average of the responses of both days for IR. Non-diabetic subjects showed 5% of all IR measures between days outside the 95% agreement limits. For diabetic subjects no one of the measures fall outside the 95% agreement limits.

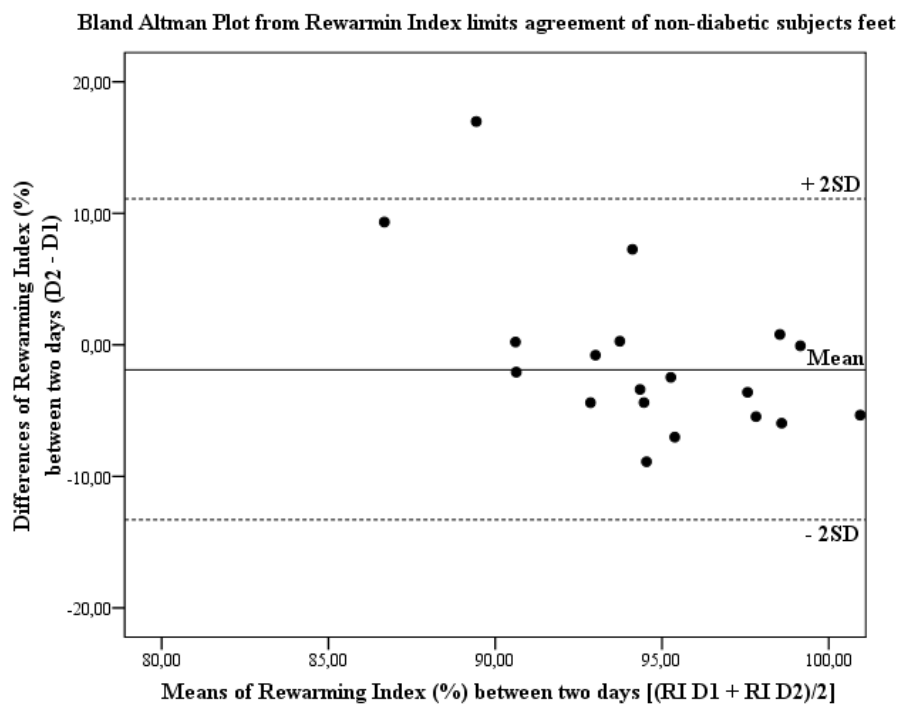


Figure 2 - Bland-Altman plot for the assessment of the day-to-day repeatability of Rewarming Index measurements after 10 minutes of Cold Stress Test, obtained seven days apart in non-diabetic subjects using infrared thermography images. The difference in the responses measured on the two days (day 2 – day 1) is plotted against the means of the responses $[(\text{day 1} + \text{day 2}) / 2]$. The solid lines correspond to the mean of the differences, and the dashed lines indicate the 95% limits of agreement for the differences between the days. D1: day 1, D2: day 2.

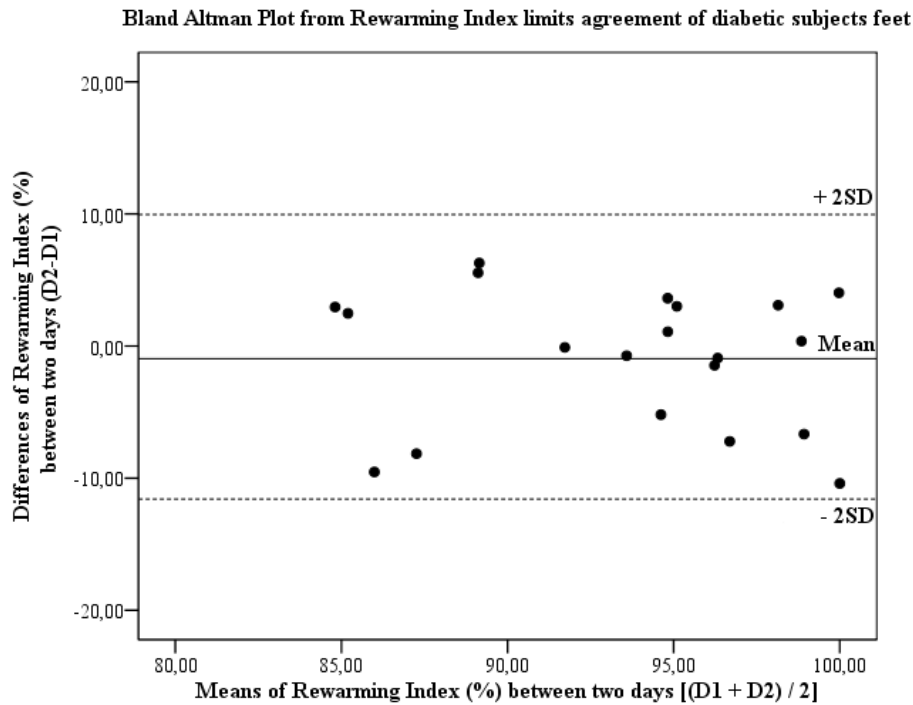


Figure 3 - Bland-Altman plot for the assessment of the day-to-day repeatability of Rewarming Index measurements after 10 minutes of Cold Stress Test, obtained seven days apart in diabetic subjects using infrared thermography images. The difference in the responses measured on the two days (day 2 – day 1) is plotted against the means of the responses $[(\text{day 1} + \text{day 2}) / 2]$. The solid lines correspond to the mean of the differences, and the dashed lines indicate the 95% limits of agreement for the differences between the days. D1: day 1, D2: day 2.

4. Discussion

In this pilot study no differences were found regarding ΔT and Rewarming Index between days in both the assessed groups, and the Rewarming Index presented only 5% or less of the measures between days outside the limits agreement. A significant difference of the plantar average temperature between two days was found in non-diabetic subject at baseline and ten minutes after the Cold Stress Test, whereas no differences were found in the average plantar temperature of diabetic subject submitted to the same procedures.

This work is the first one to assess the repeatability of a functional protocol that

aims to evoke thermoregulatory responses. Repeatability has important decision-making implications for clinicians and researchers when assessing individuals, as it is used to determine the likely range for a single measurement and a change in a measurement in response to an intervention (33).

Previous studies using a IR camera in the body temperature measurements of healthy subjects shown that the skin temperature is more stable in the trunk, but in the extremities the variation side-by-side and day-by-day is great and seems to depend on several endogenous factors such as the activity of the neurovegetative sympathetic nervous system as well as on the environmental temperature (1, 2, 13, 14, 15, 16). Considering that, in this study the environmental temperature and factors that could interfere in the sympathetic activity were controlled. The finding that the absolute average temperatures was different between days for the non-diabetic subjects and was not different to diabetic subjects agrees with the neurovegetative variability that is common at other kinds of autonomic assessments, as the heart rate variability that shows a great variability in healthy people and decrease of variability in patients with some factors that suppress sympathetic function, such as diabetic subjects (17).

Other finding related to this is in regarding to the diabetic subjects ΔT that was greater than the one found in the non-diabetic subjects, leading a decrease on diabetic subjects Rewarming Index compared to the non-diabetic, although it was not a significant difference. There was no clinical neuropathy in this diabetic group initially assessed by MNSI, but studies of heart rate variability, also a manifestation of the neurovegetative system as skin temperature variation, showed reduced variability in diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy, even when sub-clinical, which is related to the lack of physiological adaptation to different environmental demands (15, 20, 23).

The good repeatability of IR to both groups assessed is concordant to the conclusions of previous authors that for the neurovegetative function evaluation, the measure of the temperature should be performed in a stressing maneuver that evoke a thermoregulatory response, as the same propose of other stressing maneuver that evoke other physiological responses as well as the assessing of endothelial function that is evaluated by a ischemic stress (34).

Limitations of this study are related to sample size, as proposed to be a pilot study. Also, it was not included neurophysiological study to investigate the presence of diabetic peripheral neuropathy or autonomic neuropathy. MNSI was the clinical protocol performed, but it did not identify neuropathy in diabetic subjects. Thus, not surprisingly, the results had been similar to those of non-diabetic subjects. This fact, in our view, does not compromise the present study, which aimed to evaluate only the repeatability of different measurements in these two groups.

The continuity of this research includes the intra and inter-repeatability of this method and the analysis of the repeatability on peripheral and autonomic neuropathy in a larger sample.

5. Conclusion

The results suggest that plantar thermography carried out in suitable laboratory conditions and preceded by a strict pre-examination protocol reveals the physiological conditions existing at time of data acquisition, being repeatable in time. Rewarming Index after Cold Stress Test presented a good repeatability between two days, with a week of interval, in both groups. Despite diabetic subjects have shown no differences on absolute temperature values (averaged temperatures) between days, thermographic measurements as ΔT and Rewarming Index after Cold Stress Test are recommended for clinical purposes, follow the suggestion of previous authors.

Acknowledgements

This work received financial support from CAPES and CNPq.

5. References

- 1 Uematsu S, Edwin DH, Jankel WR, Kozikowski J, Trattner M. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. *Neurosurg* 1988; 69:552-555.
- 2 Uematsu S, Edwin DH, Jankel WR, Kozikowski J, Trattner M. Quantification of thermal asymmetry. Part 2: Application in low-back pain and sciatica. *Neurosurg* 1988; 69:556-551.
- 3 Leclaire R, Esdaile JM, Jequier J C, Hanley JA, Rossignol M, Bourdouxhe M. Diagnostic accuracy of technologies used in low back pain assessment: thermography, triaxial dynamometry, spinoscopy, and clinical examination. *Spine* 1996; 21:1325–30.
- 4 Brioschi ML, Macedo JF, Macedo RAC. Skin thermography: new concepts. *J Vasc Bras* 2003; 2(2):151-160.
- 5 Bharara M, Cobb JE, Claremont DJ. Thermography and Thermometry in the assessment of diabetic neuropathic foot: a case for furthering the role of thermal techniques. *Int J Low Extrem Wounds* 2006;5(4):250-260.
- 6 Ring F. Thermal imaging today and its relevance to diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2010; 4(4):857-862.
- 7 Bagavathiappan S, Philip J, Jayakumar T, Raj B, Rao PNS, Varalakshmi M et al. Correlation between plantar foot temperature and diabetic neuropathy: a case study by using an infrared thermal imaging technique. *J Diabetes Sci Technol* 2010;4(6):1386-1392.
- 8 Brioschi ML, Mehl A, Oliveira AGN, Freitas MAS, Macedo JF, Matias JE et al. Diabetic foot evaluation by infrared skin thermometry. *Rev Med Paraná* 2007;65(1):33-41.

- 9 Sherman RA, Karstetter KW, Damiano M, Evans CB. Stability of temperature asymmetries in reflex sympathetic dystrophy over time and changes in pain. *Clin J Pain* 1994;10:71–7.
- 10 Zaproudina N, Varmavuo V, Airaksinen O, Närhi M. Reproducibility of infrared thermography measurements in healthy individuals. *Physiol Meas* 2008; 29:515–524.
- 11 McCoy M, Campbell I, Stone P, Fedorchuk C, Wijayawardana S, Easley K. Intra-examiner and inter-examiner reproducibility of paraspinal thermography PLoS ONE. 2011; 6(2); e16535.
- 12 Nagase T, Sanada H, Takehara K, Oe M, Iizaka S, Ohashi Y et al. Variations of plantar thermographic patterns in normal controls and non-ulcer diabetic patients: Novel classification using angiosome concept. *Plast Reconstr Surg* 2011;64(7):860-6.
- 13 Vinik AI, Erbas T, Park TS, Pierce KK, Stansberry KB. Methods for evaluation of peripheral neurovascular dysfunction. *Diabetes Technol & Therapeutics* 2001; 3(1): 29-50.
- 14 Zaproudina N, Ming Z, Hanninen OOP. Plantar infrared thermography measurements and low back pain intensity. *J Man Physiol Therap* 2006; 29(3):219-223.
- 15 Flynn MD, Tooke, JE. Microcirculation and the diabetic foot. *Vasc Med* 1990; 1:121-138.
- 16 Papanas N, Papatheodorou K, Papazoglou D, Kotsiou S, Maltezos E. Association between foot temperature and sudomotor dysfunction in type 2 diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2010;4(4);803-807.
- 17 Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic Autonomic Neuropathy. *Diabetes Care* 2003;26:1553-79.
- 18 Vinik AI, Erbas T, Park TS, Stansberry KB, Scanelli JA, Pittenger GL. Dermal

neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:1468–1475.

19 Langer L, Facerberg SE, Johnsen, CH. Peripheral circulation in diabetes mellitus- a study with infrared thermography. *Acta Med Scand* 1972; 191(1-2):17-20.

20 Sundkvist G, Almér LO, Lilia B. Autonomic neuropathy and toe circulation. A prospective study. *Acta Med Scand* 1986; 219(3):305-308.

21 Ewing DJ, Clarke BF. Hand skin blood flow in diabetic patients with autonomic neuropathy and microangiopathy. *Diabetes Care* 1991;14(10):897-902.

22 Hile C, Veves, Diabetic Neuropathy and Microcirculation. *Curr Diab Rep* 2003; 3:446–451.

23 Zooter H, Kerbl R, Gallistl S. Rewarming index of the lower leg assessed by infrared thermography in adolescents with Type 1. *Diabetes Mellitus. J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16(9):1257-1262.

24 Nishide K, Nagase T, Oba M, Oe M, Ohashi Y, Iizaka S et al. Ultrasonographic and thermographic screening for latent inflammation in diabetic foot callus. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;85:304-309.

25 Ring EFJ, Ammer, K, *Physiol. Meas* 2012; 33: R33–R46.

26 So YT, Aminoff MJ, Olney R K. The role of thermography in the evaluation of lumbosacral radiculopathy. *Neurology* 1989;39:1154–8.

27 Hoffman RM, Kent DL, Deyo RA. Diagnostic accuracy and clinical utility of thermography for lumbar radiculopathy: a meta-analysis. *Spine* 1991;16:623–8.

28 Wasner G, Schattschneider J, Baron R. Skin temperature side differences—a diagnostic tool for CRPS? *Pain* 2002; 98:19–26.

29 World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical Principles for medical Research Involving Human Subjects, as amended by the 52nd WMA Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000; Note of Clarification in Paragraph 29 added by the WMA General Assembly, Washington, DC; 2002.

30 American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011;34 Suppl 1:S62-9.

31 MNSI Michigan University. The Michigan Diabetes Research and Training Center <http://www.med.umich.edu/mdrtc/profs/survey.html#mnsi> [accessed at March 2010].

32 American Academy of Thermology Guidelines
<http://www.americanacademyofthermology.org> [accessed at March 2010].

33 Tomkinson GR, Shaw LG. Quantification of the postural and technical errors in asymptomatic adults using direct 3D whole body scan measurements of standing posture. *Gait Posture* 2012; 06.031.

34 Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA et al. International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the international brachial artery reactivity task force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257– 65.

CLINICAL SCIENCE

Plantar thermography is useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy

Luciane Fachin Balbinot, Luis Henrique Canani, Caroline Cabral Robinson, Matilde Achaval, Milton Antônio Zaro

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Laboratório de Histofisiologia Comparada, Porto Alegre/RS, Brazil.

OBJECTIVES: This study evaluated plantar thermography sensitivity and specificity in diagnosing diabetic polyneuropathy using cardiac tests (heart rate variability) as a reference standard because autonomic small fibers are affected first by this disease.

METHODS: Seventy-nine individuals between the ages of 19 and 79 years old (28 males) were evaluated and divided into three groups: control (n = 37), pre-diabetics (n = 13) and type 2 diabetics (n = 29). The plantar images were recorded at baseline and then minutes after a provocative maneuver (Cold Stress Test) using an infrared camera that is appropriate for clinical use. Two thermographic variables were studied: the thermal recovery index and the interdigital anisothermal technique. Heart rate variability was measured in a seven-test battery that included three spectral indexes (in the frequency domain) and four Ewing tests (the Valsalva maneuver, the orthostatic test, a deep breathing test, and the orthostatic hypotension test). Other classically recommended tests were applied, including electromyography (EMG), Michigan inventory, and a clinical interview that included a neurological physical examination.

RESULTS: Among the diabetic patients, the interdigital anisothermal technique alone performed better than the thermal recovery index alone, with a better sensitivity (81.3%) and specificity (46.2%). For the pre-diabetic patients, the three tests performed equally well. None of the control subjects displayed abnormal interdigital anisothermal readouts or thermal recovery indices, which precluded the sensitivity estimation in this sample of subjects. However, the specificity (70.6%) was higher in this group.

CONCLUSION: In this study, plantar thermography, which predominately considers the small and autonomic fibers that are commonly associated with a sub-clinical condition, proved useful in diagnosing diabetic neuropathy early. The interdigital anisothermal test, when used alone, performed best.

KEYWORDS: Thermography; Diabetic Neuropathy; Cardiac Autonomic Neuropathy; Small Fibers Neuropathy.

Balbinot LF, Canani LH, Robinson CC, Achaval M, Zaro MA. Plantar thermography is useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy. Clinics. 2012;67(12):1-7.

Received for publication on June 30, 2012; First review completed on July 24, 2012; Accepted for publication on August 24, 2012

E-mail: luciane.balbinot@gmail.com

Tel.: 55 51 33083624

INTRODUCTION

Peripheral neuropathy is a common complication in diabetes mellitus (DM) that leads to serious functional disability; however, its evaluation has not been standardized (1-7). Electromyography with nerve conduction assessment is the neurophysiological test that confirms the distal symmetric polyneuropathy that is typical of diabetes, and it is the standard protocol in most centers that specialize in neuropathy (6-9). However, this test does not evaluate small fibers, is minimally invasive, requires expertise, and is time consuming (5,6). The clinical aspects, including

validated inventories, are valued in specialized diabetes centers; nevertheless, the screening for subclinical cases has low sensitivity, as demonstrated by the absence of symptoms or signs of distal symmetrical polyneuropathy.

Small fiber neuropathy may occur at any stage of diabetes, including during pre-diabetes. It is often painful, even in the absence of abnormalities, which are measured using conventional standard neurophysiological tests. The discrepancy between clinical presentation and test results could delay the correct diagnosis and appropriate treatment (8,10-12). Many diagnostic methods can assess small fibers; however, no single test can make this diagnosis. A battery of sensitive, reproducible and specific tests covering the somatic and autonomic systems is recommended (5,11,12). These tests include cardiovascular monitoring, sudomotor testing, pupillary responses, quantitative sensory tests, laser evoked potentials and thermography (12).

Using such techniques has proven useful not only for diagnosis but also for guiding adequate therapy and

optimizing the follow-up. Infrared computerized thermography is a method of visualization, documentation and measurement of the infrared rays along the human body. According to Stefan-Boltzmann, this emission is proportional to the temperature of the skin and is directly related to blood flow in the cutaneous vessels (13,14,15). This method offers some advantages over others because it is completely non-contact, is painless and does not generate inputs beyond the equipment itself.

In diabetes, vascular activity in the extremities, especially in the feet, may be indicative of autonomic neuropathy. Because vasomotor tone is regulated by fibers from the neurovegetative sympathetic system, its dysfunction could be associated with varying temperature patterns (16-19). Peripheral neurovegetative sympathetic nerve degeneration in advanced neuropathy damages the neurogenic control mechanisms that regulate capillary and arteriovenous (AV) shunt flow, which leads to an increase in the AV shunt in the feet of patients with diabetic neuropathy (20-23). These shunts are maintained in the constricted state by neurovegetative sympathetic tone. Losing this tone because of sympathetic neuropathy results in the shunt opening and the deviation of blood flow from the skin (20-23).

Because of the great vulnerability that small fibers have to metabolic changes associated with hyperglycemia, injuries to these fibers may present earlier and with less marked changes than sensory-motor neuropathies (24,25). Although diabetic neuropathies are classified as diabetic microangiopathic complications, it is now known that their pathophysiological mechanism is multifactorial, and there is sufficient evidence that small-fiber polyneuropathy and even cardiac autonomic neuropathy may precede diabetes (i.e., during the pre-diabetic condition) (26-29).

Cardiovascular reflex tests are standard for clinical autonomic evaluation because of their good sensitivity, specificity, and reproducibility; these tests are also non-invasive and well standardized. However, these tests require a well-trained evaluator and considerable evaluation time. Cardiovascular reflex tests can identify cardiac autonomic neuropathy even at the subclinical stage (29-36). This type of neuropathy can be subdivided into subclinical (predominantly functional and reversible) and clinical (structural neuronal changes are present). The subclinical subtype can only be diagnosed by tests and may occur as early as the time of the initial diabetes diagnosis. The clinical subtype is symptomatic and occurs during more advanced disease stages (35).

The autonomic nerves are affected in various clinical diabetic neuropathy subtypes. In the most common type (typical polyneuropathy: symmetric, distal, and predominantly sensory), there is a strong correlation between the progressive damage of the somatic and autonomic fibers. Indeed, 50% of diabetic patients with polyneuropathy have asymptomatic cardiac autonomic neuropathy, while 100% of patients with symptomatic cardiac autonomic neuropathy have polyneuropathy (3,37). The prevalence of cardiac autonomic neuropathy progressively increases in direct proportion to age, diabetes duration, and poor glucose control.

The aim of this study was to evaluate plantar thermography sensibility and specificity in diabetic patients with polyneuropathy at the diagnosis using cardiac tests (heart rate variability) as a reference standard because the autonomic small fibers are first affected, and there is a close

relationship with cardiac and somatic autonomic nerve fibers in diabetes (18,23).

MATERIALS AND METHODS

This study was performed from March 2010 to August 2011. The principles of the Declaration of Helsinki (38) were applied, and all of the patients provided informed written consent. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), RS, Brazil, decision No. 09-446, January 2010.

Subjects

Seventy-nine individuals aged between 19 and 79 years (28 males) were evaluated and divided into three groups: controls ($n = 37$), pre-diabetics ($n = 13$), and type 2 diabetics ($n = 29$). The patients with pre-diabetes and diabetes were referred to the study from the Endocrinology and Pre-diabetes Out-clinic Unit of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Porto Alegre, Brazil). Diabetes and pre-diabetes were defined according to the American Diabetes Association (ADA) criteria (9). The control group consisted of volunteers that did not fit the criteria for type 2 diabetes or pre-diabetes. Smokers and subjects with other conditions that could potentially cause neuropathies, such as hypothyroidism and alcoholism, or a condition in which the thermal plantar images could mimic neuropathy, such as lumbosacral radiculopathy, were excluded. Ischemic heart disease or stroke patients were also excluded because of the heart rate variability tests were used.

Data collection and instrumentation

The data collection was conducted at a controlled laboratory temperature of $23 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and a relative humidity of $50 \pm 5\%$. All of the tests occurred on the same day and lasted 1.5 hours per participant.

Clinical evaluation

Clinical data, including age, gender, body mass index, and arterial systolic and diastolic pressure, were collected on the evaluation day. The clinical diagnosis of distal symmetric polyneuropathy was assessed using the Michigan inventory (39), a neuropathy score that consists of an inspection of foot deformities or ulcers and a brief neurological examination. We used the Achilles reflex test, a vibration sensitivity test on the hallux dorsum with a 128 Hz tuning-fork and a test for tactile sensibility using 10 g of nylon monofilament (SoryH, Bauru-SP-Brazil) on the plantar aspect of the hallux. The Michigan inventory was considered to be positive for neuropathy when four or more points (of a possible ten) were scored.

Heart rate variability

Both the ADA and the American Academy of Neurology (AAN) (40,41) recommend the following protocol: three Ewing tests (the deep breathing test, Valsalva maneuver, and orthostatic test) at the time of a type 2 diabetes diagnosis and five years after a type 1 diabetes diagnosis and repeated annually thereafter. These three tests performed together have good reproducibility and specificity above 91%; the deep breathing and orthostatic tests have 93% sensitivity, and the Valsalva maneuver has 98% sensitivity. In addition, a spectral analysis was performed for heart rate variability, which is a result of sympathetic and parasympathetic balance at the sinus node. The method

consists of seven parameters that are evaluated together, including a three-band spectral analysis of heart rate variability and four Ewing tests (the Valsalva maneuver, orthostatic test, deep breathing test and orthostatic hypotension test); this method has 98% sensitivity and 100% specificity (35).

To evaluate the presence of cardiac autonomic neuropathy, heart rate variability tests were performed. These tests comprised three spectral indices (in the frequency domain) and four Ewing tests (35), including the Valsalva maneuver, orthostatic test, deep breathing test, and orthostatic hypotension test. The electrocardiogram was recorded (particularly the QRS complex) using electrocardiography equipment (NeurosoftH, Ivanovo, Russia) and software that was created for heart rate variability analysis (Poly-SpectrumH). A questionnaire concerning autonomic dysfunction symptoms was given following the protocol described by Rolim et al. (35).

The presence of incipient cardiac autonomic neuropathy was defined as having two abnormal tests (98% specificity), and established neuropathy was diagnosed when three tests were abnormal (100% specificity) (35). In this study, we considered patients to be either positive or negative for cardiac autonomic neuropathy.

Plantar thermography

The plantar infrared images were recorded using three thermal infrared cameras (the PV320T Electrophysics, IRI 4010 IRYSIS, and T400 Flir) with thermal sensitivities of 0.08 and 0.01 °C, a full-scale spectral range between 7-12 and 8-14 μm and a maximum error of 2%. The protocol for infrared images followed the recommendations of the American Academy of Thermology (42). Notably, caffeinated drinks or other vasoactive substances were suspended for at least eight hours prior to testing, and all prescribed medications were suspended 12 hours prior to testing.

The participants were acclimated for 15 minutes in the examination room by lying on a stretcher with bare legs and feet and no surface contact. The plantar infrared image was recorded at baseline followed by the provocative maneuvers using the cold stress test. This test consists of immersing the feet, which are protected with thin plastic, for 60 seconds in water at 15 °C. After 10 minutes, a new plantar infrared image was recorded to evaluate the thermal recovery index. To calculate the recovery index, the average temperatures of 10 regions of interest with similar dimensions were used: the hallux, 1st, 3rd, and 5th metatarsal heads and heel on both soles, as shown in Equation 1.

$$TRI \sim \frac{TaB \frac{Lha \times L1mh \times L3mh \times L5mh \times Lhe \times Rha \times R1mh \times R3mh \times R5mh \times Rhe}{10} \times 100}{Ta10 \times CST \frac{Lha \times L1mh \times L3mh \times L5mh \times Lhe \times Rha \times R1mh \times R3mh \times R5mh \times Rhe}{10}}$$

TRI: thermal recovery Index; TaB: the average basal temperature of the 10 ROI (°C); Ta10'CST: the average temperature 10 minutes after the cold stress test of the 10 ROI (°C); L: left foot; R: right foot; ha: hallux; 1 mh: 1st metatarsal head; 3 mh: 3rd metatarsal head; 5 mh: 5th metatarsal head; he: heel.

The interdigital anisothermal was assessed and was considered to be positive when thermal gradients (DT) ≥ 0.4 °C existed between any of the toes 10 minutes after the cold stress test (41-49). Figure 1 shows two examples of the interdigital anisothermal test.

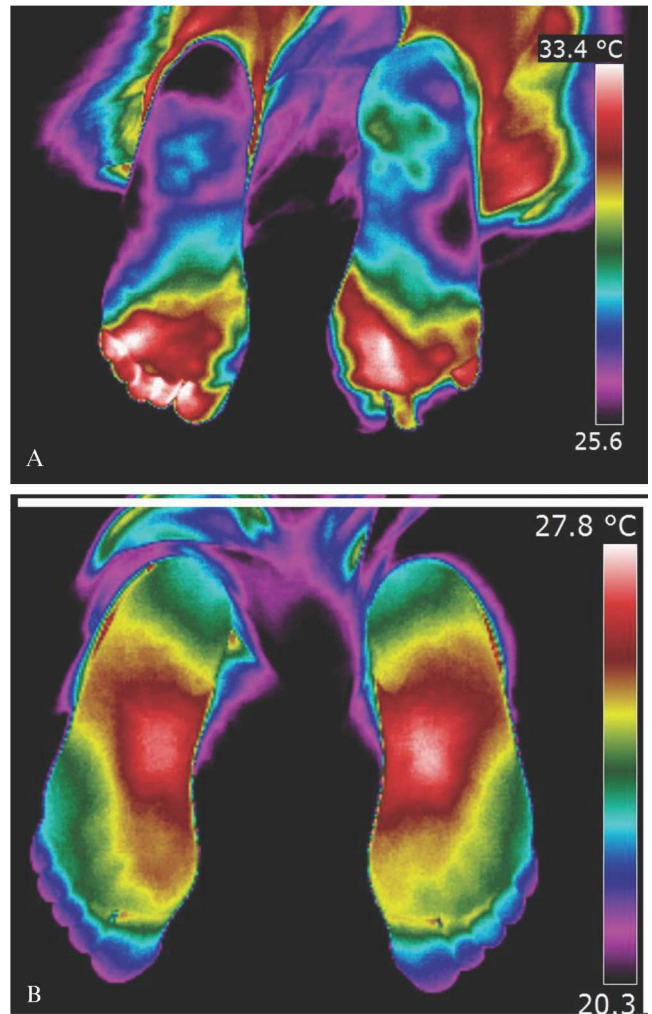


Figure 1 - (A) Plantar thermographic image in a diabetic patient, showing Interdigital Anisothermal (the white arrow shows the different colors in toes meaning DT ≥ 0.4°C). (B) Plantar thermographic image in a control subject, with regular thermal distribution, without Interdigital Anisothermal (color gradient of toes considered normal, DT < 0.4°C).

In this study, which is based on specific literature, an interdigital anisothermal result or a thermal recovery index of ≥ 90% or ≤ 100% after the cold stress test were considered (alone or in combination) to be positive for early neuropathy (small fibers and neurovegetative sympathetic fibers with vasomotor functions) (42-50).

Electromyography

The neuropathy screening protocol included the functional assessment of motor and sensory nerves of the four segments, as well as a myography using a needle electrode in suspected cases of axonal injury or root involvement (3,5-8). To record and analyze the data, a two channel electromyogram (NeurosoftH, Ivanovo, Russia) and dedicated software (NeuroMepH) were used. This method classifies the neuropathy into its various manifestations (i.e., mononeuropathies, multiple mononeuropathy and polyneuropathy). In this study, EMG was considered to be positive when it demonstrated distal symmetric polyneuropathy and was typical of

Thermography in diabetic neuropathy
Balbinot LF et al.

Table 1 - Patient characteristics.

Variables*	DM (n = 29)	Pre-DM (n = 13)	Control (n = 37)	p-value
Age (years)	55.9 $\bar{\pm}$ 9.4 ^b	56.8 $\bar{\pm}$ 12.6 ^b	45.1 $\bar{\pm}$ 14.9 ^a	0.001
Gender (Female/Male)	20/9	10/3	21/16	0.350
Time of diagnosis (years)	5 (2-9)	1 (1-2)	-	$\bar{\gt}$ 0.001
Body mass index (kg/m ²)	27.1 $\bar{\pm}$ 4.0 ^{ab}	30.0 $\bar{\pm}$ 2.8 ^b	25.3(3.8) ^a	$\bar{\gt}$ 0.001
Systolic BP (mmHg)	131.7 $\bar{\pm}$ 8.0 ^b	130.5 $\bar{\pm}$ 6.2 ^b	121.7(9.0) ^a	$\bar{\gt}$ 0.001
Diastolic BP (mmHg)	85.9 $\bar{\pm}$ 7.9 ^b	83.5 $\bar{\pm}$ 6.3 ^{ab}	79.7(8.8) ^a	0.012

BP: Blood Pressure. * Mean $\bar{\pm}$ standard deviation or median (25th percentile to 75th percentile). ^{a,b} Same letters do not differ by Tukey's post hoc test at the 5% significance level.

diabetic neuropathy (5,7,51,52). The evaluator was blinded to the other test results.

Statistical analysis

The categorical variables were described by absolute and relative frequencies, and the continuous variables were described by the mean and standard deviation (SD) or the median and interquartile range. The cutoff point for infrared thermography, which was represented by the thermal recovery index in this study using heart rate variability as a reference standard, was obtained by creating a receiver operating characteristic (ROC) curve. The area under the curve was used to estimate the accuracy of the method. The Kappa coefficient was assessed to analyze the agreement between the thermographic methods versus heart rate variability. The association between the categorical variables was assessed using the chi-squared test or Fishers exact test. The means were compared using Student's t-test or a one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post-hoc test. In asymmetric cases, a Mann-Whitney U-test was applied. A significance level of 5% was adopted, and all of the statistical analyses were performed using SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 18.0.

RESULTS

The analyses were separated by group because the groups were not homogeneous, with the exception of gender. The control subjects were younger (p=0.001) and had a lower body mass index than the pre-diabetic subjects (p $\bar{\gt}$ 0.001). The controls also had lower blood pressure values than the diabetic and pre-diabetic subjects (systolic, p $\bar{\gt}$ 0.001, diastolic, p=0.012), as shown in Table 1.

For the three glycemic statuses, the pre-DM group presented with the highest thermal recovery index and had abnormal interdigital anisothermal results. The DM

group presented with the highest number of abnormal results from the neuropathy diagnosis tests (heart rate variability, Michigan inventory, and EMG), as reported in Table 2. Although we observed a greater number of positive results for neuropathy diagnosis, only 6.9% (n=2) of the patients from the DM group presented with a positive Michigan inventory test, thus identifying clinical neuropathy by the loss of protective foot sensation.

Cardiac autonomic neuropathy (diagnosed using the heart rate variability method) was the reference used to estimate the sensitivity and specificity of the plantar infrared thermography. The interdigital anisothermal test and the thermal recovery index, alone or in combination, were used to identify the subjects with cardiac autonomic neuropathy in the three groups (Table 3). In the diabetic subjects, the interdigital anisothermal test alone performed better than the thermal recovery index, and both had better sensitivity (81.5%) and specificity (46.2%). For the pre-diabetic patients, all three tests performed equally well (sensitivity 80.0%, specificity 25.0%). None of the control subjects had abnormal results for the interdigital anisothermal test or the thermal recovery index, which would have precluded the sensitivity estimation in this sample of subjects. However, the specificity was higher in the control subjects (70.6%).

Because the interdigital anisothermal test performed best, the clinical data regarding the results of this test are depicted in Table 4. In the pre-diabetic patients, the clinical data were significantly different between the subjects who presented or did not present with interdigital anisothermal results. The subjects in the pre-DM group who presented with an abnormal plantar thermography result were older

Table 2 - Absolute and relative frequencies of neuropathy test results according to glycemic status.

Test	DM (n = 29)		Pre-DM (n = 13)		Control (n = 37)	
	Abnormal	Normal	Abnormal	Normal	Abnormal	Normal
TRI (%)	22 (75.9)	7 (24.1)	10 (76.9)	3 (23.1)	14 (37.8)	23 (62.2)
IDA (%)	20 (69.0)	9 (31.0)	10 (76.9)	3 (23.1)	13 (35.1)	24 (64.9)
TRI+AID (%)	15 (51.7)	14 (48.3)	10 (76.9)	3 (23.1)	13 (35.1)	24 (64.9)
HRV (%)	16 (55.2)	13 (44.8)	5 (38.5)	8 (61.5)	3 (8.1)	34 (91.9)
Michigan (%)	2 (6.9)	27 (93.1)	0 (0)	13 (100)	0 (0.0)	37 (100)
EMG (%)	16 (55.2)	13 (44.8)	2 (15.4)	11 (84.6)	0 (0.0)	37(100)

TRI: thermal recovery index; IDA: interdigital anisothermal, HRV: heart rate variability, (Michigan inventory); EMG: electromyography.

Table 3 - Comparison of the methods.

Comparisons	% abnormal	Sensibility (%)	Specificity (%)
DM Group (n = 29)			
HRV $\bar{\Delta}$ TRI	55.2 $\bar{\Delta}$ 75.9	75.0	23.1
HRV $\bar{\Delta}$ IDA	55.2 $\bar{\Delta}$ 69.0	81.3	46.2
HRV $\bar{\Delta}$ both (TRI+IDA)	55.2 $\bar{\Delta}$ 51.7	56.3	53.8
Pre-DM Group (n = 13)			
HRV $\bar{\Delta}$ TRI	38.5 $\bar{\Delta}$ 76.9	80.0	25.0
HRV $\bar{\Delta}$ IDA	38.5 $\bar{\Delta}$ 76.9	80.0	25.0
HRV $\bar{\Delta}$ both (TRI+IDA)	38.5 $\bar{\Delta}$ 76.9	80.0	25.0
Control Group (n = 37)			
HRV $\bar{\Delta}$ TRI	8.1 $\bar{\Delta}$ 37.8	-	58.8
HRV $\bar{\Delta}$ IDA	8.1 $\bar{\Delta}$ 35.1	-	61.8
HRV $\bar{\Delta}$ both (TRI+IDA)	8.1 $\bar{\Delta}$ 27.0	-	70.6

HRV: heart rate variability; TRI: thermal recovery index, IDA: interdigital anisothermal.

Table 4 - Interdigital anisothermal clinical characteristics.

Variables*	DM (n = 29)			Pre-DM (n = 13)			Control (n = 37)		
	Abnormal	Normal	p-value	Abnormal	Normal	p-value	Abnormal	Normal	p-value
Age (years)	56.1 \pm 8.8	55.4 \pm 11.1	0.876	60.7 \pm 10.9	43.7 \pm 9.1	0.032	46.4 \pm 16.4	44.3 \pm 14.3	0.695
Gender (Female/ Male)	14/6	6/3	1.000	9/1	K	0.108	8/5	12/12	0.744
Time of diagnosis (years)	5.5 (2.3-9.5)	2 (1-10.5)	0.216	1.5 (0.9-2.0)	1 (1-1)	0.469	-	-	-
BMI (kg/m ²)	27.2 \pm 4.4	26.9 \pm 3.3	0.825	29.7 \pm 3.0	31.1 \pm 2.2	0.467	26.2 \pm 4.6	24.8 \pm 3.2	0.290
SBP (mmHg)	133.5 \pm 5.9	127.8 \pm 10.9	0.170	129.7 \pm 6.7	133.3 \pm 2.9	0.393	121.2 \pm 10.8	121.9 \pm 8.1	0.799
DBP (mmHg)	87.0 \pm 5.5	83.3 \pm 11.7	0.393	83.5 \pm 11.7	83.3 \pm 7.6	0.970	80.0 \pm 11.7	79.6 \pm 7.1	0.893

*Mean (SD) or median (25th percentile to 75th percentile). BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure. Level of significance = 5%.

than those who presented with a normal interdigital thermographic pattern.

DISCUSSION

The presence of interdigital anisothermal using a simplified plantar thermographic study appears to be the most appropriate diagnostic test for the early diagnosis of neuropathy in the patients with DM and pre-DM. Because of its sensitivity and specificity, in addition to its convenience and timing, interdigital anisothermal assessed by plantar thermography seems to be most suitable for diabetic neuropathy screening programs. Its application is simple using the proposed protocol, and it is cost-effective because it requires no additional supplies.

It is important to identify diabetic neuropathy early to prevent secondary complications, such as neuropathic pain and diabetic foot (10,11,52,53). Unfortunately, because of economic concerns and the lack of technological resources, a consensus of international associations dedicated to treating and preventing diabetes has advocated only using clinical examination as a population screening method (56-59). In this study, the clinical application of a validated clinical inventory (Michigan inventory) did not identify neuropathy even in cases with positive EMG, which would certainly include late cases of neuropathy. Plantar thermography is a new, non-invasive method that can be included in neuropathy screening programs, thereby increasing the sensitivity for proper diagnosis.

The current method for the early diagnosis of diabetic neuropathy is a battery of tests, including methods capable of assessing thick and thin nerve fibers, particularly the autonomic nerve fibers (5,12). The two types of thermographic tests (thermal recovery index after the cold stress test and the interdigital anisothermal test) demonstrated differences in patterns between the three groups. These patterns reflect the sympathetic nerve fibers with vasomotor tone function and its effect on the skin temperature of the feet (15,17,18).

Another benefit provided by plantar thermography for chronic patients, such as those with DM, is the possibility of following the evolutionary aspects of the disease because thermography allows for functional imaging (60). Because of the strict control of risk factors, such as glycemic control, cutaneous vasomotor functionality of the feet can be monitored periodically using this method.

In this study, plantar thermography proved useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy, particularly the small and autonomic fibers that are commonly associated with a sub-clinical condition. Future research studying the

thermal recovery index for diabetes duration would be useful, particularly when comparing the density of nerve fibers using skin biopsy and Quantitative Sensitive Test (QST) to demonstrate a low sensitivity to heat. In addition, it would be interesting to compare the potential amplitude of the sural nerve, when present, with the thermographics variable studied here (interdigital anisothermal and thermal recovery index), as demonstrated by Shun et al. (61).

One limitation of this study is that it is a cross-sectional study that involves a sensitive test. Therefore, follow-up will be needed to assess the development of more advanced forms of neuropathy and diabetic complications.

ACKNOWLEDGMENT

S

This work received financial support from CAPES and CNPq.

AUTHOR

CONTRIBUTIONS

Balbinot LF was responsible for designing the experiments, data acquisition, writing and review of the manuscript. Canani LH was responsible for technical support with the clinical aspects of diabetes, neuropathy, paper redaction, and final paper review. Robinson CC was responsible for data acquisition, writing a review of the manuscript. Achaval M was responsible for technical support concerning diabetes and thermoregulatory control and review of the manuscript. Zaro MA was responsible for technical support with the infrared thermography and manuscript review.

REFERENCES

1. Dick PJ. Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve*. 1988;11(1):21-32, <http://dx.doi.org/10.1002/mus.880110106>.
2. Kahn R. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 1992;15(8):1081-3.
3. Thomas PK. Classification, differential diagnosis and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes*. 1997;46(Suppl 2):S54-7.
4. Boulton AJM. Guidelines for diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral neuropathy. European Association for the Study of Diabetes, Neurodiab. *Diabetes Metab*. 1998;24(Suppl 3):S55-65.
5. England JD, Grosseth GS, Franklin G, Carter GT, Kinsella LJ, Cohen JA, et al. Practice parameter Evaluation of distal symmetric polyneuropathy: role of autonomic testing, nerve biopsy, and skin biopsy (an evidence-based review): report of the American Academy of Neurology, American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology*. 2009;72(2):177-84, <http://dx.doi.org/10.1212/O1.wnl.0000336345.70511.f>.
6. Perkins BA, Bril V. Diabetic neuropathy: a review emphasizing diagnostic methods. *Clin Neurophysiol*. 2003;114(7):1167-75, [http://dx.doi.org/10.1016/S1388-2457\(03\)00025-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1388-2457(03)00025-7).
7. Tesfaye S, Boulton AJM, Dick PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P. Diabetic Neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. 2010;33(10):2285-93, <http://dx.doi.org/10.2337/dc10-1303>.
8. Claus D, Mustafa C, Vogel W, Herz M, Neundorfer B. Assessment of diabetic neuropathy: definition of norm and discrimination of abnormal nerve function. *Muscle Nerve*. 1993;16(7):757-68, <http://dx.doi.org/10.1002/mus.880160711>.
9. American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2012;35(1):S11.
10. Boulton AMJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freemantle R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-62, <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.28.4.956>.
11. Boulton AJM, Malik RA. Neuropathy of impaired glucose tolerance and its measurement. *Diabetes Care*. 2010;33(1):207-9, <http://dx.doi.org/10.2337/dc09-1728>.
12. Santiago S, Ferrer T, Espinosa ML. Neurophysiological studies of thin myelinated (A delta) and unmyelinated (C) fibers: application to peripheral neuropathies. *Neurophysiol Clin*. 2000;30(1):27-42, [http://dx.doi.org/10.1016/S0987-7053\(00\)88865-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0987-7053(00)88865-6).
13. Anbar M. Clinical thermal imaging today. *IEEE Eng Med Biol*. 1998;17(4):25-33, <http://dx.doi.org/10.1109/51.687960>.
14. Balbinot LF. Computerized thermography in the identification of myofascial trigger points. Chapter 3. Blucher Academic, 2009. Brazil.
15. Vargas JVC, Briosci ML, Dias FG, Parolin MB, Mulinari-Brener FA, Ordonez JC, et al. Normalized methodology for medical infrared imaging. *Infrared Physics & Technology*. 2009;52(1):42-7, <http://dx.doi.org/10.1016/j.infrared.2008.11.003>.
16. Fushimi H, Inque T, Yamada Y, Matsuyama Y, Kubo M, Kameyama M. Abnormal vasoreaction of peripheral arteries to cold stimulus of both hand skin diabetics. *Diabetes Res Clin Pract*. 1996;32(1-2):55-9, [http://dx.doi.org/10.1016/0168-8227\(96\)01222-3](http://dx.doi.org/10.1016/0168-8227(96)01222-3).
17. Langer L, Fagerberg SE, Johnsen C. Peripheral circulation in diabetes mellitus—a study with infrared thermography. *Acta Med Scand*. 1972;191(1-2):17-20.
18. Sundkvist G, Almer LO, Lilja B. Autonomic neuropathy and toe circulation. A prospective study. *Acta Med Scand*. 1986;219(3):305-8.
19. Zooter H, Kerbl R, Gallistl S, Nitsche H, Borkenstein M. Rewarming index of the lower leg assessed by infrared thermography in adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003;16(9):1257-62, <http://dx.doi.org/10.1515/JPEM.2003.16.9.1257>.
20. Uematsu S, Edwin DH, Jankel WR, Kozikowski J, Trattner M. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. *Neurosurg*. 1988;69(4):552-5.
21. Flynn MD, Tooke JE. Microcirculation and the diabetic foot. *Vasc Med*. 1990;1:121-38, <http://dx.doi.org/10.1177/1358836X9000100204>.
22. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Stansberry KB, Scaneli JA, Pittenger GL. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2001;24(8):1468-75, <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.24.8.1468>.
23. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Pierce KK, Stansberry KB. Methods for evaluation of peripheral neurovascular dysfunction. *Diabetes Technol Ther*. 2001;3(1):29-50, <http://dx.doi.org/10.1089/152091501750220000>.
24. Albers JM, Hermann WH, Pop-Bususi R, Martin CL, Clearly P, Waberski B. Subclinical neuropathy at trial completion possible predictors of incident neuropathy? *Diabetes Care*. 2007;30(10):2613-18, <http://dx.doi.org/10.2337/dc07-0850>.
25. Ewing DJ, Campbell IW, Burt AA, Clarke BF. Vascular reflexes in diabetic autonomic neuropathy. *Lancet*. 1973;2(7842):1354-6, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(73\)93323-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(73)93323-0).
26. Ewing DJ, Clarke BF. Hand skin blood flow in diabetic patients with autonomic neuropathy and microangiopathy. *Diabetes Care*. 1991;14(10):897-902.
27. Vinik AI. Complications of diabetes. *Clin Cornerstone*. 2005;5(2):38-52.
28. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic Autonomic Neuropathy. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1553-79, <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.26.5.1553>.
29. Valensi P, Paries J, Attali JR. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications—the French multicenter study. *Metabolism*. 2003;52(7):815-20, [http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495\(03\)00095-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00095-7).
30. Valensi P, Paries J, Lormeau B, Assad N, Attali JR. Cardiac parasympathetic changes: a new component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*. 1999;48(Suppl 1):A149.
31. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med*. 1980 Winter;49(193):95-108.
32. San Antonio Conference: Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. *Ann Neurol*. 1988;24(1):99-104.
33. Howorka K, Pumprla J, Schabmann A. Optimal parameters of short-term heart rate spectrogram for routine evaluation of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *J Auton Nerv Syst*. 1998;69(2-3):164-72, [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-1838\(98\)00015-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-1838(98)00015-0).
34. Task Force of the European Society of Cardiology and the American Society of Pacing Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*. 1996;93(5):1043-65.
35. Rolim LC, Sá JR, Chacra AR, Dib AS. Neuropatia autonômica cardiovascular diabética: fatores de risco, impacto clínico e diagnóstico precoce. *Arq. Bras. Cardiol*. 2008;90(4):e24-32.
36. Makimatila S, Szlenka A, Mantysaari M, Bergholm R, Summanen P, Saar P, et al. Predictors of abnormal cardiovascular autonomic function measured by frequency domain analysis of heart rate variability and conventional tests in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(11):1686-93, <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.23.11.1686>.
37. Low PA, Vermino S, Suarez G. Autonomic dysfunction in peripheral nerve disease. *Muscle Nerve*. 2003;27(6):646-61, <http://dx.doi.org/10.1002/mus.10333>.
38. World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical Principles for medical Research Involving Human Subjects, as amended by the 52nd WMA Assembly, Edinburgh, , Scotland, October 2000; Note of Clarification in Paragraph 29 added by the WMA General Assembly, Washington, DC; 2002.
39. Michigan Neuropathy Screening Instrument (MNSI) and Michigan Diabetic Neuropathy Score (MDNS). http://www.measurementexperts.org/instrument/instrument_reviews.asp?detail=66.
40. American Diabetes Association (ADA) and American Academy of Neurology (AAN): Consensus Statements of Medical Care in Diabetes—2008. *Diabetes Care*. 2008;31 Suppl 1:S12-S54.
41. American Diabetes Association (ADA). Position Statement. *Diabetes Care*. 2009;32(1):S35.
42. Bharara M, Cobb JE, Claremont DJ. Thermography and Thermometry in the assessment of diabetic neuropathic foot: a case for furthering the role of thermal techniques. *Int J Low Extrem Wounds*. 2006;5(4):250-60, <http://dx.doi.org/10.1177/1534734606293481>.
43. Papanas N, Papatheodorou K, Papazoglou D, Kotsiou S, Maltezos E. Association between foot temperature and sudomotor dysfunction in type 2 diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2010;4(4):803-7.
44. Briosci ML, Mehl A, Oliveira AGN, Freitas MAS, Macedo JF, Matias JEF, et al. Diabetic foot evaluation by infrared skin thermometry. *Rev Med Paran*. 2007;65(1):33-41.
45. Bharara M, Cobb JE, Claremont DJ. Thermography and Thermometry in the assessment of diabetic neuropathic foot: a case for furthering the role of thermal techniques. *Int J Low Extrem Wounds*. 2006;5(4):250-60, <http://dx.doi.org/10.1177/1534734606293481>.
46. Ring F. Thermal imaging today and its relevance to diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2010;4(4):857-62.
47. Alberbaty M, Uematsu S. Medical Thermology. American Academy of Thermology. 1986. Georgetown University Medical Center.
48. Ring EFJ, Houdas Y. Human Body Temperature: its measurement and regulation. 1982. Plenum Press, New York, USA.
49. Briosci ML, Macedo JF, Macedo RAC. Skin thermography: new concepts. *J Vasc Bras*. 2003;2(2):151-60.
50. Herrick RT, Herrick SK. Thermography in the detection of carpal tunnel syndrome and other compressive neuropathies. *J Hand Surg*. 1987;12(5):943-9.
51. Souza A, Nery CAS, Marciano LHSC, Garbino JA. Avaliação da neuropatia periférica: correlação entre a sensibilidade cutânea dos pés, achados clínicos e eletroneuromiográficos. *Acta Fisiatrica*. 2005;12(3):87-93.
52. Rathmann W, Ziegler D, Jahnke M, Haastert B, Gries FA. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabet Med*. 1993;10:820-4, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-5491.1993.tb00173.x>.
53. Shaw JE, Zimmet PZ. The epidemiology of diabetic neuropathy. *Diabetes Rev*. 1999;7:245-52.

54. Ziegler D. Cardiovascular autonomic neuropathy: clinical manifestations and measurement. *Diabetes Reviews*. 1999;7:342-57.
55. Ziegler D, Zentai C, Perz S, Rathmann W, Haastert B, Meisinger C, et al. Selective contribution of diabetes and other cardiovascular risk factors to cardiac autonomic dysfunction in the general population. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114:153-9, <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-924083>.
56. Lira JR, Castro AA, Pitta GBB, Figueiredo LFP, Lage VMM, Junior FM. Prevalência de polineuropatia sensitivo-motora nos pés no momento do diagnóstico do diabetes melito. *J Vasc Br*. 2005;4(1):22-6.
57. Malerbi D, Franco LJ. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter Study of the Prevalence of diabetes mellitus and Impaired Glucose Tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 years. *Diabetes Care*. 1992;15(11):1509-16, <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.15.11.1509>.
58. Moreira RO, Leite NM, Cavalcanti F, Oliveira FJD. Diabetes Mellitus: Neuropatia. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2005. http://www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/09-Diabetesm.pdf.
59. Olaleye D, Perkins BA, Brill V. Evaluation of three screening tests and a risk assessment model for diagnosing peripheral neuropathy in the diabetes clinic. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2001;54(2):115-28, [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8227\(01\)00278-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8227(01)00278-9).
60. Sacharuk VZ, Lovatel GA, Ilha J, Marcuzzo S, Pinho AS, Xavier LL, et al. Thermographic evaluation of hind paw skin temperature and functional recovery of locomotion after sciatic nerve crush in rats. *Clinics*. 2011;66(7):1259-66, <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322011000700023>.
61. Shun CT, Chang YC, Wu HP, Hsieh SC, Lin WM, Lin YH, et al. Skin denervation in type 2 diabetes: Correlations with diabetic duration and functional impairments. *Brain*. 2004;127(Pt 7):1593-605, <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awh180>.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou investigar a acurácia da termografia computadorizada por infravermelho (ou simplesmente Termografia) como ferramenta diagnóstica em neuropatias diabéticas.

A termografia plantar mostrou ser um teste reprodutível tanto no grupo controle como no grupo com diabetes. Também confirmou seu aspecto funcional, repetindo o comportamento de outros testes do sistema neurovegetativo, mostrando maior variabilidade em indivíduos saudáveis do grupo controle do que em indivíduos do grupo com DM2; este padrão é observado, também, na interpretação dos testes autonômicos cardíacos, padrão de referência nesta pesquisa, refletindo a menor capacidade de adaptação fisiológica do indivíduo com neuropatia às diferentes demandas fisiológicas (manobras provocativas).

A termografia, mostrou-se capaz de identificar a presença de neuropatia autonômica no grupo com DM2, com sensibilidade de 81,3% e especificidade de 46,2% em seu teste de melhor *performance* (Anisotermia Interdigital) e no grupo com pré-diabetes, com melhor resultado associando-se os dois testes, Anisotermia Interdigital e Índice de Recuperação Térmica: 80% de sensibilidade e 25% de especificidade. Os valores de sensibilidade e especificidade encontrados para a termografia plantar são inferiores ao padrão de referência (baterias de testes cardíacos) que, individualmente, variam entre 50 a 100% (BOER *et al.*, 1998); entretanto, quanto associados (ROLIM *et al.*, 2008), como aplicados nesta pesquisa, chegam a 95 a 100%. Entretanto, sua execução é mais complexa, necessita maior colaboração do paciente e não avaliam diretamente fibras simpáticas distais, responsáveis pelo controle vasomotor cutâneo plantar.

Comparando as termografias plantares do grupo controle saudável com os grupos com DM2 e Pré-DM, encontramos um índice menor de testes positivos no grupo controle; tomando como exemplo a presença de Anisotermia Interdigital, esta ocorreu em 35,1% dos sujeitos-controle, 76,9% no grupo com Pré-DM e 69% no grupo com DM (Tabela 2- Artigo II); pode-se discutir se os casos positivos do grupo controle são realmente falso-positivos ou são portadores de alguma disfunção vasomotora cutânea plantar não identificada. Entretanto, reforça a idéia de propor-se a inclusão da

termografia plantar como um teste associado a outros testes diagnósticos, reduzindo, assim, a sua margem de erro.

Os Consensos das Sociedades Internacionais dedicadas à pesquisa do diagnóstico e tratamento da polineuropatia diabética recomendam baseado em níveis de evidência científica, uma bateria de testes ao invés de um único teste diagnóstico, aumentando, assim a probabilidade diagnóstica (ENGLAND *et al.*, 2009). Nesta bateria deve haver testes para neuropatia autonômica, que é mais precocemente afetada nos grupos com Pré-DM e DM2. A Termografia plantar, em suas duas modalidades de testes aqui propostos mostrou-se adequada para este fim, sendo de relevância científica e de importância social devido à possibilidade de sua aplicação em populações maiores com maior facilidade e com menor custo final do que os demais métodos de avaliação autonômica (ex. QST, QSART, LEPs, Biópsia de pele, e, mesmo, os testes autonômicos cardíacos associados).

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos nessa tese nos permitem concluir que a termografia plantar:

- Sob condições laboratoriais adequadas mostrou-se um método diagnóstico reprodutível, e tal fato é importante tanto para ampliação de seu uso para populações maiores como para individualização de sua interpretação para um paciente específico.
- Provou ser útil na identificação precoce de neuropatia em portadores de diabetes e pré-diabetes, especialmente considerando-se sua utilidade em identificar o comprometimento de fibras do sistema neurovegetativo simpático, comumente associadas a condições subclínicas.
- Em pacientes com diabetes tipo 2 e com pré-diabetes, apenas a identificação de Anisotermia Interdigital, que é um teste de rápida execução e interpretação, sugere a existência de neuropatia.
- É uma imagem funcional que reflete a atividade vasomotora cutânea, permitindo, assim, acompanhar a efetividade de medidas terapêuticas.

Baseado nos resultados da presente pesquisa pretende-se divulgar junto às Sociedades Científicas dedicadas ao cuidado de pacientes com diabetes e pré-diabetes a potencialidade e a praticidade da termografia como método diagnóstico de neuropatia, importante complicação e causa de morbidade nestes grupos específicos.

Futuras pesquisas relacionando o Índice de Recuperação Térmica com a densidade de fibras nervosas identificadas através da biópsia de pele (IEFN) e QST seriam bastante interessantes.

Também, a comparação da amplitude do potencial de nervo sural, quando presente, com as variáveis termográficas aqui estudadas (Anisotermia Interdigital e Índice de Recuperação Térmica) como estudadas por Shun e colaboradores (2004).

Pretende-se, também realizar um seguimento evolutivo dos participantes diabéticos e pré-diabéticos deste estudo, sob o mesmo protocolo de testes, após três anos, correlacionando os achados termográficos com evolução de demais fatores de risco do diabetes e pré-diabetes como IMC, índices glicêmicos, hemoglobina glicada, entre outros. Com estes novos dados poder-se-á ter uma ideia bastante precisa do quanto a termografia plantar pode contribuir no controle evolutivo destas patologias.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINO, R.; CRUCCU, G.; ROMANIELLO, A.; et al. Dysfunction of small myelinated afferents in diabetic polyneuropathy, as assessed by laser evoked potentials. **Clin Neurophysiol.** 2000;111(2);270-276.

ALBERNATY, M.; UEMATSU, S. **Medical Thermology.** 1986. American Academy of Thermology-Georgetown University Medical Center.

ALBERS, JM, WH, POP-BUSUI, R. MARTIN, CL., CLEARY, P., WABERSKI, B. Subclinical neuropathy at trial completion possible predictors of incident neuropathy? **Diabetes Care** 2007 30:2613-2618.

AMERICAN ACADEMI OF THERMOLOGY (AAT). Disponível em:

www.americanacademyofthermology.org.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Diagnosis and classification of diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, vol 35 , Supl 1, Jan. 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Position Statement. **Diabetes Care.** Vol.35 , Supl 1, pag e113. Jan 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION and AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY: CONSENSUS STATEMENTS OF MEDICAL CARE IN DIABETES-2008. **Diabetes Care**, 2008;31(Suppl 1;S12-S54)

ANBAR, M. Thermal Imaging Today: Shifting from phenomenological thermography to pathophysiologically based thermal imaging. **IEEE Engineering in Medicine and Biology**, 1998; 17(4): 25-33.

ANDRADE, ACC. Teletermografia: princípios físicos, fisiológicos da produção da imagem e suas indicações na clínica de dor e reabilitação. **Acta Fisiátrica** 1999; 6(2). 55-59.

ASZMANN, O. TASSLER, PL, DELLON AL. Changing the natural history of diabetic neuropathy: incidence of ulcer/amputation in the contralateral limb of patients with a unilateral nerve decompression procedure. **Ann Plast Surg** 2004; 53:517-22.

- BALBINOT, L.F., VIEIRA, LR. Avaliação objetiva da Síndrome Dolorosa Miofascial: uso da Termografia antes e depois do tratamento associando Mesoterapia à Bloqueio Anestésico. **Acta Fisiátrica** 2005;12(3), p.115-117.
- BHARARA, M., COBB, JE., CLAREMONT, DJ. Thermography and Thermometry in the assesment of diabetic neuropathic foot: a case for furthering the role of termal techniques. **Lower Extremity wounds**.2006.5(4);250-260.
- BOER, C.A.A; MOCELIN, A.J.; MATSUO, T. Ewing's tests validation for autonomic dysfunction assessment. **Arq Neuropsiquiatr** 1998;56(2):250-254.
- BOULTON, AJ. Guidelines for diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral Neuropathy. European Association for the Study of Diabetes, Neurodiab. **Diabetes Metab** 1998; 24(Suppl 3):55-65.
- BOULTON, AJ. MALIK, RA. Neuropathy of Impaired Glucose Tolerance and Its measurement. **Diabetes Care**, 2010;33(1).
- BOULTON, AJM, VINIK, AI, AREZZO, JC, BRIL, V, FELDMAN, EL. FREEMANN, R et al. Diabetic Neuropathies. **Diabetes Care** 2005;28:956-62.
- BRASILEIRO, JL, OLIVEIRA, WTP, MONTEIRO, LB, CHEN, J, PINHO jr, EL, MOLKENTHIN, S, SANTOS, MA. Pé diabético: aspectos clínicos. **J Vasc Br** 2004 ;4(1):11-21.
- BRIOSCHI, M.L., MACEDO, J.F.; MACEDO, R.A.C. Skin thermography: new concepts. **J Vasc Bras** 2003, 2(2): p.151-160.
- CLAUS, D., MUSTAFA, C. VOGEL, W.; et al. Assesment of diabetic neuropathy: definition of norm and discrimination of abnormal nerve function. **Muscle Nerve**, 1993; 16(7), p.757-68.
- DICK, P.J .Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. **Muscle Nerve** 1988;11:21–32 .
- EKMAN, L.L. In: **Neuroscience: Fundamentals for Rehabilitation**. Capitulo 6 e 8. WB Saunders Company. 1998. USA.
- ENGLAND, JD, GRONSETH, GS, FRANKLIN, G, CARTER, GT, KINSELLA, LJ, COHEN, JA, et al. Practice parameter: evaluation of distal symmetric polyneuropathy: role of autonomic testing, nerve biopsy, and skin biopsy (an evidence-based review): report of the American Academy of Neurology,

American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. **Neurology** 2009;72:177–184.

EWING, D.J.; CAMPBELL, I.W.; CLARKE, B.F. Assessment of cardiovascular effects in diabetic neuropathy and prognostic implications. **Ann Int Med** 1980;92:308-11.

EWING, D.J.; CLARKE, B.F. Hand skin blood flow in diabetic patients with autonomic neuropathy and microangiopathy. **Diabetes Care** 1991;14(10); 897-902.

EWING, DJ, CAMPBELL IW, CLARKE, BF, The natural history of diabetic autonomic neuropathy. **QJ Med** 1980; 49:95 – 108.

EWING, DJ, CAMPBELL, IW, BURT, AA, CLARKE, BF. Vascular reflexes in diabetic autonomic neuropathy. **Lancet** 1973;2:1354-6.

EWING, D.J., MARTIN, C.N., YONG, .RJ. et al. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years' experience in diabetes. **Diabetes Care** 1985;8:491-498.

FLYNN, M.D., TOOKE, J.E. Microcirculation and the diabetic foot. **Vasc Med.**1990; 1:121-38.

FUJIWARA, Y., INUKAI, Y. TAKEMURA, Y. Thermographic measurement of skin temperature recovery time of extremities in patients with type 2 diabetes mellitus, 2000. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, 108, p.463-469.

FUSHIMI, H., INOUE, T., YAMADA, Y., MATSYAMA, Y., KUBO, M., KAMEYAMA, M. Abnormal vasoreaction of peripheral arteries to cold stimulus of both hand skin diabetics. **Diabetes Res and Clin Pract** 1996;32:55-59.

GAGLIARDI, A R T. Neuropatia diabética periférica. **J Vasc Br** 2003;2(1):67-74.

GARBER, A.J.; HANDELSMAN, Y.; EINHORN, D.; et al. Diagnosis and management of prediabetes in the continuum of hyperglycemia: when do the risks of diabetes begin? A consensus statement from the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists. **Endocr Pract**. 2008 Oct;14(7):933-46.

GIANININNI, C., DYCK, P.J. Axoglial dysjunction: a critical appraisal of definition, techniques, and previous results. **Microsc Res Tech**. 1996 Aug 1;34(5):436-44.

GOLDENBERG, P., SCHENKMAN, S., FRANCO, LJ. Prevalência de diabete mellitus: diferenças de gênero e igualdade entre os sexos. **Rev. Bras. Epidemiol**. 2003 Vol. 6, Nº 1.

HERRICK, R.T., HERRICK S.K. Thermography in the detection of carpal tunnel syndrome and other compressive neuropathies. 1987. **J Hand Surg**, Sep;12(5 Pt 2): p.943-9.

HOWORKA, K, PUMPRLA, J, SCHABMANN, A. Optimal parameters of short-term heart rate spectrogram for routine evaluation of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. **Journal of the Autonomic Nervous System** 1998;69:164-172.

KAHN, R. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. **Diabetes Care** 1992;15:1081-3.

KRISHNAN, ST.,RAYMAN, G. The LDI flare: a novel test of C-fiber function demonstrates early neuropathy in type 2 diabetes. **Diabetes Care** 2004 ;27;(12)2930-2935.

LANGER, L.; FAGERBERG, S.E.; JOHNSÉN, C.H. Peripheral circulation in diabetes mellitus- a study with infrared termography. *Acta Med Scand*, 1972 191 (1-2) 17-20

LAVERY, L.A.; HIGGINS, L.R.; LANCTOT, D.R. et al. Home Monitoring of Foot Skin Temperatures to Prevent Ulceration **Diabetes Care** 2004 ;27:2642–2647, 2004.

LIRA, J.R.; CASTRO, A. A.; PITTA, G.B.B.; et al. Prevalência de polineuropatia sensitivo-motora nos pés no momento do diagnóstico do diabetes melito **J Vasc Br** 2005;4(1):22-6.

LOW, PA, BENRUD-LARSON, LM, SLETTEN, DM, OPFER-GEHRKING, TL, WEIGAND, SD, O'BRIEN, PC, SUAREZ, GA, DICK, PJ: Autonomic symptoms and diabetic neuropathy: a population-based study. **Diabetes Care** 2004;27:2942–2947.

LOW, PA, VERMINO, S, SUAREZ, G. Autonomic dysfunction in peripheral nerve disease. **Muscle Nerve** 2003;27:646-661.

LUNDY, EKMAN, L. In: **Neuroscience: Fundamentals for Rehabilitation**. Capítulo 6 e 8. WB Saunders Company. 1998. USA.

MAKIMATILA, S, SCHLENZKA, A, MANTYSAARI, M, BERGHOLM, R, SUMMANEN, P. SAAR, P, et al. Predictors of abnormal cardiovascular autonomic function measured by frequency domain analysis of heart rate variability and conventional tests in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care** 2000; 23: 1686-1693.

MALERBI, D. FRANCO LJ. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter Study of the Prevalence of *diabetes mellitus* and Impaired Glucose Tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 years: **Diabetes Care**, 1992; 15(11):1509-16.

MALLIANI, A, PAGANI, M, LOMBARDI, F, CERUTTI, MS. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation** 1991;84:482-90.

MASER, RE, LENHARD, MJ. Review: Cardiovascular autonomic neuropathy due to diabetes mellitus: clinical manifestations, consequences, and treatment. **J Clin Endocrinol Metab** 2005;90:5896-903.

MICHIGAN NEUROPATHY SCREENING INSTRUMENT (MNSI) and MICHIGAN DIABETIC NEUROPATHY SCORE (MDNS). <http://www.med.umich.edu/mdrtc/profs/survey.html>

MOREIRA, RO, LEITE, NM, CAVALCANTI, F, OLIVEIRA, FJD. Diabetes Mellitus: Neuropatia. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2005.
http://www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/09-Diabetesm.pdf

OLAEYE, D., PERKINS, B.A., BRIL, V. Evaluation of three screening tests and a risk assessment model for diagnosing peripheral neuropathy in the diabetes clinic. **Diabetes Research and Clinical Practice** 2001;54:115-28.

OHSAWA, S., INAMORI, Y. et al. Lower limb amputation for diabetic foot. **Arch Orthop Trauma Surg**, 2001;p.121:186-90.

PERKINS, BA., BRIL, V. Diabetic neuropathy: a review emphasizing diagnostic methods. **Clin Neurophysiol.** 2003; 114;1167-1175.

PICON, P A, ZANATTA, CM. GERCHMAN, F. ZELMANOVITZ, T., GROSS, JL, CANANI, LH. Análise dos Critérios de Definição da Síndrome Metabólica em pacientes com Diabetes Melito Tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2006 ;vol 50 nº 2 .:264-270.

RATHMANN, W, ZIEGLER, D, JAHNKE, M, HAASTERT, B, GRIES, FA. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. **Diabet Med** 1993; 10: 820 – 4.

RING, E.F.J., HOUDAS, Y. Human Body Temperature: its measurement and regulation. 1982. Plenum Press, New York.USA.

RING, E. F.J. Thermal imaging today and its relevance to diabetes. **J Diabetes Sci Technol.** 2010;4(4):857-62

ROLIM, LC, SÁ, JR, CHACRA, AR, DIB, AS. Neuropatia Autonômica Cardiovascular Diabética: Fatores de Risco, Impacto Clínico e Diagnóstico Precoce. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2008.

ROLIM, LCSP, CHACRA, AR, DIB, SA. Diabetic neuropathies heterogeneity in type 1 and type 2 diabetes mellitus with the same pattern of glycemic control. **Diabetes**.2006;55:A508.

SAN ANTONIO CONFERENCE: Report and recomendattions of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. **Ann Neurol** 1988; 24:99-104.

SANTIAGO, S.; FERRER, T.; ESPINOSA, M.L. Neurophysiological studies of thin myelinated (A delta) and unmyelinated (C) fibers: application to peripheral neuropathies.**Neurophysiol Clin** 2000;30:27-42.

SCHMID, H. Impacto cardiovascular da neuropatia autonômica do diabetes mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2007; 51/2.

SEVERINO, AJ. **Metodologia do Trabalho Científico**. 20 ed. São Paulo: Edit. Cortez, 1996.

SEVERINSEN, K. ANDERSEN, H. Evaluation of atrophy of foot muscles in diabetic neuropathy – A comparative study of nerve conduction studies and ultrasonography **Clinical Neurophysiology** .2007; 118 : 2172–2175.

SHAW, J.E.; ZIMMET, P.Z. The epidemiology of diabetic neuropathy. **Diabetes Rev** 1999;7;245-252.

SHEETZ M.J., KING, G.L. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications.**JAMA**. 2002 Nov 27;288(20):2579-88.

SHUN, C.T., CHANG, Y.C., WU, H.P., HSIEH, .SC., LIN, W.M., LIN, Y.H., et al. Skin denervation in type 2 diabetes: Correlations with diabetic duration and functional impairments. **Brain** 2004;127:1593-605.

SOBRINHO, JBR. Fisiologia do sistema nervoso neurovegetativo.**Acta Fisiatrica** 10(3): 22-132, 2003

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. (www.diabetes.org.br).

SOUZA, A NERY CAS, MARCIANO, LHSC. GARBINO, JA. Avaliação da neuropatia periférica: correlação entre a sensibilidade cutânea dos pés, achados clínicos e eletroneuromiográficos. **Acta Fisiatr** 2005; 12(3):87-93.

SUNDKVIST, G., ALMÉR, LO., LILJA, B.Autonomic neuropathy and toe circulation.A prospective study. **Acta Med Scand** 1986; 219(3):305-308.

Task Force of the European Society of Cardiology and the American Society of Pacing Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **Circulation** 1996;93:1043-65.

- TAYLOR, G.I.; GIANOUTSOS, MP. ;MORRIS, SF. The neurovascular territories of the skin and muscles: anatomic study and clinical implication. **Plast Reconstr Surg**, 1194; 94: p.1-35.
- TCHOU, S.; COSTICH, J.F.; BURGESS, R.C.; et al. Thermographic observations in unilateral carpal tunnel syndrome: report of 61 cases. *J Hand Surg* 1992 Jul; 17(4): 631-637.
- TESFAYE, S.,BOULTON, AJM., DICK, PJ et al. Diabetic Neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. **Diabetes Care** 2010;33:10:2285-2293.
- THOMAS, P.K. Classification, differential diagnosis and staging of diabetic peripheral neuropathy. **Diabetes** 46 (Suppl. 2):S54-S57,1997
- TORQUATO, MTCG, MONTENEGRO Jr, RN, VIANA, LAL, SOUZA, RAHG, LANNA, CMM, LUCAS, JCB *et al.* Prevalence of *diabetes mellitus* and impaired glucose tolerance in the urban population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil: **Sao Paulo Med J.** 2003;121(6): 224-30.
- UEMATSU, S., EDWIN, D.H., JANKEL, W.R. KOZIKOWSKI, J., TRATTNER, M. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. **Neurosurg** 1988; 69:552-555.
- VALENSI, P, PARIES, J, ATTALI, JR. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications—the French multicenter study. **Metabolism** 2003;52:815–820
- VALENSI, P, PARIES, J, LORMEAU, B, ASSAD, N, ATTALI, JR. Cardiac parasympathetic changes: a new component of the insulin resistance syndrome. **Diabetes** 1999;48(suppl.1):A149.
- VARGAS, J.V.C, BRIOSCHI, M.L.DIAS, F.G., PAROLIN, M.B. MULINARI-BRENNER, F.A., ORDONEZ, J.C. COLMAN, D. Normalized methodology for medical infrared imaging. **Infra Phys Tech** 52(1):42-47 (2009)
- VINIK, A.I. Complications of diabetes. *Clinical Cornerstone* 2005, 5(2).38-52.
- VINIK, A.I.; ERBAS, T.; PARK, T.S.; et al. Neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. **Diabetes Care** 2001;24:1468-75.
- VINIK, AI, ERBAS, T, PARK, TS, STANSBERRY, KB, SCANELI, JA, PITTENGER, GL. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. **Diabetes Care** 2001;24:1468-75.
- VINIK, AI, ERBAS, T. Recognizing and treating diabetic autonomic neuropathy, **Cleveland Jour of Med**, 68(11), 928-944, 2001.

VINIK, AI, MASER, RE, MITCHELL, BD, FREEMAN, R. Diabetic Autonomic Neuropathy. **Diabetes Care** 2003;26:1553-79

VINIK, AI., ERBAS, T., PARK, TS., PIERCE, KK., STANSBERRY, KB. Methods for evaluation of peripheral neurovascular dysfunction. **Diabetes Technol Ther** 2001 2(1); 29-50.

VINIK. AI, ZIEGLER, D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2007;115:387-97.

WILD, S. ROGLIC, G. GREEN. A, SICREE. R, KING, H. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. 2004 **Diabetes Care** 27(5): 1047-53.

YAGIHASHI, S.,YAMAGISHI, S. WADA, R. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy:correlation with clinical signs and symptoms. **Diabetes Res Clin Pract** 2007;77 Suppl 1;S184-S189.

ZIEGLER, D, ZENTAI, C, PERZ, S, RATHMANN, W, HAASTERT, B, MEISINGER, C, LOWEL, H; KORA study Group. Selective contribution of diabetes and other cardiovascular risk factors to cardiac autonomic dysfunction in the general population. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 2006;114:153-9.

ZIEGLER, D. Cardiovascular autonomic neuropathy: clinical manifestations and measurement. **Diabetes Reviews** 1999;7:342-357.

ZOOTER, H. KERBL, R. GALLISTL, S. et al. Rewarming index of the lower leg assessed by infrared thermography in adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. **J Pediatr Endocrinol Metab** 2003; 16 (9), p. 1257-1262

APÊNDICE A

Termo de Consentimento livre e Esclarecido

Estudo:

DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA NO DIABETES MELITO E NA SÍNDROME METABÓLICA

Estas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo o diagnóstico menos tardio de **neuropatia** (problema de fibras nervosas finas dos pés e de nervos que comandam o funcionamento do coração) em pessoas com diabetes ou pré-diabetes.

O diagnóstico tardio da neuropatia em diabéticos está relacionado com complicações desta doença como ulcerações e amputações típicas do “pé diabético”. A neuropatia cardíaca, sem sintomas por longo período, é mais frequente em diabéticos e pré-diabéticos do que na população em geral e está muito relacionada com morte súbita. Isto, então, motivou a presente pesquisa, que se propõe a associar a **Termografia computadorizada** ao **Eletrocardiograma computadorizado** e **Eletroneuromiografia**, para o diagnóstico destas neuropatias.

A) Procedimentos:

1) Eletrocardiograma computadorizado: se colam eletrodos no peito do sujeito voluntário, que estará deitado na maca e se grava o eletrocardiograma por 5 minutos; após, se pede ao sujeito voluntário para fazer algumas manobras como respiração profunda, sentar e levantar da maca, medição da pressão arterial em pé e sentada. Duração: 20 minutos

2) Termografia dos pés: similar a uma foto, sem contato com os pés. Total de 03 fotos, sendo uma inicial e 02 após molhar os pés, ensacados, em água fria (15°C) em bacia plástica forrada com protetor plástico descartável. Duração: 30 minutos.

3) Exame físico (e neurológico dos pés, realizado pelo médico examinador).

4) Eletroneuromiografia: o exame divide-se em 02 partes: a primeira, neurocondução, através de estímulos elétricos (pequenos choques) no trajeto de alguns nervos dos pés e mãos. A segunda parte do exame, necessária em alguns pacientes, inclui o uso de 01 eletrodo de agulha descartável em 2 a 5 músculos, para definir a gravidade do caso.

Risco: portadores de marcapasso precisam informar ao pesquisador na hora do exame (alguns tipos de marcapasso proíbem o uso do estímulo elétrico outros não). Remédios anticoagulantes não oferecem risco ao exame.

B)Desconforto esperado:

O banho dos pés em água fria por apenas 1 minuto pode ser desconfortável para algumas pessoas mais sensíveis ao frio, mas, em pesquisas anteriores não houveram queixas importantes. Para a Eletroneuromiografia, os estímulos elétricos podem ser desconfortáveis para alguns pacientes, bem como a aplicação do eletrodo descartável de agulha mas, perfeitamente tolerável e sem risco valorizável.

C)Benefício direto para o participante:

Sabe-se por estudos anteriores que a aplicação destas técnicas citadas permite o diagnóstico precoce de neuropatia em diabéticos e pré-diabéticos, o que permitiria ao participante evitar complicações clínicas futuras. Assim, o benefício direto para o participante será saber precocemente, caso o estudo comprove suas hipóteses iniciais, se o mesmo é ou não portador de neuropatia.

D)Acesso aos pesquisadores:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal pesquisador é o Dr Luís Henrique Canani, que pode ser encontrado no Serviço de Endocrinologia do HCPA ou diretamente no fone **51-91142782**. Para esclarecimento éticos relativos a esta pesquisa, o CEP(Comitê de Ética e Pesquisa) do HCPA pode ser contatado através do fone (051) 3359-8304.

E) Retirada de participação no estudo:

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

F) Direitos de confidencialidade

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

G) Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas.

H) Despesas pessoais: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

I) Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

“Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA NO DIABETES MELITO E NO PRÉ-DIABETES”.

Eu discuti com o Dr. Luís Henrique Canani sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente

Data ___/___/___

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ___/___/___

APENDICE B

Manual da coleta de dados

**Referências previamente citadas em “Material e Método”- página*

DESCRIÇÃO DE PROCEDIMENTOS

ENTREVISTA E EXAME CLÍNICO

Primeira etapa da coleta de dados, obrigatória a todos os participantes (controles, com pré-diabetes e com diabetes). Deve incluir a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Explicado (TCLE). O voluntário pode ler sozinho antes de assinar ou o mesmo pode ser lido pelo examinador.

Importante: a recusa da assinatura pelo voluntário impede a realização dos testes.

Materiais e equipamentos necessários:

*Martelo de reflexos.

*Diapasão de 128 Hz.

*Monofilamento de 10 gramas.

*Máquina fotográfica digital.

a) Leitura deste manual com atenção.

b) Assistência de pelo menos uma entrevista e exame físico realizada pela médica responsável pela pesquisa.

c) Familiaridade com os instrumentos utilizados nesta etapa da pesquisa: martelo de reflexos, monofilamento de 10 g, diapasão.

d) Preencher todos os itens da entrevista; caso o voluntário não saiba informar adequadamente, solicitar a participação de um familiar ou acompanhante para auxiliar ou combinar ligação telefônica posterior para este complemento. Todas as respostas devem ser escritas de forma legível. O *índice de Michigan* deve ser calculado e registrado no final.

Compromisso do pesquisador colaborador nesta etapa: O pesquisador examinador desta etapa deve ter consciência de sua importância em todo o processo da pesquisa; em caso de dúvida, deve solicitar a imediata participação do pesquisador responsável; se esse isto não for possível, registrar as observações no formulário por escrito da necessidade de repetição do teste.

INVENTÁRIO DE MICHIGAN

NOME:

IDADE:

TEMPO DE DIABETES:

TIPO DE DIABETES: (se tipo 1 ou 2)

TRATAMENTO CLÍNICO:

EXAME FÍSICO: INCLUI AS ETAPAS ABAIXO. Com o paciente deitado em decúbito dorsal e cabeça apoiada em 1 ou 2 travesseiros, na maca, sem sapatos ou meias, terá os pés observados com ênfase nas regiões plantares. Abaixo, itens a serem observados.

1-Aparência dos pés: deformidades (dedos em martelo, dedos que se sobrepõem hálux valgo, subluxação articular, cabeças de metatarsos proeminentes, convexidade mediana).

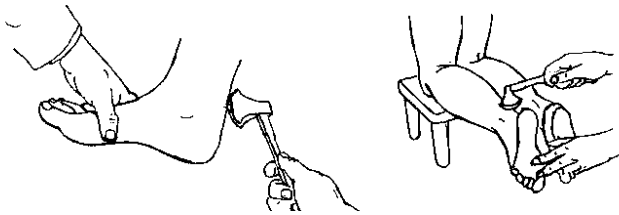
2-Possível presença de ulcerações.

3- Reflexo Aquileu (Reflexo aplicado com o uso de martelo de reflexos em sua base mais larga. Pé e tornozelo relaxados na mão do examinador); caso o paciente não esteja relaxado, não se pode valorizar a resposta. *Para esta pesquisa será feito com paciente em decúbito ventral, com os pés para fora da maca.

➤ Reflexo Aquileu

Nervo tibial, raízes S1 / S2

Percute-se diretamente o tendão de Aquiles com o indivíduo sentado ou apoiado sobre os joelhos.

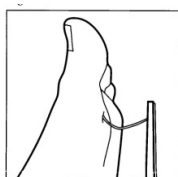


4-Sensação vibratória do dorso do primeiro dedo do pé (hálux): inicia-se com a aplicação do Diapasão de 128 Hz, após percuti-lo na palma da sua outra mão, na patela do paciente; a resposta é se, no hálux a sensação é similar, menor ou não perceptível, quando comparada com a patela. Se o paciente não percebe na patela, aplicar na crista ilíaca n=como referencia.

A posição do instrumento é perpendicular ao ponto examinado.

5-Monofilamento de 10 gramas: a aplicação é no mesmo ponto onde aplicado o diapasão.

A imagem abaixo demonstra a inclinação correta do filamento só que deverá ser aplicada no dorso do hálux (cerca de 45 graus distalmente).



Total:...../10 pontos

EXAME FÍSICO: assinalar com um(X) na resposta correta.

Normal	Sim		Não
	(0)		(1)
Ulceração	(0) Ausente		(1) resente
	D.....		D.....
	E.....		E.....
Reflexo Aquileo	(0) Presente	(0,5) Presente/reforço	(0) Ausente
	D.....	D.....	D.....
	E.....	E.....	E.....
Sensação vibratória do dorso do primeiro dedo do pé (hálux):			
(0) Presente	(0,5) Reduzida		(1) Ausente
	D.....	D.....	D.....
	E.....	E.....	E.....
Monofilamento de 10 gramas na região plantar correspondem a cabeça do primeiro metatarsiano (abaixo do hálux).			
(0) Presente	(0,5) Reduzida		(1) Ausente
	D.....	D.....	D.....
	E.....	E.....	E.....
Total:...../10 pontos			
Interpretação dos resultados:			
Considerado indicativo de NEUROPATIA se 04 ou mais pontos.			
*Modelo de Michigan.			

TERMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR INFRAVERMELHO

Sala de exame: 02 salas (Consultório 1 e Sala de Eletromiografia), com *blackout* nas janelas e possibilidade de controle da temperatura ambiente).

Materiais e equipamentos necessários:

- *Termógrafo com fonte de energia, cartão SD (IRI® 4010 e Flir® T400) e tripé.
- *Termômetro digital para medir temperatura e umidade da sala.
- *Anteparo de papelão (para posicionamento dos pés).
- *Bacia para pés plástica e cobertura plástica descartável.
- *Garrafa PET com água gelada para misturar na hora.
- *Termômetro de imersão para medir água a 15 graus.
- * *Luvas de procedimentos não estéreis: para uso do pesquisador na manipulação dos pés.

Termógrafos utilizados no experimento:



1) Marca ELETROPHYSICS, modelo PV320T, com sensibilidade térmica de 0,08 graus, faixa espectral de 7 a 12 micrômetros e erro máximo *full scale* de 2 %.

2) Marca IRYSIS, modelo IRI 4010, com sensibilidade térmica de 0,10 graus, faixa espectral de 8 a 14 micrometros, e erro máximo *full scale* de 2 %.

3) Marca FLIR, modelo T400, com sensibilidade térmica de 0,05 graus, faixa espectral de 7,5 a 13 micrometros, e erro máximo *full scale* de 2 %.

Procedimento de coleta:

A termografia computadorizada dos pés (imagem basal e após manobra provocativa com frio) de todos os participantes da pesquisa: controles, pré-diabéticos e diabéticos. O equipamento a ser utilizado apresenta sensibilidade térmica adequada para a aplicação clínica por incluir o comprimento de onda emitido pela pele humana, que é 9,4 μm , com índice de incerteza de 2% ou 2°C; no caso, o que for maior. A calibração do sistema é automática, conforme indicação do fabricante, ocorrendo a cada momento em que o mesmo é ligado e conectado ao computador (auto-teste do sistema). Associa-se um termômetro com precisão para monitorar a temperatura ambiental. O protocolo de coleta das imagens termográficas segue orientações de autores citados nas referências bibliográficas bem como às recomendações da *American Academy of Thermology* (www.americanacademyofthermology.org).

Protocolo e orientações:

*Verificar se o paciente seguiu rigorosamente as instruções pré-coleta. Caso não as tenha seguido, deverá ser orientado a remarcar sua coleta de imagens.

a) Não ingerir no dia da coleta bebida com cafeína ou fumar, pois tanto a cafeína como a nicotina podem interferir no sistema vascular periférico com conseqüente alteração nos padrões térmicos a serem identificados.

b) Banho muito quente, aplicação de recursos terapêuticos como termoterapia e eletroterapia e massoterapias bem como a aplicação de cremes ou loções nos locais de exame também foram contraindicadas. Exercícios vigorosos previamente ao exame também foram proibidos.

c) Não passar cremes, perfume ou outra substância que possa estimular a circulação periférica e aumentar a temperatura local.

d) Não usar medicamentos vasoativos como, por exemplo, descongestionantes nasais. Toda medicação que não fosse de uso contínuo e essencial deveria ser suspensa por no mínimo 6 horas antes da coleta Sala de exame.

O ambiente deverá ser monitorado para conservar a temperatura entre 22 e 23 °C e umidade entre 50 e 55%. A velocidade do ar não necessita ser medida, porém, não deverá haver fatores estimulantes de correntes de ar, como janelas abertas ou ventiladores.

O ar condicionado deve ser adequado em capacidade para as dimensões da sala. Desligar o ar condicionado imediatamente na hora de salvar a imagem termográfica para evitar deslocamento de ar e alterações de temperatura na imagem salva.

As janelas no ambiente devem ser vedadas com cortinas em material não reflexivo.

Lâmpadas fluorescentes, frias, no ambiente de termalização e coleta.

Utilizar termômetro digital, visível e à pequena distância do local onde estará o sujeito para monitorar a temperatura ambiente.

ATENÇÃO: SE AS CONDIÇÕES AMBIENTAIS DA SALA DE COLETA NÃO ESTIVEREM EXATAMENTE COMO ESPECIFICADA ACIMA NÃO VALORIZAR OS DADOS COLETADOS; REMARCAR COLETA.

Termalização do sujeito

Esta etapa da preparação do exame deverá ser bastante valorizada. A área a ser examinada será despida de roupas e calçados. Os sujeitos deverão permanecer no ambiente termalizado por quinze minutos, sem nenhum contato no local do exame (chão, parede, etc), podendo estar sentado ou deitado. Enquanto a maioria dos autores indica termalização pelo período de vinte minutos, optou-

se por um tempo maior de termalização devido à área de interesse (pés) apresentar usualmente maior temperatura cutânea quando em marcha recente (deslocamentos).

A coleta da imagem (salvar imagem) será feita pelo pesquisador assistente após breve treinamento de uso do termógrafo, que é similar a uma máquina fotográfica digital; deverá ser ligado 10 minutos antes para auto-calibragem, quando emite estalidos eventuais.

Importante: no termógrafo IRI 4010 as imagens são salvas diretamente no cartão SD e apresentam número em sequência, que aparece no visor do equipamento; deve-se anotar em caderneta ou folha de papel acessória a quem pertence cada imagem e qual momento. Convencionou-se anotar o nome e sobrenome e BASAL, IMEDIATA OU 15 MINUTOS.

Protocolo de coleta de termogramas dos pés: Basal e após stress térmico

Posição do paciente: DECÚBITO DORSAL, COM PÉS PARA FORA DA MACA; UTILIZAR O ANTEPARO DE PAPELÃO ESPECIAL, PARA ISOLAR DEMAIS SEGMENTOS COPORAIS (“contaminação” térmica).

Distância do equipamento até os pés do paciente: exatamente o suficiente para que as plantas dos pés preencham toda a tela do equipamento com mínima margem.

Número de coletas de imagens: total de 03 imagens; uma basal após 15 minutos de termalização, uma imediatamente após a manobra de esfriamento, e uma, 15 minutos exatos após a manobra.

Teste com manobra provocativa com frio:

O teste de *stress* com frio ou “Cold Stress” consiste em:

*Mergulhar ambos os pés ensacados em água a 15 °C por sessenta segundos.

* Então, termografar em seqüência imediatamente após imersão em água fria e quinze minutos após, para avaliar o índice de recuperação da temperatura indivíduo.

Interpretação dos resultados: as imagens serão estudadas posteriormente, importando as seguintes variáveis:

*temperatura (*average*) nos 10 marcadores (ROIs ou áreas de interesse, que são: hálux, primeiro, terceiro e quinto metatarsianos e calcâneos bilateralmente), em cada uma das 03 coletas;

*índice percentual de recuperação da temperatura para a região em estudo, sendo 90 a 100% considerado como normal.

*presença de imagem anisotérmica (não homogênea) nos dedos dos pés em qualquer das medidas termográficas.

REFERÊNCIAS: (HERRICK; HADIDY, 1994; FUJIWARA *et al*, 2000; CHERKAS *et al*, 2002; SUNDKVIST *et al*, 1986; HAUER *et al*, 1991; BRIOSCHI *et al*, 2003).

TESTES CARDÍACOS (VARIABILIDADE DA FREQUENCIA CARDÍACA)

O eletrocardiograma é gravado através de eletrodos de superfície, com o paciente deitado em decúbito dorsal e cabeceira elevada a 30 graus na derivação V5 ou modificada caso o complexo QRS não apresente boa amplitude.

Após gravação do traçado em repouso por 5 minutos, com medição da pressão arterial no início e final do teste, iniciam-se com as manobras dos quatro Testes de Ewing considerados reprodutíveis: respiração profunda, Valsalva, índice 30/15 e teste ortostático, onde novamente é medida a pressão arterial. O software do equipamento utilizado apresenta o protocolo já cronometrado.

Somente serão valorizados testes em ritmo sinusal; extrassístoles são identificadas pelo software e excluídas, bem como possíveis artefatos de movimentação dos eletrodos.

TESTES CARDIOVASCULARES

Testes de Ewing (03 principais)

1)Variação da Frequência Cardíaca durante Respiração Profunda (*Deep Breath*):

Paciente em decúbito dorsal com tronco superior elevado a 30º e calmo, solicitando-se que faça 06 respirações profundas em 1 minuto, inspirando durante 5 segundos e expirando por outros 5 segundos.

Durante este período é realizado o ECG, marcando-se no traçado o início de cada inspiração e expiração.

O menor intervalo R-R da inspiração e o maior da expiração, a cada ciclo, são convertidos em batimentos por minutos (bpm). O resultado é expresso como a média da diferença da FC máxima e FC mínima dos 06 ciclos, dentro dos limites de normalidade.

Normal: ≥ 15 bpm; limítrofe, 11 a 14 e anormal: ≤ 10 bpm.

2)Resposta da Frequência Cardíaca à Manobra de Valsalva:

Paciente em decúbito dorsal com tronco superior elevado a 30º, soprando um bico conectado a um manômetro de mercúrio com esforço suficiente para manter a pressão expiratória em 40 mm Hg e por 15 segundos, enquanto se registra continuamente o ECG, que se continua por outros 15 segundos após a liberação do esforço.

A manobra é realizada por três vezes, com intervalo de 1 minuto. O resultado é expresso em taxa de Valsalva, que é a razão entre as durações do maior intervalo R-R após a manobra (bradicardia) e do menor intervalo R-R durante o esforço (taquicardia do esforço). A medida é feita com régua *milimetrada*. No traçado do ECG. A média das 3 razões é aceita como valor final, dentro dos seguintes parâmetros: normal, $\geq 1,21$ mm/seg; limítrofe, 1,11 a 1,21 mm/seg; anormal, $\leq 1,10$ mm/seg.

3) Teste da razão 30:15 (resposta imediata da frequência cardíaca ao levantar):

Inicia com o indivíduo deitado com tronco superior elevado a 30º e com traçado de ECG contínuo. A seguir, ele é solicitado a levantar-se de uma só vez. O instante em que coloca o pé no chão é anotado no traçado do ECG até o 31º batimento que continua registrando ECG.

O encurtamento do intervalo R-R entre o 10º e 15º batimento e o alongamento do intervalo do 30º batimento e o seguinte são medidos por régua.

A taxa cardíaca é expressa pela razão 30/15, dentro dos limites: normal, $\geq 1,04$, limítrofe, 1,01 e 1,03; anormal, $\leq 1,00$.

4) Teste da pressão arterial ao ortostatismo:

Ao levantar, o teste é realizado medindo a pressão arterial com o indivíduo deitado e relaxado, por 3 a 5 minutos e, novamente, no primeiro minuto após levantar-se. O cálculo é feito pela diferença das pressões sistólicas, deitado e em pé. Este simples teste é anormal apenas quando há SEVERO comprometimento simpático e seus limites são os seguintes: normal, ≤ 10 mm Hg; limítrofe, 11 a 20 mmHg e anormal, ≥ 30 mmHg.

Interpretação dos resultados:

Acrescentando-se os três principais índices da **Análise Espectral** aos Testes de Ewing a sensibilidade e especificidade da análise de VFC (Variabilidade da Frequência Cardíaca) aumenta para 99%. Com este protocolo, a presença de NAC (Neuropatia Autonômica Cardíaca) incipiente é definida por dois testes anormais, com especificidade de 98% e a NAC estabelecida é definida por três testes anormais, com especificidade de 100%.

ELETRONEUROMIOGRAFIA

Este exame foi realizado por último por ser invasivo devido ao eletrodo de agulha e por usar estímulos elétricos, que eventualmente poderiam alterar as funções microcirculatórias dos pés. Foram utilizados eletrodos de superfície para a captação de testes de neurocondução e eletrodos de agulha descartáveis, monopolares para a miografia, de marca Dantec®, Dinamarca, respectivamente em equipamento de marca Neurosoft®, Russia.

Parâmetros para neurocondução motora:

Velocidade de varredura da tela: 2ms/divisão.

Sensibilidade de ganho vertical: 1mV/divisão.

Frequência de estímulos: 1 Hz

Duração dos pulsos: 0,1 ms.

Parâmetros para neurocondução sensitiva:

Velocidade de varredura da tela: 2ms/divisão.

Sensibilidade de ganho vertical: 20 μ V/divisão.

Frequência de estímulos: 1 Hz

Duração dos pulsos: 0,1 ms.

Temperatura da pele no local de exame: 32° C medida com termômetro Laser marca Iminipa®, Brasil.

**Caso necessário, segmento foi aquecido com ar quente (secador de cabelos adaptado).*

Testes de neurocondução:

Nervos surais: antidrômico, com estímulo na perna e gravação a 14 cm, distal ao maléolo lateral.

Nervos fibulares (motores): gravação no dorso do pé (músculo extensor curto dos dedos) após estimulação supra máxima do tornozelo anterior (distância de 7,5 cm) e junto à cabeça da fíbula.

Nervo mediano (motor/membro dominante): gravação a 7 cm do local do estímulo no punho, sendo, na região tênar. Segundo estímulo na região medial do antebraço junto ao cotovelo.

Miografia com eletrodo de agulha monopolar: será realizada quando estudos de neurocondução estiverem alterados, em músculos correspondentes aos nervos comprometidos (exemplo: tibial anterior, gastrocnêmios, abductor curto do polegar).

**Valores normativos de referência:*

AAEE (American Association of Electrodiagnostic Medicine) (www.aaem.net).