

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Anne Kastelianne França da Silva

**Dinâmica linear e não linear da variabilidade da frequência
cardíaca: sensibilidade, especificidade, valor preditivo e
correlação de características físicas e clínicas no Diabetes**

***Mellitus* tipo 1**

Presidente Prudente

2014

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Anne Kastelianne França da Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós - graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei

Presidente Prudente

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

França da Silva, Anne Kastelianne.
F881d Dinâmica linear e não linear da variabilidade da frequência cardíaca :
sensibilidade, especificidade, valor preditivo e correlação de características
físicas e clínicas no Diabetes Mellitus tipo 1 / Anne Kastelianne França da
Silva. - Presidente Prudente : [s.n], 2014
00 f.

Orientador: Luiz Carlos Marques Vanderlei
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

1. Diabetes Mellitus tipo 1. 2. Sistema Nervoso Autônomo . 3.
Sensibilidade e Especificidade. I. Vanderlei, Luiz Carlos Marques. II.
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III.
Título.

BANCA EXAMINADORA

Luz Carlos Marques Vanderlei

PROF. DR. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
(ORIENTADOR)

Roselene Modolo Regueiro Lorençoni

PROFA. DRA. ROSELENE MODELO REGUEIRO LORENÇONI
(FCT/UNESP)

Francis Lopes Pacagnelli

PROFA. DRA. FRANCIS LOPES PACAGNELLI
(UNOESTE)

Anne K. F. da Silva

ANNE KASTELIANNE FRANÇA DA SILVA

PRESIDENTE PRUDENTE (SP), 22 DE DEZEMBRO DE 2014.

RESULTADO:

Aprovado

Dedicatoria

Dedico esta dissertação àqueles que sempre acreditaram no meu potencial e me incentivaram em todos os momentos....

Agradecimientos

Então, nada mais justo do que começar agradecendo à ELE, que esteve sempre comigo, à quem recorri nos meus momentos de angústias e felicidades, solicitando ou agradecendo... à Deus. Nada disso seria possível sem a sua presença em minha vida, guiando os meus passos, secando minhas lágrimas, acalmando o meu coração e me mostrando o melhor caminho para chegar até onde cheguei. Obrigada.

*A presença de Deus na terra está certamente em duas pessoas, que foram encarregadas de me mostrar como caminhar e enfrentar todas as adversidades que a vida colocaria em minha frente. Aos meus pais, **França e Vanda**, e ao meu irmão, **Hitalo**, agradeço por todos os esforços para me dar o melhor, por sempre apoiarem as minhas decisões, por confiarem e acreditarem em mim. Vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.*

*Agradeço também ao meu querido orientador, **Profº Luiz Carlos Marques Vanderlei**, por me ensinar que ao contrário do que eu pensava a VFC não é algo impossível de entender e que Caos não é bem Caos... é apenas uma bagunça organizada. Agradeço a esses e a tantos outros ensinamentos, agradeço por toda a dedicação, pela agilidade nas correções, pela prioridade dada a mim nos últimos meses e por toda a confiança depositada durante esses anos. Sei que cresci muito durante o mestrado e isso se deve ao exemplo que tive, não só durante o mestrado mais sim durante todos esses anos tendo-o como orientador.*

*Claro que não poderia faltar, aquele que esteve sempre ali, ouvindo minhas lamentações, meus estresses, minhas dúvidas, meus inconformismos, que esteve sempre segurando a barra de perto, me falando o que eu precisava ouvir, sem passar a mão na minha cabeça e dizendo “você pode ser melhor do que isso” mostrando que eu podia me superar. É **amor**, nada disso seria possível sem você para me amparar, sem você para segurar minha mão e dizer “vai que eu acredito em você”. Mais uma vez Deus colocou no meu caminho alguém que não sairia dela nunca mais, e como eu agradeço a ele por isso. Obrigada por tudo! E obrigada aos seus pais, **Maria e Luiz** por terem me conduzido para uma boa educação e caráter e claro por me aceitarem na família, me sinto muito querida por vocês.*

*Obrigada também, as minhas queridas **Aline, Mari, Fany, Tati e Titi**, que perto ou distante foram a minha válvula de escape. Obrigada meninas por todos os bons momentos vividos durante essa etapa, por todos os conselhos dados, por simplesmente me ouvirem, pelas dúvidas tiradas, pelos almoços e pelas risadas, tudo ficou mais fácil com vocês por perto.*

*Agradeço ao **Laboratório de Fisiologia do Estresse** pelo convívio diário e por todo o aprendizado durante esses anos. Agradeço as minhas “orientandas” **Elaine e Ana Alice**, pelo crescimento proporcionado ao ajuda-las a escrever o trabalho de graduação e monografia.*

*Agradeço também a **Gabi, Maira e Layane** pelo convívio em casa, por estarem sempre dispostas a me ouvir, ajudar e por terem me dado o prazer de conhecê-las. Poucas são as pessoas que conseguem viver em harmonia sendo tão diferentes.*

*Agradeço a todos que facilitaram a minha comunicação com os voluntários, em especial ao **Drº Simão da Silva Bastos Neto** e a **Drª Carolina Betônico**, que foram de uma extrema gentileza e entraram em contato com seus pacientes convidando-os para essa pesquisa.*

*Agradeço ao **Profº Diego** pela grande ajuda, atenção e sempre disponibilidade, durante a elaboração dos resultados dessa tese.*

*Por fim, agradeço a **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pelo apoio financeiro dado a este trabalho.*

*Nada disso seria possível sem a participação de vocês, pequena ou grande,
mas sem dúvida essencial.*

A todos vocês, muito Obrigada!

Epigrafe

“O êxito na vida não se mede pelo que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.”

*Abraham Lincoln
(1809-1865)*

“É preciso força pra sonhar e perceber que a estrada vai além do que se vê...”

Marcelo Camelo - Los Hermanos

Sumário

SUMÁRIO

1. Apresentação	14
2. Resumo	17
3. Abstract	20
4. Introdução	22
a. Artigo I	28
b. Artigo II	57
c. Artigo III	82
5. Conclusões.....	108
6. Referências	110
7. Anexos	114
a. Normas do periódico: “Diabetes Research and Clinical Practice”	115
b. Normas do periódico: “Cardiovascular Diabetology”	127
c. Normas do periódico: “Diabetes & Metabolism”	141

Apresentação

Este é um modelo alternativo de dissertação e contempla a pesquisa intitulada: **Dinâmica linear e não linear da variabilidade da frequência cardíaca: sensibilidade, especificidade, valor preditivo e correlação de características físicas e clínicas no Diabetes *Mellitus* tipo 1**, realizada no Laboratório de Fisiologia do Estresse da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP.

Em concordância com as normas do modelo alternativo do Programa de Pós Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, a presente dissertação está dividida da seguinte forma:

- * Introdução, contendo a contextualização do tema pesquisado;
- * Artigo I: Silva AKF e Vanderlei LCM. Aplicação da variabilidade da frequência cardíaca no diagnóstico e prognóstico de indivíduos com Diabetes *Mellitus*: Revisão Sistemática, que será submetido para análise ao periódico: Diabetes Research and Clinical Practice.
- * Artigo II: Silva AKF e Vanderlei LCM. Sensibilidade, especificidade e valor preditivo dos índices da variabilidade da frequência cardíaca no Diabetes *Mellitus* tipo 1, que será submetido para análise ao periódico: Cardiovascular Diabetology.
- * Artigo III: Silva AKF e Vanderlei LCM. Associação da modulação autonômica da frequência cardíaca com características físicas e clínicas de jovens diabéticos tipo 1, que será submetido para análise ao periódico: Diabetes & Metabolism.
- * Conclusões, obtidas por meio da pesquisa realizada; e

* Referências, cujo formato é recomendado pelo Comitê Internacional de Editores de Jornais Médicos (ICMJE – *International Committee of Medical Journal Editors*), para apresentação das fontes utilizadas na redação da introdução.

Ressalta-se que os artigos estão formatados e apresentados conforme as normas para apresentação da dissertação, porém serão submetidos de acordo com as normas de cada periódico, apresentadas em anexo.

Resumo

INTRODUÇÃO: O Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DM Tipo 1) pode promover alterações autonômicas que podem ser avaliadas pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC), entretanto não são do nosso conhecimento o poder diagnóstico dessa ferramenta e a associação de características clínicas e físicas com os índices da VFC no DM tipo 1. **OBJETIVO:** 1) Verificar o uso da VFC como ferramenta para avaliação diagnóstica em diabéticos, assim como se existem pontos de corte gerados a partir da utilização dessa ferramenta nesses indivíduos; 2) Comparar os índices da VFC e avaliar o valor prognóstico destes índices por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos em jovens com DM tipo 1 e saudáveis; 3) Avaliar a existência de associações entre índices de VFC e níveis de atividade física, composição corporal, parâmetros metabólicos e cardiovasculares em indivíduos com DM tipo 1. **MÉTODOS:** Para atingir o primeiro objetivo, realizou-se busca em bases eletrônicas partindo dos registros mais antigos até abril de 2014 para buscar na literatura o que havia sobre o tema. Posteriormente, para atingir os objetivos 2 e 3, foram avaliados 39 jovens com DM tipo 1 e 43 jovens saudáveis, os quais tiveram seus parâmetros cardiovasculares, composição corporal, nível de atividade física e glicemia casual mensurados, seguido da captação da frequência cardíaca batimento a batimento com os voluntários em decúbito dorsal, para posterior análise da VFC. Os dados foram analisados quanto a sua normalidade (Shapiro-Wilk) e a determinação da acurácia diagnóstica da VFC e pontos de corte foram definidos por meio da curva Receiver Operating Characteristic (ROC). A associação entre os índices da VFC e as variáveis independentes foi verificada por meio da Regressão Linear no modelo não ajustado e ajustado. A significância estatística adotada foi fixada em 5% e o intervalo de confiança em 95%. **RESULTADOS:** A busca eletrônica resultou em 5 trabalhos que apontaram que indivíduos que possuem DM apresentam redução da VFC e perda da complexidade, e que índices não lineares como Entropia de Amostra e SD1/SD2 extraído do *plot* de Poincaré, e os índices lineares SDANN, HF, e a TFC de inclinação expressam melhor poder discriminatório para determinar disfunção autonômica. Ao avaliarmos a VFC de indivíduos com DM tipo 1 e saudáveis, identificamos redução na atividade simpática, parassimpática e global do SNA no DM tipo 1, e que os índices RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRtri, SD1 e SD2 representam melhor acurácia diagnóstica para discriminar indivíduos com DM tipo 1. Ainda, em jovens com DM tipo 1 valores elevados de Frequência Cardíaca de Repouso (FCR) estão associados a redução da atividade parassimpática e global da VFC e maiores valores na relação cintura quadril (RCQ) estão relacionadas a menor atividade parassimpática independente da idade e sexo. **CONCLUSÃO:** A revisão executada demonstra que a VFC pode ser utilizada com eficácia no prognóstico e diagnóstico de indivíduos com DM e a partir das análises realizadas podemos apontar que os índices SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 podem ser utilizados para discriminar indivíduos com DM tipo 1 e que em jovens com essa patologia, independente da idade e do sexo, incrementos nos valores de FCR estão

associadas a redução da atividade parassimpática e global da VFC e maiores valores de RCQ estão associados a redução da atividade vagal.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 1, Sistema Nervoso Autônomo, Sensibilidade e Especificidade.

Abstract

Introduction: Type 1 diabetes *mellitus* (T1DM) can promote autonomic alterations, and this can be assessed by heart rate variability (HRV). However the power diagnosis of this tool and the association between clinics and physics characteristics and HRV index in T1DM is unknowledge for us. **Objective:** to evaluate the HRV prognostic value on literature and in T1DM by sensibility, specificity and predict values. And assess the association existence between HRV index and physic activity levels, corporal composition and metabolic and cardiovascular parameters in this population. **Methods:** we perform a search at electronics bases of older records to April 2014 searching on literature what they have about the theme. After this, we evaluated 43 young people's health and 39 T1DM people which had measured their cardiovascular parameters, corporal composition, physical activity level, and their casual glycemie, followed by an autonomic evaluation by HRV that was obtained with a heart rate monitor to have the HRV index. The data were analyzed as normality (Shapiro-wilk) to determinate the HRV diagnosis accuracy, cutoff point was obtained for Receiver Operating characteristic (ROC) curve. The association between HRV index and independents variables were verified to linear regression on adjusted and non-adjusted models. The statistical significance was set as 5% and de confidence interval of 95%. **Results:** The electronic search results in 5 works that addressed the use of diagnosis and prognostic of HRV in diabetics. When we evaluated the HRV in T1DM and health individuals, was identified a sympathetic, parasympathetic, and global ANS activity decrease on T1DM group, and better diagnosis accuracy to discriminate the groups at RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRtri, SD1 and SD2 index. Furthermore the higher values of resting heart rate (RHR) on young people with T1DM, were associated with a parasympathetic and global decrease of HRV, and higher values of waist hip radio were related to lower independent sympathetic activity of sex and age. **Conclusion:** Our revision demonstrate that the HRV can be used with a prognostic and diagnosis efficacy of DM subjects. We can appointed with our analyzes that de SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 can be utilized to discriminate T1DM individuals, and the increase on RHR and WHR on young people of this pathology were associated with a decrease of vagal and global activity of ANS, regardless of age and sex.

Keywords: Type 1 diabetes *mellitus*, autonomic nervous system, sensibility and specificity.

Introdução

O Diabetes *Mellitus* (DM) é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos de etiologia múltipla, caracterizado por hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo de hidratos de carbono, gordura e proteína, resultante da falta de insulina e/ou incapacidade desta exercer adequadamente suas ações^{1,2}.

Considerado um problema universal, a incidência do DM vem crescendo rapidamente nos últimos anos. De acordo com a Federação Internacional de Diabetes³, em 2012 mais de 374 milhões de pessoas possuíam diabetes no mundo, aproximadamente 4,8 milhões morreram devido à mesma, e mais de 471 milhões de dólares foram gastos com essa patologia naquele ano.

A classificação do DM proposta pela Organização Mundial da Saúde e pela American Diabetes Association é fundamentada em sua etiologia e aponta duas classes principais: DM tipo 1 e DM tipo 2^{1,4}.

O DM tipo 1 é uma doença auto-imune, resultante da destruição das células betapancreáticas, com consequente deficiência de insulina, e está presente em 5 a 10% dos casos de DM^{2,5}, já o DM tipo 2, caracteriza-se por defeitos na ação da insulina ou na sua secreção e está presente em 90% a 95% dos diabéticos^{2,4}.

Apesar de ser a menos prevalente, a incidência de DM tipo 1 está aumentando mundialmente e ocorrendo em indivíduos cada vez mais jovens⁶. Dentre as crianças, 15 mil são diagnosticadas anualmente com DM tipo 1 e 3.700 com DM tipo 2⁷ e aproximadamente 25% dos pacientes com DM tipo 1 são diagnosticados na fase adulta⁸.

O DM pode gerar complicações decorrentes de alterações micro e macro vasculares que levam à disfunção e insuficiência em diferentes órgãos². Uma das complicações mais importantes do DM é a neuropatia autonômica cardíaca (NAC) que resulta de danos às fibras nervosas autonômicas que inervam o coração

e os vasos sanguíneos provocando anormalidades no sistema cardiovascular⁹. Responsável por aumentar a mortalidade entre os diabéticos¹⁰ a NAC está presente em aproximadamente 25% dos pacientes com DM tipo 1 e sua prevalência eleva-se proporcionalmente à idade, duração do diabetes e mau controle glicêmico¹¹.

Para analisar o comprometimento autonômico gerado por essa complicação a American Diabetes Association¹² sugere a utilização da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), um método simples e não invasivo que descreve as oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), as quais estão relacionadas às influências do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o nódulo sinusal¹³ e indica a capacidade do coração em responder aos estímulos ambientais e fisiológicos¹⁴.

Indivíduos com DM tipo 1 apresentam redução global da VFC quando comparados com indivíduos saudáveis para diversas faixas etárias¹⁵⁻¹⁸. Além disso, perda no componente parassimpático com aumento simpático¹⁹ e redução da magnitude e complexidade dos mecanismos de controle da frequência cardíaca nesses indivíduos^{20, 21} também tem sido relatada.

Em indivíduos com glicemia alterada e em diabéticos existe redução no componente parassimpático^{22,23} e em diabéticos tipo 2 variáveis como pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca de repouso (FCR) estão associadas à redução da VFC²⁴.

Estudos têm apontado ainda, que alguns índices da VFC permitem detectar alterações autonômicas com melhor sensibilidade e especificidade e podem descrever alterações do ritmo cardíaco com alto valor diagnóstico e prognóstico²⁵⁻²⁸.

Em adultos de meia idade com DM tipo 2, Khandoker *et al.*²⁵ observaram que os índices SD1, extraído do plot de Poincaré, e a SampEn (entropia

de amostra) podem identificar a presença de comprometimento autonômico cardíaco com melhor acurácia diagnóstica e Ziegler *et al.*²⁶ apontaram em seu trabalho que o índice HF apresentou maior sensibilidade para detectar disfunção autonômica precoce em diabéticos tipo 1 e tipo 2 de $45,3 \pm 1,4$ anos com NAC.

Outros estudos que avaliaram o poder prognóstico dessa ferramenta foram direcionados a outras populações e situações e apontaram que os índices HFms², RMSSD, NN50 e a entropia aproximada possuem melhor poder discriminatório para identificar a presença de obstrução coronária significativa em pacientes com angina estável submetidos a angiografia coronária²⁷ e que os índices DFA total, entropia aproximada e expoente de Lyapunov foram mais sensíveis e específicos para diferenciar casos de pós-operatório de cirurgia de revascularização do miocárdio que evoluíram com infecção pulmonar²⁸.

Como se pôde observar, alguns fatores podem interferir no comportamento autonômico de indivíduos com DM e que determinados índices expressam melhor sensibilidade para detectar disfunção autonômica, contudo, não é do nosso conhecimento estudos que tenham avaliado se existem associações de características clínicas e físicas com os índices da VFC e quais índices possuem melhor acurácia diagnóstica em jovens com DM tipo 1, uma vez que a maioria dos estudos foram realizados com pacientes de meia idade e com diagnóstico de DM tipo 2.

Neste contexto e considerando que a diminuição da VFC é um indicativo de adaptação anormal e insuficiente do SNA¹⁴ e que a presença de disfunção autonômica cardíaca em pacientes já em risco, como no DM, pode ser especialmente perigosa²³, entende-se como pertinente avaliar quais índices da VFC podem ser considerados como um bom marcador diagnóstico e prognóstico prático

em DM tipo 1 e quais características físicas e/ou clínicas influenciam no comportamento autonômico dessa população.

Para os profissionais que trabalham com pacientes com DM tipo 1, como é o caso da fisioterapia, informações dessa natureza permitirão, além do acréscimo de informações sobre a temática descrita, a identificação de possíveis características físicas e clínicas que possam influenciar o SNA nesses indivíduos e a determinação do poder diagnóstico e prognóstico dos índices de VFC. Essas informações poderão contribuir para melhores condições de estratificação de risco desses pacientes, conscientização para elaboração de programas preventivos e novas estratégias de tratamento para os mesmos.

Levando em consideração o exposto acima, essa dissertação foi elaborada com o objetivo de avaliar o valor prognóstico dos índices da VFC em indivíduos com DM tipo 1 por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos e a existência de associações entre índices de VFC e níveis de atividade física, composição corporal, parâmetros metabólicos e cardiovasculares nessa população.

Para cumprir com os objetivos propostos foi realizado um estudo que proporcionou a elaboração de três artigos científicos.

O primeiro deles foi intitulado: “***Aplicação da variabilidade da frequência cardíaca no diagnóstico e prognóstico de indivíduos com Diabetes Mellitus: revisão sistemática***”, o qual teve por objetivo buscar estudos que haviam utilizado a VFC como ferramenta para avaliação diagnóstica em diabéticos, assim como se existiam pontos de corte gerados a partir da utilização dessa ferramenta nesses indivíduos. Os resultados desse estudo apontaram que cinco trabalhos abordaram o uso da VFC para avaliação diagnóstica e prognóstica em diabéticos e

que apesar de existirem diferenças metodológicas e de índices utilizados, a ferramenta pode ser utilizada com eficácia no prognóstico e diagnóstico prático de indivíduos com DM.

O segundo artigo intitulado: “**Sensibilidade, especificidade e valor preditivo dos índices da variabilidade da frequência cardíaca no Diabetes Mellitus tipo 1**” teve por objetivo comparar os índices da VFC e avaliar o valor prognóstico destes índices por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos em jovens com DM tipo 1 e saudáveis. Os resultados permitiram concluir que indivíduos com DM Tipo 1 apresentam alterações autonômicas caracterizadas por redução tanto da atividade simpática quanto parassimpática e na variabilidade global e que os índices SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 apresentaram melhor acurácia diagnóstica para discriminar indivíduos com DM Tipo 1.

Finalmente o terceiro artigo intitulado “**Associação da modulação autonômica da frequência cardíaca com características físicas e clínicas de jovens diabéticos tipo 1**” teve como proposta avaliar a existência de associações entre índices de VFC e níveis de atividade física, composição corporal, parâmetros metabólicos e cardiovasculares em indivíduos com DM tipo 1. Nesse estudo os resultados apontam que em jovens com DM tipo 1, incrementos nos valores de FCR e relação cintura-quadril estão associados a redução da atividade vagal e global do SNA independente da idade e do sexo.

A seguir esses artigos serão apresentados na íntegra, conforme as normas para apresentação da dissertação, as quais foram definidas pelo Conselho de Curso do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da FCT/UNESP.

Artigo 1

**APLICAÇÃO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA NO
DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DE INDIVÍDUOS COM DIABETES *MELLITUS*:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Anne Kastelianne França da Silva¹ e Luiz Carlos Marques Vanderlei²

¹Discente do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

²Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

Endereço para correspondência:

Faculdade de Ciências e Tecnologia UNESP – Universidade Estadual Paulista.
Programa de Pós Graduação em Fisioterapia.

A/C Luiz Carlos Marques Vanderlei

Endereço: Avenida Roberto Simonsen, 305.

CEP: 19060-900. Presidente Prudente – São Paulo – Brasil

Telefone: (18) 3229 - 5819

e-mail: anne_franca@hotmail.com

RESUMO

INTRODUÇÃO: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma medida indireta da modulação autonômica que pode ser utilizada para avaliar e identificar alterações autonômicas em diversas condições fisiológicas ou patológicas, entretanto, seu uso na prática clínica ainda é incipiente. Em diabéticos ela tem sido empregada para reconhecer Neuropatia Autonômica Cardíaca (NAC) e para determinar a gravidade da doença. **OBJETIVO:** Verificar o uso da VFC como ferramenta para avaliação diagnóstica e prognóstica em diabéticos, assim como se existem pontos de corte gerados a partir da utilização dessa ferramenta nesses indivíduos. **MÉTODOS:** Realizou-se busca nas bases eletrônicas MEDLINE (via Ovid), Biblioteca Cochrane (via Ovid) EMBASE e LILACS (via Bireme) partindo dos registros mais antigos até abril de 2014, por meio dos descritores referentes à condição alvo, ferramenta avaliada e método de avaliação. Todos os trabalhos foram avaliados quanto à qualidade metodológica pelo instrumento QUADAS-2. **RESULTADOS:** A busca eletrônica resultou inicialmente em 2.299 referências, das quais 2.242 foram excluídas por não estarem relacionados ao tema proposto. Os 57 títulos e resumos restantes foram avaliados e 14 foram selecionados por se adequarem aos critérios de inclusão pré-estabelecidos. Desses foram selecionados cinco trabalhos que abordaram o uso da VFC para avaliação diagnóstica e prognóstica em diabéticos. Em geral, os estudos apontam que a VFC é útil para discriminar a NAC em diabéticos e que os índices Entropia de Amostra e SD1/SD2 extraído do *plot* de Poincaré, SDANN, HF, e a TFC de inclinação, possuem melhor poder discriminatório para detectar disfunções autonômicas, indicando que este método pode ser utilizado como marcador diagnóstico e prognóstico prático nessa população. Além disso, a utilização de índices de VFC como porta de entrada para uma rede neural artificial pode discriminar indivíduos diabéticos de saudáveis. **CONCLUSÃO:** Apesar de existirem diferenças metodológicas e de índices utilizados, a ferramenta pode ser utilizada como ferramenta adicional e/ou complementar aos testes autonômicos convencionais propostos por Ewing, a fim de obter diagnósticos mais seguros e eficazes colaborando para melhores condições de estratificação de risco desses pacientes.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus, Sistema Nervoso Autônomo e Sensibilidade e Especificidade.

INTRODUÇÃO

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma ferramenta simples e não invasiva que descreve as oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), as quais estão relacionadas às influências do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o nódulo sinusal, que permite avaliar o comportamento do SNA¹ e está alterada em diversas condições patológicas, como o infarto agudo do miocárdio², hipertensão arterial³, insuficiência coronariana⁴, doença pulmonar obstrutiva crônica⁵, e o diabetes mellitus (DM)⁶.

Em indivíduos com DM, alterações no comportamento autonômico podem estar relacionadas à presença de neuropatia autonômica^{7,8}. Esses indivíduos podem apresentar neuropatia autonômica cardíaca (NAC), a qual provoca anormalidades no controle da frequência cardíaca e dinâmica cardiovascular devido à ocorrência de danos nas fibras nervosas autonômicas que inervam o coração e os vasos sanguíneos⁹. Essa condição pode ser avaliada por diferentes métodos, entre eles a VFC.

Em indivíduos com DM as análises lineares por meio da VFC têm apontado que existe uma redução global de ambos os componentes do SNA⁶ ou perda no componente parassimpático com aumento simpático⁷ quando comparado com indivíduos saudáveis, o que indica um prejuízo da modulação autonômica cardíaca nesses indivíduos¹⁰. Além disso, estudos que avaliaram a VFC por meio dos métodos não lineares apontam que existe uma redução da magnitude e complexidade dos mecanismos de controle da frequência cardíaca nesses indivíduos^{11,12}.

Ainda, a VFC global tem se mostrado reduzida em DM tipo 1 quando comparados com indivíduos saudáveis para diversas faixas etárias^{6,8,13,14}

apresentando comprometimento autonômico nas suas fases iniciais e piorando progressivamente ao longo dos anos¹⁵.

Apesar da sua utilização para avaliar e identificar alterações autonômicas, o uso da VFC na prática clínica ainda é incipiente, apesar de muitos trabalhos demonstrarem a eficácia dessa ferramenta para esses fins^{13,16,17}. Recentemente, a VFC vem sendo apontada como um importante marcador diagnóstico e prognóstico prático em diferentes populações e situações^{18,19}.

Côrrea *et al.*¹⁸ apontaram que os índices DFA total, entropia aproximada e expoente Lyapunov obtidos pela análise não linear da VFC, foram mais sensíveis e específicos para diferenciar casos de pós-operatório de cirurgia de revascularização do miocárdio que evoluíram com infecção pulmonar. Já Pivatelli *et al.*¹⁹ observaram que os índices HF ms², RMSSD, NN50 e a entropia aproximada possuem melhor poder discriminatório para a presença de obstrução coronária significativa em pacientes com angina estável submetidos a angiografia coronária.

A utilização da VFC como ferramenta capaz de avaliar a influência das alterações no SNA produzidas pelo DM é sugerida como um dos testes autonômicos utilizados para o diagnóstico clínico nesses indivíduos²⁰. O uso da VFC pode oferecer vantagens nessa avaliação por se tratar de uma ferramenta simples, de fácil manuseio e que não necessita da cooperação efetiva do paciente²¹. De forma contrária, os testes clínicos autonômicos convencionais, como a manobra de valsalva e resposta da frequência cardíaca a mudança postural, requerem a cooperação do paciente e muitas vezes não são capazes de serem executados devido à presença de co-morbidades, que são contraindicações ou influenciam no resultado do teste^{22,23}.

O uso de instrumentos mais refinados em comparação aos testes clínicos autonômicos convencionais, como é o caso da VFC, permite diagnosticar disfunção autonômica precoce e acometimento cardiovascular como apontado em outros estudos^{18,19}. Entretanto, a utilização da VFC como ferramenta capaz de discriminar indivíduos com DM ainda é pouco explorada, uma vez que o seu uso tem se limitado a comparar aqueles com e sem a patologia^{6,7,14}.

Informações dessa natureza contribuirão para o acréscimo de informações sobre a temática descrita colaborando para melhores condições de estratificação de risco desses pacientes e conscientizando para elaboração de novas estratégias de tratamento para os mesmos. Além disso, entendendo o poder discriminatório dessa ferramenta em DM, clínicos e pesquisadores podem utilizá-la como ferramenta adicional e/ou complementar aos testes autonômicos convencionais propostos por Ewing²², a fim de obter diagnósticos mais seguros e eficazes.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi buscar estudos que tenham utilizado a VFC como ferramenta para avaliação diagnóstica e prognóstica em indivíduos com DM, assim como se existem pontos de corte gerados a partir da utilização dessa ferramenta nesses indivíduos.

MÉTODOS

Estratégia de busca

Os estudos foram selecionados a partir de pesquisas nas bases de dados: MEDLINE (via Ovid), Cochrane Central Register Of Controlled Trials (via Ovid) EMBASE e LILACS (via Bireme) partindo dos registros mais antigos até abril de 2014. Como estratégia de busca foram selecionados estudos de acurácia

utilizando os descritores em inglês (MeSH) referentes a condição alvo (Diabetes Mellitus), ferramenta avaliada (Variabilidade da Frequência Cardíaca) e método de avaliação (Sensibilidade e Especificidade) assim como, os cruzamentos realizados com o operador booleano “OR” e “AND” descritos no Quadro 1.

Quadro 1: Apresentação dos termos utilizados e estratégia de cruzamento realizada.

1)	<i>“Diabetes Mellitus”</i>
2)	<i>“Electrocardiography”</i> OR <i>“Sympathetic Nervous System”</i> OR <i>“Parasympathetic Nervous System”</i> OR <i>“Autonomic Nervous System”</i> OR <i>“Heart Rate”</i> OR <i>“Cardiovascular System”</i> OR <i>“Heart Rate Variability”</i> OR <i>“instrument”</i> OR <i>“tool”</i>
3)	<i>“Sensitivity and Specificity”</i> OR <i>“Limit of Detection”</i> OR <i>“Roc Curve”</i> OR <i>“Reproducibility of Results”</i> OR <i>“Diagnostic Self Evaluation”</i> OR <i>“Predictive Value of Tests”</i>
4)	1 AND 2 AND 3

Ao inserir na plataforma Ovid os termos cadastrados no MeSH, obtivemos como resultados outros termos correspondentes (*electrocardiography*, *ambulatory* e *tool use behavior*), os quais foram inseridos na busca. Esse acréscimo foi realizado para as bases MEDLINE e Cochrane e todos os detalhes da estratégia podem ser visualizados nos Quadros 1 e 2, respectivamente. Para a busca realizada na EMBASE, foram utilizadas a estratégias de cruzamentos contidas no Quadro 3 e para a busca na base de dados LILACS foi realizado o cruzamento dos três grupos,

englobando sempre condição alvo x ferramenta avaliada x método de avaliação (Quadro 4).

Todas as referências foram importadas para uma base dados (EndNote X7) a fim de identificar os títulos repetidos e selecionar os artigos potencialmente elegíveis para compor a revisão.

Quadro 1: Estratégia de Busca Medline (Ovid)

[Condição alvo]

1 Diabetes Mellitus, Type 1/ or diabetes.mp. or Diabetes Mellitus, Type 2/ or
Diabetes Mellitus/

[Ferramenta avaliada]

2 autonomic nervous system.mp. or Autonomic Nervous System/

3 sympathetic nervous system.mp. or Sympathetic Nervous System/

4 parasympathetic nervous system.mp. or Parasympathetic Nervous System/

5 Heart Rate.mp. or Heart Rate/

6 Heart Rate Variability.mp.

7 cardiovascular system.mp. or Cardiovascular System/

8 Electrocardiography, Ambulatory/ or Electrocardiography/ or
Electrocardiography.mp.

9 instrument.mp.

10 tool.mp. or "Tool Use Behavior"/

11 2 or 3 or 4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9 or 10

[Método de análise]

12 (Sensitivity and Specificity).mp. [mp=title, abstract, original title, name of substance word, subject heading word, keyword heading word, protocol supplementary concept word, rare disease supplementary concept word, unique identifier]

- 13 limit of detection.mp. or "Limit of Detection"/
- 14 roc curve.mp. or ROC Curve/
- 15 Predictive Value of Tests.mp. or "Predictive Value of Tests"/
- 16 Reproducibility of Results.mp. or "Reproducibility of Results"/
- 17 diagnostic evaluation.mp.
- 18 12 or 13 or 14 or 15 or 16 or 17

[Combinando resultados: Ferramenta avaliada + Método de análise]

- 19 11 and 18

[Combinação final]

- 20 1 and 19

Quadro 2. Estratégia de Busca Cochrane Central Register of Controlled Trials (Ovid)

[Condição alvo]

- 1 Diabetes Mellitus, Type 1/ or diabetes.mp. or Diabetes Mellitus, Type 2/ or
Diabetes Mellitus/

[Ferramenta avaliada]

- 2 autonomic nervous system.mp. or Autonomic Nervous System/
- 3 sympathetic nervous system.mp. or Sympathetic Nervous System/
- 4 Parasympathetic Nervous System.mp. or Parasympathetic Nervous System/
- 5 Heart Rate.mp. or Heart Rate/
- 6 Heart Rate/ or Heart Rate Variability.mp.
- 7 cardiovascular system.mp. or Cardiovascular System/
- 8 Electrocardiography, Ambulatory/ or Electrocardiography/ or
electrocardiography.mp.
- 9 instrument.mp.
- 10 tool.mp. or "Tool Use Behavior"/

11 2 or 3 or 4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9 or 10

[Método de análise]

12 (Sensitivity and Specificity).mp. [mp=title, original title, abstract, mesh headings, heading words, keyword]

13 limit of detection.mp. or "Limit of Detection"/

14 roc curve.mp. or ROC Curve/

15 Predictive Value of Tests.mp. or "Predictive Value of Tests"/

16 Reproducibility of Results.mp. or "Reproducibility of Results"/

17 diagnostic evaluation.mp.

18 12 or 13 or 14 or 15 or 16 or 17

[Combinando resultados: Ferramenta avaliada + Método de análise]

19 11 and 18

[Combinação final]

20 1 and 19

Quadro 3: Estratégia de Busca Embase

[Condição alvo]

1. 'diabetes mellitus'/exp OR 'diabetes mellitus'
2. 'diabetes'/exp AND [humans]/lim AND [embase]/lim
3. #1 OR #2

[Ferramenta avaliada]

4. 'electrocardiography'/exp OR 'electrocardiography'
5. 'cardiovascular system'/exp OR 'cardiovascular system'
6. 'heart rate variability'/exp OR 'heart rate variability'
7. 'autonomic nervous system'/exp OR 'autonomic nervous system'
8. 'heart rate'/exp OR 'heart rate'

9. 'sympathetic nervous system'/exp OR 'sympathetic nervous system'
10. 'parasympathetic nervous system'/exp OR 'parasympathetic nervous system'
11. #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10

[Método de análise]

12. 'reproducibility of results'/exp OR 'reproducibility of results'
13. 'limit of detection'/exp OR 'limit of detection'
14. 'roc curve'/exp OR 'roc curve'
15. 'sensitivity and specificity'/exp OR 'sensitivity and specificity'
16. „Diagnostic evaluation'
17. 'predictive value of tests'/exp OR 'predictive value of tests'
18. #12 OR #13 OR #14 OR #15 OR #16 OR #17

[Combinando resultados: Ferramenta avaliada + Método de análise]

19. #11 AND #18

[Combinação final]

20. #3 AND #19

Quadro 4: Estratégia de Busca LILACS (Bireme)

[Condição alvo]

1. Diabetes Mellitus

[Ferramenta avaliada]

2. Electrocardiography
3. Cardiovascular System
4. Heart Rate Variability
5. Autonomic Nervous System
6. Heart Rate
7. Sympathetic Nervous System

8. Parasympathetic Nervous System

[Método de análise]

9. Reproducibility Of Results

10. Limit Of Detection

11. Roc Curve

12. Sensitivity And Specificity

13. Diagnostic Evaluation

14. Predictive Value Of Tests

[Combinação final: Condição alvo + Ferramenta avaliada + Método de análise]

15. 1 AND 2 AND 9/-14

16. 1 AND 3 AND 9/-14

17. 1 AND 4 AND 9/-14

18. 1 AND 5 AND 9/-14

19. 1 AND 6 AND 9/-14

20. 1 AND 7 AND 9/-14

21. 1 AND 8 AND 9/-14

Critérios de inclusão

Foram estipulados os seguintes critérios de inclusão para o desenvolvimento da pesquisa: a) ser um estudo de acurácia, investigando o poder de prognóstico e diagnóstico da variabilidade da frequência cardíaca b) avaliar a sensibilidade e especificidade utilizando a variabilidade da frequência cardíaca associada ou não a outro método; c) aplicado em indivíduos com diabetes mellitus sem restrição quanto à idade, gênero ou tipo de diabetes; d) incluídos independente da linguagem e ano de publicação.

Critério de exclusão

Como critérios de exclusão não foram selecionados: a) Editoriais, cartas ao editor, relatos de caso, estudos de revisão e anais de eventos e b) aqueles que não utilizaram a variabilidade da frequência cardíaca como ferramenta para análise de presença de diabetes e/ou neuropatia autonômica cardíaca.

Seleção dos estudos e avaliação da qualidade metodológica

Para esta revisão foram selecionados os títulos que abordassem como ideia principal: a variabilidade da frequência cardíaca, poder prognóstico dessa ferramenta, sensibilidade e especificidade dos índices da variabilidade da frequência cardíaca ou de métodos associados a mesma, acurácia diagnóstica e preditor de risco. Ao final da busca, foram excluídos os títulos repetidos, uma vez que esta foi realizada em diversas bases de dados e por dois revisores independentes.

Em seguida, foi feita a leitura detalhada dos resumos dos artigos a fim de selecionar aqueles que abordassem exclusivamente o poder prognóstico e diagnóstico da ferramenta variabilidade da frequência cardíaca, bem como os pontos de corte obtidos por meio da mesma. Excluídos os resumos que não versavam sobre o tema, os textos completos foram avaliados e os que não se engajavam no fator de exclusão foram incluídos como resultado final da busca. Além disso, todas as referências dos estudos selecionados foram revisadas a fim de complementar a pesquisa. Todas as etapas da busca foram realizadas por dois avaliadores independentes e na ocorrência de discordâncias um terceiro avaliador foi convidado para realizar as avaliações.

Os estudos selecionados também foram avaliados quanto a sua qualidade metodológica, por meio de uma escala de avaliação utilizada nos estudos

de acurácia diagnóstica, denominada *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (Quadas)²⁴ (Quadro 5) e adotada pela Biblioteca Cochrane. A ferramenta QUADAS, recentemente reformulada com base na experiência do uso da ferramenta original e em novas evidências sobre fontes de viés e variação nos estudos de acurácia diagnóstica, oferece recursos que avaliam a qualidade dos estudos por meio de 4 domínios: seleção dos pacientes, teste avaliado, teste de referência, fluxo e tempo. Cada domínio é avaliado em termos de risco de viés e os três primeiros (seleção dos pacientes, teste avaliado, teste de referência) estão relacionados à preocupação sobre a aplicabilidade do estudo (alto/baixo/incerto)²⁴.

Quadro 5: QUADAS-2 - *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies*

Domínio 1: Seleção de Pacientes

A. **Risco de viés:** Será que a seleção dos pacientes pode ter introduzido viés?

1. Foi uma amostra consecutiva ou aleatória de pacientes inscritos?
2. Foi um estudo de caso-controle evitado?
3. Será que o estudo evitou exclusões inadequadas?

B. **Aplicabilidade:** Há preocupações de que os pacientes incluídos não correspondem à pergunta da revisão?

Domínio 2: Teste Avaliado

A. **Risco de viés:** Será que a realização ou interpretação do teste avaliado pode ter introduzido viés?

1. Foram os resultados dos testes avaliados interpretados sem conhecimento dos resultados do teste de referência?
2. Se foi utilizado um limite, ele foi pré-especificado?

B. **Aplicabilidade:** Há preocupações de que o teste avaliado, a sua condução, ou sua interpretação, difere da pergunta da revisão?

Domínio 3: Teste de referência

A. **Risco de viés:** Será que o padrão de referência, o seu comportamento, ou sua interpretação pode ter introduzido viés?

1. O teste de referência é susceptível de classificar corretamente a condição de alvo?
2. Os resultados foram interpretados sem conhecimento dos resultados do teste avaliado?

B. **Aplicabilidade:** Há preocupações de que o resultado definido pelo padrão de referência não coincide com a pergunta da revisão?

Domínio 4: Fluxo e tempo

A. **Risco de viés:** Será que o fluxo de pacientes pode ter introduzido viés?

1. Houve um intervalo adequado entre o teste avaliado e o teste de referência?
2. Será que todos os pacientes receberam o mesmo padrão de referência?
3. Todos os pacientes foram incluídos na análise?

O instrumento QUADAS-2 não determina os escores de qualidade, cabe ao pesquisador decidir qual o ponto de corte usar²⁵. Portanto, foi determinado previamente à avaliação, que seriam considerados estudos com baixo risco de viés quanto à seleção de pacientes, aqueles que incluíram uma amostra aleatória ou consecutiva de diabéticos e/ou saudáveis, que não continham em sua amostra indivíduos com presença de diagnóstico diferencial ou comorbidades e que não excluíram indivíduos inadequadamente, por exemplo, aqueles que eram de difícil diagnóstico²⁴.

Já em relação ao teste avaliado, foram considerados com baixo risco de viés aqueles que avaliaram toda a amostra, seja ela controle ou diabética, utilizando a ferramenta VFC ou outro método associado à mesma, anteriormente à aplicação do teste de referência, não distinguindo assim os dois grupos. Quando avaliado o teste de referência, o risco de viés foi considerado baixo quando o mesmo já foi retratado na literatura como teste padrão e seus resultados interpretados sem conhecimento dos resultados do teste avaliado. Foram também considerados como risco incerto de viés aqueles trabalhos que deixaram dúvida em

relação ao método de referência utilizado, por exemplo, se a utilização do teste realmente poderia ser utilizada para esses fins e se é possível o diagnóstico com a sua utilização. Por fim, no domínio fluxo e tempo foi referido como baixo risco de viés os estudos no qual o pesquisador avaliou toda a amostra sem distinções de grupo utilizando os mesmos testes de referência e especificou o intervalo entre a aplicação de ambos os testes.

Extração dos dados

Foram extraídas dos resultados informações a respeito do tipo de diabetes dos voluntários, presença de neuropatia autonômica cardíaca, tamanho da amostra, ferramenta utilizada para avaliação da modulação autonômica e os índices avaliados pela mesma, e por fim valores de sensibilidade e especificidade.

Análise dos resultados

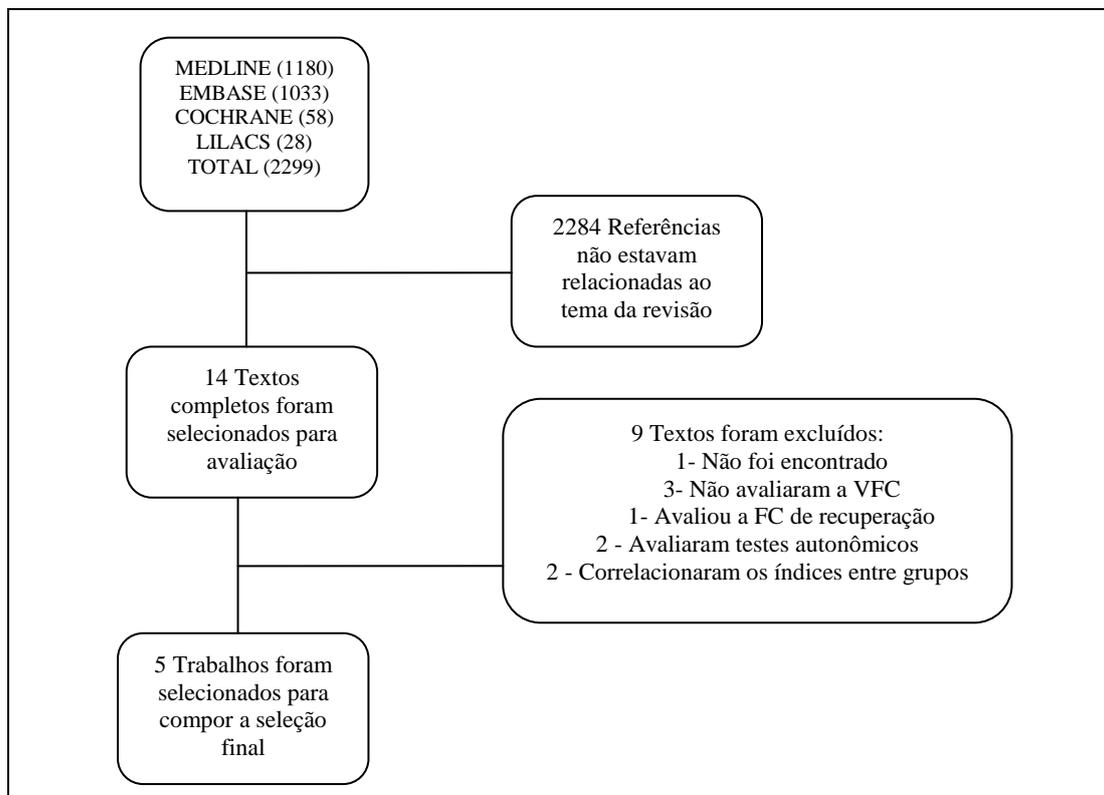
Os dados foram descritos de forma quantitativa e qualitativa e tabulados de acordo com os autores e ano do estudo, descrição da população (número amostral, tipo de diabetes e idade), variáveis estudadas (métodos utilizados para obtenção da série de intervalos RR e índices avaliados) e resultados obtidos (pontos de corte e valor de sensibilidade e especificidade). Além disso, foi avaliada também a qualidade metodológica dos estudos.

RESULTADOS

A busca eletrônica resultou em 2.299 referências, das quais 2.284 foram excluídas por não estarem relacionados ao tema proposto pela revisão. Após essa etapa 14 textos completos foram selecionados por se adequarem aos critérios

de inclusão pré-estabelecidos. Desses resumos foram selecionados cinco trabalhos para compor a seleção final desta revisão. Os trabalhos selecionados estavam na língua inglesa e disponibilizadas na íntegra. O processo de busca e seleção dos artigos estão descritos no quadro 6.

Quadro 6 – Diagrama de fluxo do processo de inclusão dos estudos.



A Tabela 1 mostra os principais resultados e conclusões dos estudos incluídos nesta atualização.

Tabela 1 – Estudos usando a VFC como ferramenta para diagnóstico em diabéticos.

Autor e Ano	Amostra	Análises	Índices	Sensibilidade	Especificidade	Conclusão
Takasae 1992 ²⁶	<u>Diabetes:</u> N = 25; DMT2; Com NAC (13) 58±11 anos; Sem NAC (12) 49±16 anos	ECG 24hs	Média do DP dos iRR (SDANN)	72%	92%	SDANN < 30 ms gerou melhor sensibilidade e especificidade para diabéticos com NAC
Ziegler 2001 ²⁷	<u>Diabetes:</u> N = 108; DMT1 (89); DMT2 (19); NAC (3 estágios), 45,3±1,4 anos <u>Controle:</u> N = 37, 41,1± 2,0 anos	Finapress 10 min	LF, HF	---	---	HF representa maior sensibilidade para detectar disfunção autonômica precoce a um valor de corte de 0,892.
Balcioglu 2007 ²⁸	<u>Diabetes:</u> N = 90; DMT2; Com NAC (35) 56±9 anos; NAC limítrofe (55) 56±9 anos	ECG 24 hs	SDNN, SDANN, RMSSD, índice triangular, TFC de início e TFC inclinação	97%	71%	Todos os índices estavam reduzidos em indivíduos com NAC. TFC de inclinação representa melhor sensibilidade e especificidade para a detecção de NAC a um valor de corte de 3,32.
Khandoker 2009 ²⁹	<u>Diabetes:</u> N = 17; DMT2; Com NAC (9) 52±12 anos; Sem NAC (8) 56±14 anos	ECG 20 min	SDNN, RMSSD, LFun, HFun, LF/HF, SD1, SD2, SD1/SD2 e SampEn	100%	75%,	SampEn e SD1/SD2 gerou melhor sensibilidade e especificidade para distinguir entre diabéticos com e sem NAC
Seyd 2012 ³⁰	<u>Diabetes:</u> N = 70; DMT2; NAC (?) <u>Controle:</u> N = 65 Idade variou de 40 a 72 anos para ambos os grupos	ECG 60 min	RMSSD, NN50, TINN, índice triangular, SDNN, PNN50, LF, HF, VLF	89,23%	96,92%	Treinamento da rede neural artificial utilizando como base índices da VFC tem uma boa sensibilidade e especificidade de para distinguir DM de saudáveis

Legenda: N = amostra; DMT2 = diabetes mellitus tipo 2; DMT1; diabetes mellitus tipo 1; NAC = neuropatia autonômica cardíaca; ECG = eletrocardiograma; SDANN = desvio padrão das médias dos intervalos RR normais, a cada 5 minutos, em um intervalo de tempo, expresso em ms; LF = componente de baixa frequência; HF = componente de alta frequência; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; TFC = turbulência da frequência cardíaca; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo; SampEn = entropia de amostra; NN50 = intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms; TINN = interpolação triangular dos intervalos RR; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; VLF = componentes de muito baixa frequência.

Os resultados obtidos a partir da análise da qualidade metodológica dos estudos relacionados nessa revisão estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação da qualidade metodológica dos estudos reunidos nessa revisão por meio dos critérios estabelecidos pela ferramenta QUADAS-2.

	Risco de viés				Preocupação quanto à aplicabilidade		
	<i>Seleção dos Pacientes</i>	<i>Teste Avaliado</i>	<i>Teste de Referência</i>	<i>Fluxo e Tempo</i>	<i>Seleção dos Pacientes</i>	<i>Teste Avaliado</i>	<i>Teste de Referência</i>
Takasae 1992 ⁽²⁶⁾	Alto	Alto	Alto	Incerto	Baixa	Baixa	Incerta
Ziegler 2001 ⁽²⁷⁾	Alto	Alto	Baixo	Incerto	Baixa	Baixa	Baixa
Balcioglu 2007 ⁽²⁸⁾	Alto	Alto	Baixo	Baixo	Baixa	Baixa	Baixa
Khandoker 2009 ⁽²⁹⁾	Alto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixa	Baixa	Baixa
Seyd 2012 ⁽³⁰⁾	Alto	Baixo	Alto	Incerto	Baixa	Baixa	Incerta

DISCUSSÃO

Em geral, os estudos apresentados nessa revisão²⁶⁻³⁰ apontam que a VFC é útil para discriminar NAC em diabéticos e que determinados índices (Entropia de Amostra, SD1/SD2, SDANN, HF e TFC de inclinação) possuem melhor poder discriminatório para detectar disfunções autonômicas, indicando que este método pode ser utilizado como marcador diagnóstico e prognóstico prático nessa população. Além disso, a utilização de índices de VFC como porta de entrada para uma rede neural artificial pode discriminar indivíduos diabéticos de saudáveis³⁰.

Dos cinco trabalhos relacionados nessa revisão, quatro²⁶⁻²⁹ avaliaram pacientes com NAC utilizando a VFC e observaram que houve redução do

comportamento autonômico em diabéticos com NAC, o que corrobora com outros estudos^{6,11,31}.

A presença de NAC nos estudos dessa revisão foi determinada por meio de testes autonômicos prévios²⁷⁻²⁹ e aplicação de questionários a respeito de sinais e sintomas²⁶. A avaliação prévia da presença de NAC possibilitou avaliar indivíduos que já apresentavam disfunção autonômica associada ao DM, e que foi confirmada utilizando a VFC, mostrando que essa ferramenta é eficaz e pode ser utilizada na prática clínica para detectar NAC. Já Seyd *et al.*³⁰ não relataram em seu trabalho se os indivíduos foram avaliados quanto a presença de NAC.

Testes de acurácia diagnóstica em relação à utilização da VFC, associada ou não a outros métodos, foram realizados em todos os trabalhos reunidos nessa revisão com objetivo de avaliar se ela poderia ser uma ferramenta sensível para auxiliar na discriminação de indivíduos com NAC daqueles sem NAC²⁶⁻²⁹ e se a partir dos índices da VFC seria possível realizar um diagnóstico de diabetes automatizado utilizando índices lineares como base para a elaboração de uma rede neural artificial³⁰.

Dos cinco trabalhos analisados, dois^{28,30} utilizaram outros métodos de avaliação associados a medidas de VFC e apontaram que o uso de uma rede neural artificial específica é sensível para diagnosticar o DM³⁰ e que a utilização de parâmetros de turbulência da frequência cardíaca podem ser utilizados com bom valor diagnóstico e prognóstico em indivíduos com DM para detectar NAC²⁸.

Takasae *et al.*²⁶ apontaram que valores de SDANN inferiores a 30 ms geraram melhor sensibilidade (72%) e especificidade (92%) do que valores inferiores a 20 ms (sensibilidade de 31% e especificidade de 100%) para detectar disfunção autonômica e eventos cardíacos em diabéticos com NAC, uma vez que o ponto de

corde de 30 ms foi usado sem uma perda significativa na sensibilidade. Os autores apontam ainda que valores de SDANN inferiores a 30ms também podem ser utilizados como referência para avaliar risco de morte em outras condições patológicas, como doença isquêmica cardíaca e insuficiência cardíaca congestiva.

Outro trabalho²⁹ apontou que a entropia de amostra e o *plot* de Poincaré (SD1/SD2) foram capazes de distinguir melhor os pacientes diabéticos com NAC daqueles sem NAC, com sensibilidade de 100% e especificidade de 75%. Os autores destacam que uma avaliação inicial sem a utilização de índices de VFC apontou que nove, dos dezessete pacientes diabéticos apresentavam sinais clínicos de NAC, entretanto quando esses indivíduos foram avaliados pela VFC mais três indivíduos foram identificados para presença de NAC, o que sugere que esses indivíduos poderiam estar nas fases iniciais da NAC onde testes autonômicos convencionais não foram eficazes para detectá-la. Os autores reforçam que a VFC pode ser utilizada com segurança na prática clínica para detectar NAC, mesmo em indivíduos sem sinais clínicos de neuropatia, por ter demonstrado ser um método de análise mais robusto, pois conseguiu identificar indivíduos com NAC sem sinais prévios dessa manifestação, potencializando a avaliação.

Já segundo Ziegler *et al.*²⁷, o índice HF representou maior sensibilidade para detectar disfunção autonômica precoce em diabéticos com NAC em uma fase que os testes de função autonômica não foram capazes. Isso pode ser explicado, pelo menos em parte, pelo fato do índice HF refletir o comportamento parassimpático do sistema nervoso autônomo¹ e este se apresentar alterado no DM^{7,32}.

Outra ferramenta utilizada para analisar o comportamento autonômico encontrada na busca bibliográfica foi a análise da turbulência da frequência cardíaca

(TFC)²⁸. Esse método indica a capacidade do coração em reagir a variações do ritmo cardíaco, como no caso de batimentos prematuros, refletindo um sinal de boa ou má adaptação do SNA³³.

Balcioglu *et al.*²⁸ observaram que tanto índices de VFC quanto a TFC se encontram reduzidos em indivíduos diabéticos com NAC comparado com aqueles sem NAC. Os autores apontaram ainda que a medida de TFC de inclinação, a qual indica a velocidade com que a FC volta ao normal (mediada pelo SNA parassimpático), foi o parâmetro que mais fortemente correlacionou-se com a duração do DM e gravidade da NAC, com boa sensibilidade (97%) e especificidade (71%) para a detecção de NAC a um valor de corte de 3,32 obtido por meio de curva ROC (Receiver Operating Characteristic).

Já Seyd *et al.*³⁰ apontaram que é possível distinguir indivíduos diabéticos de saudáveis, utilizando um tipo específico de rede neural artificial com base nos índices lineares da VFC com boa acurácia diagnóstica (89,23% de sensibilidade e 96,92% de especificidade).

As análises da VFC foram feitas a partir dos métodos lineares, utilizando índices no domínio do tempo e frequência, e índices geométricos, a exceção de Khandoker *et al.*²⁹ que utilizaram a entropia de amostra e o *plot* de Poincaré, considerados métodos não lineares^{34,35} para as análises. A maior utilização dos métodos lineares nos estudos apresentados nessa revisão pode estar relacionada a facilidade de seu uso e por serem os métodos mais estudados até o momento, contudo, quando métodos não lineares são adicionados a essas análises, temos um melhor poder discriminatório, reforçando que esses métodos podem ser mais sensíveis para detectar disfunções autonômicas^{9,11,36}.

Além da variedade de índices utilizados, os trabalhos ainda fizeram uso de diferentes métodos e tempos para analisar a variação dos intervalos RR. Alguns trabalhos usaram o eletrocardiograma (ECG), método conhecido como padrão ouro para análise da FC, com o tempo variando de 20 minutos^{29,30} a 24 hs^{26,27} de análise, enquanto que, apenas um²⁷ utilizou o equipamento Finapress, que grava a pressão arterial continuamente e por meio de um software extrai a série de intervalo RR, com o tempo de coleta de 10 minutos²⁷. Quanto ao número de batimentos avaliados apenas dois^{27,29}, dos cinco estudos relacionados, apontam em sua metodologia o número de batimentos utilizados para análise (1024 iRR e 1000 iRR).

A qualidade metodológica em relação ao risco de viés e preocupação quanto à aplicabilidade do estudo, também foi avaliada nessa revisão utilizando a ferramenta QUADAS-2²⁴. Dos cinco trabalhos avaliados, nenhum foi avaliado com baixo risco de viés para todos os domínios e três²⁶⁻²⁸ apresentaram risco alto de viés para o domínio “teste avaliado” e dois para o domínio “teste de referência”^{26,30}. Já a determinação de risco incerto foi atribuída a três estudos para o domínio “fluxo e tempo”^{26,27,30}. A preocupação quanto à aplicabilidade foi avaliada como baixa em todos os domínios, exceto para o domínio teste de referência que apresentou dois estudos classificados como risco incerto^{26,30}.

A determinação de risco alto de viés para o domínio “teste avaliado” em alguns estudos²⁶⁻²⁸ ocorreu devido a utilização da VFC e/ou TFC, apenas em indivíduos com NAC, não permitindo uma avaliação completa das ferramentas em todos os indivíduos da amostra. Para o domínio “teste de referência” um dos estudos²⁶ foi considerado como risco alto por ter determinado NAC por meio da presença de pelo menos um sintoma de neuropatia, contudo sabe-se que indivíduos

com NAC podem ser assintomáticos³⁷ o que pode ter produzido erro em indivíduos que ainda não apresentem tais manifestações clínicas. Outro estudo³⁰ foi classificado como alto nesse domínio por ter utilizado valores de glicemia como critério prévio de confirmação diagnóstica da presença da diabetes, mas sem especificar como esse teste foi realizado e o período de jejum dos indivíduos.

Por fim, o domínio “fluxo e tempo” foi considerado com risco incerto de viés para três estudos^{26,27,30} que não especificaram se houve intervalo entre a aplicação de ambos os testes e não utilizaram o teste de referência em toda a amostra, apenas nos diabéticos.

Em relação à preocupação quanto à aplicabilidade metodológica, dois estudos^{26,30} foram classificados como incerto (“teste de referência”), uma vez que informações importantes no resultado obtido do método de diagnóstico de diabetes estavam ausentes, o que impossibilitou esclarecimentos a respeito da classificação correta desses indivíduos.

A VFC é uma medida indireta da função autonômica, pois reflete influências sobre o nó sinusal¹. Em pacientes diabéticos, tem sido usado para reconhecer NAC incipiente e para determinar a gravidade da doença³⁸. A diminuição da VFC é o primeiro sinal de NAC, e é sugerida como um dos testes de diagnóstico em um comunicado da American Diabetes Association³⁹. A NAC é uma das mais importantes complicações em longo prazo do DM⁹ e sua detecção precoce é fundamental para que medidas preventivas sejam tomadas a fim de minimizar os seus efeitos negativos na qualidade de vida⁴⁰, eventos cardiovasculares⁴¹ e morte súbita⁴².

O uso da VFC para avaliar a modulação autonômica cardíaca já está bem documentado na literatura^{6,8,11,13}, porém poucos estudos têm avaliado a

utilidade dessa ferramenta em discriminar indivíduos patológicos que podem vir a apresentar complicações, como observado nessa revisão.

Esta revisão apresenta alguns pontos fortes que devem ser descritos. O primeiro é a busca de estudos que tenham avaliado a VFC como método discriminatório em DM, o que permitiu conhecer o que existe na literatura a respeito desse tema. O segundo ponto está relacionado aos métodos de análise utilizados nos estudos, pois sabendo que existem diversos índices da VFC que traduzem a atuação do SNA, não era possível saber antes dessa revisão se todos os índices disponíveis poderiam ser úteis para diagnosticar com boa acurácia o DM ou a presença de NAC nesses indivíduos. E, finalmente, foi avaliada a qualidade metodológica dos estudos, o que trouxe como resposta que alguns domínios avaliados como alto/incerto risco de viés devem ser revistos nos próximos estudos a respeito desse tema, já que essa ferramenta tem sido cada vez mais utilizada em pesquisa para essa ou outras populações.

Embora esta revisão apresente pontos fortes significativos, limitações também ocorreram. Nós reunimos todos os trabalhos que utilizaram a VFC independente do tipo de DM, entretanto houve predomínio de estudos com DM tipo 2, portanto não podemos afirmar que os resultados apresentados nessa revisão podem ser utilizado como referência para todos os tipos de DM existentes. Além disso, não podemos afirmar também que os índices apontados como mais sensíveis e específicos podem ser utilizados como referência para todas as faixas etárias, uma vez que a maioria das amostras foi composta de sujeitos com mais de 40 anos de idade.

A elaboração desta revisão permite que clínicos e pesquisadores possam incluir em seus métodos diagnósticos a VFC como ferramenta capaz de

identificar, com boa sensibilidade e especificidade, a presença de alterações autonômicas em indivíduos com DM, utilizando-a como critério adicional e/ou complementar aos testes autonômicos convencionais.

CONCLUSÃO

Esta revisão abordou trabalhos que utilizaram a VFC como ferramenta para avaliação diagnóstica em indivíduos com DM. Os resultados apontam que indivíduos que possuem DM apresentam redução da VFC e perda da complexidade, e que índices não lineares como Entropia de Amostra e SD1/SD2 extraído do *plot* de Poincaré, e os índices lineares SDANN, HF, e a TFC de inclinação expressam melhor poder discriminatório para determinar disfunção autonômica do que os demais índices apresentados nessa revisão. Além disso, apesar de alguns estudos terem apresentado alto risco de viés em alguns domínios, existirem diferenças metodológicas e de índices utilizados, o uso dessa ferramenta pode ser utilizado com eficácia no prognóstico e diagnóstico prático de indivíduos com DM.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro para este estudo (Número do Processo: 2013/19055-0).

REFERENCIAS

1. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2009;24(2):205-17
2. Larosa C, Sgueglia GA, Sestito A, Infusino F, Niccoli G, Lamendola P, et al. Predictors of impaired heart rate variability and clinical outcome in patients with

- acute myocardial infarction treated by primary angioplasty. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2008;9(1):76-80.
3. Pavithran P, Mithun R, Jomal M, Nandeesh H. Heart rate variability in middle-aged men with new-onset hypertension. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2008;13(3):242-8.
 4. Godoy M, Tanakamura I, Correa P. Relevância da análise do comportamento dinâmico não-linear (Teoria do Caos) como elemento prognóstico de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. *Arq Ciênc Saúde*2005;12(4):167-71.
 5. Sin DD, Wong E, Mayers I, Lien DC, Feeny D, Cheung H, et al. Effects of nocturnal noninvasive mechanical ventilation on heart rate variability patients with advanced COPD. *Chest*. 2007;131(1):156-63.
 6. Guzik P, Piskorski J, Contreras P, Migliaro ER. Asymmetrical properties of heart rate variability in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010;20(4):255-7.
 7. Jaiswal M, Urbina EM, Wadwa RP, Talton JW, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, et al. Reduced heart rate variability among youth with type 1 diabetes: the Search CVD study. *Diabetes Care*. 2013;36(1):157-62.
 8. Kardelen F, Akçurin G, Ertuğ H, Akcurin S, Bircan I. Heart rate variability and circadian variations in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*. 2006;7(1):45-50.
 9. Khatoon N, Kumar BS, Abdul M. Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Patients With Diabetes Mellitus. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2010;1(3):1-7.
 10. Pumplra J, Howorka K, Groves D, Chester M, Nolan J. Functional assessment of heart rate variability: Physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol*. 2002; 84(1):1–14.
 11. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Javorkova J, Javorka K, Baumert M. Short-term heart rate complexity is reduced in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(5):1071-81.
 12. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Lazarova Z, Javorkova J, Javorka K. Recurrences in heart rate dynamics are changed in patients with diabetes mellitus. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2008;28(5):326-31.
 13. Javorka M, Javorková J, Tonhajzerová I, Calkovska A, Javorka K. Heart rate variability in young patients with diabetes mellitus and healthy subjects explored by Poincaré and sequence plots. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(2):119-27.
 14. Chessa M, Butera G, Lanza GA, Bossone E, Delogu A, De Rosa G, et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children. *Herz*. 2002;27(8):785-90.

15. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, Prineas RJ, Evans GW, Rosamond WD, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care*. 2005;28(3):668-74.
16. Carvalho TD, Pastre CM, Rossi RC, Abreu LC, Valenti VE, Vanderlei LCM. Índices geométricos de variabilidade da frequência cardíaca na doença pulmonar obstrutiva crônica. *Rev Port Pneumol*. 2011;17(6):260-5.
17. Vanderlei LCM, Pastre CM, Júnior IF, de Godoy MF. Fractal correlation of heart rate variability in obese children. *Auton Neurosci*. 2010;155(1-2):125-9.
18. Corrêa PR, Catai AM, Takakura IT, Machado MN, Godoy MF. Variabilidade da Frequência Cardíaca e Infecções Pulmonares Pós Revascularização Miocárdica. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(4):448-56.
19. Pivatelli FC, Santos MA, Fernandes GB, Gatti M, Abreu LC, Valenti VE, et al. Sensitivity, specificity and predictive values of linear and nonlinear indices of heart rate variability in stable angina patients. *Int Arch Med*. 2012;5(1):2-6.
20. Spallone V, Ziegler D, Freeman R, Bernardi L, Frontoni S, Pop-Busui R, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(7):639-53.
21. Pagani M. Heart rate variability and autonomic diabetic neuropathy. *Diabetes Nutr Metab*. 2000;13(6):341-6.
22. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care*. 1985;8(5):491-8.
23. Ewing DJ, Campbell IW, Murray A, Neilson JM, Clarke BF. Immediate heart-rate response to standing: simple test for autonomic neuropathy in diabetes. *Br Med J*. 1978;1:145-7.
24. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med*. 2011;155(8):529-36.
25. Oliveira MR, Gomes Ade C, Toscano CM. QUADAS and STARD: evaluating the quality of diagnostic accuracy studies. *Rev Saúde Pública*. 2011;45(2):416-22.
26. Takase B, Kurita A, Noritake M, Uehata A, Maruyama T, Nagayoshi H, et al. Heart rate variability in patients with diabetes mellitus, ischemic heart disease, and congestive heart failure. *J Electrocardiol*. 1992;25(2):79-88.
27. Ziegler D, Laude D, Akila F, Elghozi JL. Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Clin Auton Res*. 2001;11(6):369-76.
28. Balçioğlu S, Arslan U, Türkoğlu S, Özdemir M, Cengel A. Heart rate variability and heart rate turbulence in patients with type 2 diabetes mellitus with versus without cardiac autonomic neuropathy. *Am J Cardiol*. 2007;100(5):890-3.

29. Khandoker AH, Jelinek HF, Palaniswami M. Identifying diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy by heart rate complexity analysis. *Biomed Eng Online*. 2009;8(3):1-12.
30. PT AS, Joseph PK, Jacob J. Automated Diagnosis of Diabetes Using Heart Rate Variability Signals. *J Med Syst*. 2012;36(3):1935-41.
31. Schönauer M, Thomas A, Morbach S, Niebauer J, Schönauer U, Thiele H. Cardiac autonomic diabetic neuropathy. *Diab Vasc Dis Res*. 2008;5(4):336-44.
32. Javorka M, Javorkova J, Tonhajzerova I, Javorka K. Parasympathetic versus sympathetic control of the cardiovascular system in young patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(5):270-4.
33. Stein PK, Barzilay JI. Relationship of abnormal heart rate turbulence and elevated CRP to cardiac mortality in low, intermediate, and high-risk older adults. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22(2):122-7.
34. Richman JS, Moorman JR. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278(6):H2039-49.
35. Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Do existing measures of Poincaré plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Trans Biomed Eng*. 2001;48(11):1342-7.
36. Voss A, Schroeder R, Truebner S, Goernig M, Figulla HR, Schirdewan A. Comparison of nonlinear methods symbolic dynamics, detrended fluctuation, and Poincaré plot analysis in risk stratification in patients with dilated cardiomyopathy. *Chaos*. 2007; 17 (1): 015120.
37. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014
38. Verrier RL, Antzelevitch C. Autonomic aspects of arrhythmogenesis: the enduring and the new. *Curr Opin Cardiol*. 2004;19(1):2-11.
39. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-62.
40. Zochodne DW. Diabetes mellitus and the peripheral nervous system: manifestations and mechanisms. *Muscle Nerve*. 2007;36(2):144-66.
41. Schmid H. Impacto Cardiovascular da Neuropatia Autonômica do Diabetes Mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2007;51(2):232-43.
42. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy. *Circulation*. 2007;115(3):387-97.

Artigo 2

**SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE E VALOR PREDITIVO DOS ÍNDICES DA
VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA
NO DIABETES *MELLITUS* TIPO 1**

Anne Kastelianne França da Silva¹ e Luiz Carlos Marques Vanderlei²

¹Discente do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

²Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

Endereço para correspondência:

Faculdade de Ciências e Tecnologia UNESP – Universidade Estadual Paulista.
Programa de Pós Graduação em Fisioterapia.

A/C Luiz Carlos Marques Vanderlei

Endereço: Avenida Roberto Simonsen, 305.

CEP: 19060-900. Presidente Prudente – São Paulo – Brasil

Telefone: (18) 3229 - 5819

e-mail:anne_franca@hotmail.com

RESUMO

INTRODUÇÃO: Alguns índices da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) permitem detectar alterações autonômicas com alto valor diagnóstico e prognóstico. Indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 1 (DM tipo 1) podem apresentar alterações na modulação autonômica, contudo, estudos dessa natureza são incipientes nesses indivíduos. **OBJETIVO:** Comparar os índices da VFC e avaliar o valor prognóstico destes índices por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos em jovens com DM tipo 1 e saudáveis. **MÉTODOS:** Foram analisados dados de 39 jovens com DM tipo 1 (19 homens; 21,00(5,00) anos) e 43 jovens saudáveis (21 homens; 21,00(7,00) anos), os quais tiveram seus parâmetros cardiovasculares, composição corporal, nível de atividade física e glicemia casual mensurados. Para análise da VFC, a frequência cardíaca foi captada batimento a batimento por meio de um cardiofrequencímetro Polar S810i por 30 minutos com os voluntários em decúbito dorsal. Foram calculados os índices: SDNN, RMSSD, PNN50, TINN, RRtri, LF ms², HF ms², LF un, HF un, LF/HF, SD1, SD2, SD1/SD2, ApEn. As comparações das variáveis entre os grupos foram realizadas pelo teste t independente (dados paramétricos) ou teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos). A definição dos pontos de corte para os índices da VFC foi obtida pela curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) e a área sob a curva foi considerada significativa quando valores $\geq 0,65$ foram obtidos. Todos os resultados foram discutidos no nível de 5% de significância. **RESULTADOS:** Indivíduos com DM tipo 1 apresentam redução na atividade simpática (LF ms²), parassimpática (RMSSD, PNN50, HF ms² e SD1) e na variabilidade global (SDNN, RRtri e SD2) do SNA. Índices RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRtri, SD1 e SD2 representam melhor acurácia diagnóstica (ROC= 0,74-0,80) para discriminar indivíduos diabéticos de saudáveis. **CONCLUSÃO:** Indivíduos com DM tipo 1 apresentam alterações na modulação autonômica e os índices SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 podem ser utilizados para discriminar indivíduos com DM tipo 1.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 1, Sistema Nervoso Autônomo e Sensibilidade e Especificidade.

INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) tipo 1, caracterizado como uma doença auto-imune resultante da destruição das células betapancreáticas, com consequente deficiência de insulina^{1,2}, está aumentando mundialmente e ocorrendo em indivíduos cada vez mais jovens³. Estima-se que 15 mil crianças são diagnosticadas anualmente com DM tipo 1 e 3.700 com DM tipo 2⁴.

Indivíduos com DM tipo 1 podem apresentar comprometimentos no sistema nervoso autônomo (SNA), os quais podem ser identificados por meio da avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC)^{5,6}, um método simples e não invasivo que descreve as oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), as quais estão relacionadas às influências do SNA sobre o nódulo sinusal⁷.

Em indivíduos com DM tipo 1 as análises por meio da VFC têm apontado que existe uma redução da variabilidade global nesses indivíduos em comparação com aqueles saudáveis para diversas faixas etárias⁸⁻¹¹. Além disso, perda no componente parassimpático com aumento simpático¹² e redução da magnitude e complexidade dos mecanismos de controle da frequência cardíaca nesses indivíduos^{13,14} também tem sido relatado.

Apesar da sua utilização para avaliar e identificar alterações autonômicas, o uso da VFC na prática clínica ainda é incipiente, apesar de muitos trabalhos demonstrarem a eficácia dessa ferramenta para esses fins em diferentes populações¹⁵⁻¹⁷. Neste contexto, estudos têm apontado que alguns índices da VFC permitem detectar alterações autonômicas com grande sensibilidade e podem descrever alterações do ritmo cardíaco com alto valor diagnóstico e prognóstico^{15,17}.

Pivatelli et al.¹⁷ observaram que os índices HFms², RMSSD, NN50 e a entropia aproximada possuem melhor poder discriminatório para identificar a presença de obstrução coronária significativa em pacientes com angina estável submetidos a angiografia coronária. Já Côrrea et al.¹⁶ apontaram que os índices DFA total, entropia aproximada e expoente de Lyapunov foram mais sensíveis e específicos para diferenciar casos de pós-operatório de cirurgia de revascularização do miocárdio que evoluíram com infecção pulmonar.

Em adultos de meia idade com DM tipo 2, Khandoker *et al.*¹⁵ observaram que os índices SD1, extraído do plot de Poincaré, e a SampEn (entropia de amostra) podem identificar a presença de comprometimento autonômico cardíaco com melhor acurácia diagnóstica e apontaram que a VFC pode ser um marcador diagnóstico e prognóstico prático nessa população.

Em indivíduos com DM tipo 1 estudos dessa natureza são incipientes, uma vez que a maioria dos trabalhos com essa população se limita a comparar indivíduos com e sem a patologia. Para os profissionais que trabalham com esses pacientes, informações dessa natureza permitirão, além do acréscimo de informações sobre a temática descrita, a determinação dos índices de VFC que oferecem melhor poder diagnóstico e prognóstico desses indivíduos. Essas informações poderão contribuir para melhores condições de estratificação de risco desses pacientes, conscientização para elaboração de programas preventivos e novas estratégias de tratamento para esses pacientes.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi comparar os índices da VFC e avaliar o valor prognóstico destes índices por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos em jovens com DM tipo 1 e saudáveis. Hipotetizamos, que alterações no comportamento autonômico de jovens com DM tipo 1 possam ser

identificadas quando analisadas pela VFC, e que os índices que traduzem a ação do SNA parassimpático possam ser mais sensíveis para determinar alterações autonômicas, indicando que essa ferramenta é útil e eficaz como marcador diagnóstico e prognóstico prático nessa população.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Casuística

Para a realização deste estudo foram recrutados 88 voluntários, com idade entre 18 a 30 anos, de ambos os sexos, os quais foram alocados em dois grupos: Grupo DM tipo 1, composto por 43 jovens com diagnóstico de DM tipo 1 (20 homens e 23 mulheres; média de idade de $21,82 \pm 5,07$ anos; tempo de diagnóstico de $11,20 \pm 6,01$ anos) e Grupo Controle, composto por 45 jovens saudáveis (21 homens e 24 mulheres; média de idade $21,35 \pm 2,82$ anos).

Foram incluídos no estudo jovens que possuíam as seguintes condições:

1) Diagnóstico clínico de DM tipo 1, confirmado por exame sanguíneo e diagnóstico médico (para o Grupo DM tipo 1); 2) Não faziam uso de medicamentos que influenciassem a modulação autonômica; 3) Não possuíam doenças cardiorrespiratórias; 4) Não eram tabagistas e/ou alcoólatras. Foram excluídos voluntários que apresentaram séries temporais de intervalos RR com menos de 95% de batimentos sinusais¹⁸.

Todos os indivíduos foram esclarecidos a respeito dos objetivos e procedimentos desse estudo e, após concordarem com sua participação, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, passando a fazer parte efetivamente do estudo. Todos os procedimentos do estudo foram aprovados pelo Comitê de

Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Campus de Presidente Prudente (CAAE: 22530813.9.0000.5402/Parecer: 417.031) e obedeceu à resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012.

Métodos

Coleta de Dados

A coleta de dados foi realizada em uma sala com temperatura entre 21°C e 23° C e umidade entre 40 e 60%, no período da tarde, entre 13 e 18h para minimizar as influências do ritmo circadiano¹⁹. Para realização das avaliações, que foi realizada de forma individual, os voluntários foram orientados a não ingerirem bebidas alcoólicas e/ou estimulantes do sistema nervoso autônomo como café, chá e achocolatados nas 24 horas precedentes à avaliação.

Todos os voluntários foram submetidos a um protocolo de avaliação constituído por identificação, avaliação física e avaliação autonômica. Inicialmente os voluntários foram identificados coletando-se as seguintes informações: idade, gênero, tempo de diagnóstico (para os diabéticos) e uso de terapia medicamentosa. Após a identificação foram realizadas as avaliações físicas e clínicas que incluíram: avaliação dos parâmetros cardiovasculares, avaliação da composição corporal e a determinação do nível de atividade física e da glicemia casual. Após esses procedimentos foi realizada a avaliação autonômica e, após essa avaliação, o voluntário foi liberado.

Avaliações dos Parâmetros Cardiovasculares

A verificação da pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) foi realizada de forma indireta, com a utilização de estetoscópio

(Littman, Saint Paul, USA) e esfigmomanômetro aneroide (Welch Allyn - Tycos, New York, USA) no braço esquerdo, com o indivíduo na posição sentada, utilizando os critérios estabelecidos pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial²⁰. O valor da frequência cardíaca (FC) foi determinado por meio do cardiofrequencímetro Polar S810i (Polar Eletro, Kampele, Finland).

Composição Corporal

Para avaliação da composição corporal, foi realizado inicialmente, mensurações do peso, altura, circunferência da cintura, circunferência do quadril e, posteriormente, foi obtido o percentual de gordura por meio da bioimpedância.

Para determinação do peso e da altura os voluntários estavam com roupas leves (calça e camisa) e descalços. A mensuração do peso corporal foi feita por meio de uma balança digital (Welmy R/I 200, Brasil) e a altura por meio de estadiômetro (Sanny, Brasil), estando o voluntário em posição ortostática, os pés mantidos paralelos com o peso do corpo distribuído de maneira uniforme entre eles e de costas durante a medida. A partir dos dados obtidos, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) = $\text{peso}/\text{altura}^2$ (kg/m^2) conforme as Diretrizes Brasileiras de Obesidade²¹.

As medidas da circunferência da cintura (menor perímetro abdominal situado entre a última costela e a crista ilíaca superior) e da circunferência do quadril (maior porção glútea na altura do trocânter maior) foram obtidas com o auxílio de uma fita métrica inelástica (Sanny, Brasil), com os voluntários em posição ortostática e braços abduzidos. A partir dos valores obtidos foi calculada a relação cintura/quadril (RCQ)²².

O percentual de gordura corporal foi determinado por meio do equipamento de Bioimpedância Maltron BF 906 Body Fat Analyser (Maltron, Reino Unido) com o indivíduo na posição supina, sobre uma superfície não condutora, sem contato com metal, membros inferiores abduzidos a 45° e membros superiores abduzidos a 30° para evitar contato dos membros com o tronco.

Para análise foram posicionados eletrodos com uma distância mínima de 5 cm entre eles após limpeza com álcool dos seguintes locais: um eletrodo na base do terceiro dedo e outro pouco acima da articulação do punho, próximo ao processo estilóide da mão direita, bem como um da base do terceiro dedo do pé direito e pouco acima da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral²³.

Nível de Atividade Física

A investigação do nível de atividade física foi determinada por meio da aplicação do International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), versão curta²⁴. Esse questionário é composto por questões que investigam a atividade física realizada em uma semana normal e é subdividido em quatro diferentes domínios: atividades físicas como meio de transporte, atividades no trabalho, em casa, e lazer. O IPAQ permite classificar os indivíduos em muito ativos, ativos, insuficientemente ativos e sedentários.

Glicemia Casual

A glicemia casual foi realizada por meio do exame de punção da polpa digital, onde a amostra obtida foi depositada em uma fita reagente One touch ultra (Johnson & Johnson Medical, Brasil) e analisada por meio do glicosímetro One touch

ultra (Johnson & Johnson Medical, Brasil). Os voluntários não foram restritos quanto sua alimentação e período de jejum.

Avaliação Autonômica

Para avaliação autonômica, após as orientações iniciais, foi posicionada uma cinta de captação no tórax dos voluntários na região do terço distal do esterno, e no punho o receptor de frequência cardíaca Polar S810i (Polar Electro, Finlândia), equipamento previamente validado para captação da frequência cardíaca batimento a batimento e para utilização dos seus dados para análise da VFC^{25,26}. Após a colocação da cinta e do monitor, os voluntários foram posicionados em decúbito dorsal em uma maca onde permaneceram em repouso por 30 minutos. Os voluntários foram orientados a manterem-se em repouso, acordados, em respiração espontânea, evitando conversas durante a coleta. Após a coleta da modulação autonômica os voluntários foram liberados.

Para análise dos índices de VFC a frequência cardíaca foi registrada batimento a batimento durante todo o protocolo experimental. Do período de maior estabilidade do sinal foram selecionados 1000 intervalos RR consecutivos após filtragem digital pelo *software Polar Precision Performance SW* (versão 4.01.029) complementada por manual, para eliminação de batimentos ectópicos prematuros e artefatos, e somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo¹⁸. Por meio da análise visual das séries temporais foi observada a ausência de artefatos ou batimentos ectópicos que pudessem interferir na análise da VFC.

Para a análise da VFC foram utilizados índices lineares nos domínios do tempo e da frequência, índices geométricos e índices não lineares.

A análise da VFC no domínio do tempo⁷ foi realizada por meio dos índices SDNN (desvio-padrão da média dos intervalos RR normais), RMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos RR normais adjacentes) e PNN50 (porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms). Já para análise da VFC no domínio da frequência⁷ foram utilizados os componentes espectrais de baixa frequência (LF: 0,04 – 0,15 Hz) e alta frequência (HF: 0,15 – 0,40 Hz), em ms² e em unidades normalizada, assim como a razão entre esses componentes (LF/HF). A análise espectral foi calculada usando o algoritmo da Transformada Rápida de Fourier.

Os índices geométricos triangular e TINN, foram calculados a partir da construção do histograma de densidade dos iRR normais, o qual mostra no eixo horizontal todos os possíveis valores dos iRR e no eixo vertical a frequência com que cada um deles ocorreu. A união dos pontos dessas colunas do histograma forma uma figura semelhante a um triângulo, do qual foram extraídos esses índices. Os valores de ambos os índices expressam a condição global do SNA²⁷.

Os índices não lineares utilizados foram o plot de Poincaré e entropia aproximada (ApEn). O plot de Poincaré é uma representação gráfica de uma série temporal e permite que cada intervalo RR seja representado em função do intervalo anterior definindo um ponto no plot²⁸. Para análise do plot foram calculados os seguintes índices: SD1 (desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento), SD2 (desvio-padrão a longo prazo dos intervalos R-R contínuos) e a relação SD1/SD2⁷. A ApEn descreve a complexidade do intervalo RR. É uma medida que quantifica a regularidade e a probabilidade logarítmica de que os padrões de séries temporais permaneçam semelhantes uns aos outros após nova

comparação adicional. Quanto maior for o seu valor, maior é a complexidade da série RR²⁹.

Todos os índices avaliados foram calculados pelo *software HRV analysis* – versão 2.0³⁰ (Kubios, Biosignal Analysis and Medical Image Group, Department of Physics, University of Kuopio, Finland).

Análise dos dados

Para comparação das características e dos índices da VFC entre os grupos, inicialmente foi determinada a normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro-Wilk. As comparações das variáveis entre o grupo de sujeitos com diabetes tipo 1 e o grupo de pessoas sem a doença foram realizadas pelos teste t independente (dados paramétricos) ou pelo teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos). Os dados que se enquadraram no modelo Gaussiano de distribuição (altura, frequência cardíaca, relação cintura quadril, percentual de gordura, RMSSD, TINN, LFun, HFun, SD1 e ApEn) foram expressos em média e desvio padrão e os dados que não tiveram sua normalidade detectada (idade, peso, índice de massa corporal, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, glicemia e atividade física semanal SDNN, pNN50, RRTri, LFms², HFms², relação LF/HF, SD2 e relação SD1/SD2), foram apresentados em mediana e intervalo interquartil.

A definição dos pontos de corte, para os índices da VFC foi obtida pela curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC). Também foram registrados a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo para ocorrência de eventos. A área sob a curva foi considerada significativa quando valores $\geq 0,650$ foram obtidos¹⁷.

Todos os resultados foram discutidos no nível de 5% de significância. A análise dos dados foi realizada por meio do *Statistical Package for the Social Sciences* – versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e *MedCalc Software bvba* – versão 14.10.2 (Oostende, Bélgica)

RESULTADOS

Para realização desse estudo foram analisados dados de 88 voluntários, dos quais 43 eram DM tipo 1 e 45 saudáveis. Deste total de voluntários foram excluídos 6 voluntários que apresentaram erro na série de intervalos RR superiores a 5%. Sendo assim, a amostra final foi composta por 39 jovens com DM tipo 1 (19 homens e 20 mulheres) e de 43 jovens saudáveis (21 homens e 22 mulheres).

Na tabela 1, estão apresentadas as características gerais dos grupos controle e diabéticos. Maiores valores para as variáveis: massa corporal, IMC, FC, glicemia casual e % de gordura foram encontradas no grupo DM tipo 1 ($p < 0,05$). Todos os voluntários com DM tipo 1 são insulino dependentes e 15 (38,46%) tomam outros medicamentos além da insulina. Desses, cinco (12,82%) fazem uso de medicamentos para controle da pressão arterial, oito (20,51%) para distúrbios da tireoide, três (7,69%) para controle do colesterol, cinco (12,82%) utilizam anticoncepcional e oito (20,51%) para causas diversas, como rinite, polineuropatia diabética, neuropatia periférica e epilepsia.

Inserir Tabela 1

A tabela 2 representa os valores dos índices lineares e não lineares da VFC para ambos os grupos. Observaram-se valores significativamente menores no grupo DM tipo 1 em comparação com o grupo controle para os índices: SDNN, RMSSD, PNN50, RRTri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2.

Inserir Tabela 2

A tabela 3 apresenta os valores de sensibilidade, especificidade, curva ROC, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo dos índices da VFC analisados nesse estudo. Nota-se que os índices RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRTri, SD1 e SD2 foram os índices que apresentaram melhor acurácia diagnóstica, com valores de curva ROC maiores que 0,65.

Inserir Tabelas 3

A tabela 4 apresenta os valores de sensibilidade, especificidade, curva ROC e ponto de corte para os índices da VFC que apresentaram valor de curva ROC > 0,65.

Inserir Tabela 4

DISCUSSÃO

Os resultados apontam que indivíduos com DM tipo 1 apresentam alterações da VFC, caracterizadas por redução tanto da atividade simpática quanto

parassimpática e na variabilidade global, e que os índices RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRtri, SD1 e SD2 representam melhor acurácia diagnóstica para discriminar indivíduos diabéticos de saudáveis.

Indivíduos com DM tipo 1 apresentaram maior massa corporal, acompanhado de maior IMC, FC, glicemia casual e percentual de gordura em comparação a indivíduos saudáveis. Já as variáveis, idade, estatura, C/Q, PAS, PAD e AF semanal foram iguais para ambos os grupos. Resultados similares foram encontrados no estudo de Javorka *et al.*³¹ para as variáveis idade, IMC, PAS e PAD e no estudo de Jaiswal *et al.*¹² para as variáveis FC e AF.

A partir dos resultados obtidos com os índices da VFC foi possível observar que existem reduções nas atividades simpática (LF ms²) e parassimpática do SNA (RMSSD, PNN50, HF ms² e SD1) e na variabilidade global (SDNN, RRtri e SD2), no grupo com DM tipo 1 quando comparado com o grupo controle

Resultados similares também foram encontrado no estudo de Javorka *et al.*⁹, que avaliaram 17 indivíduos com DM tipo 1 (22,4 ± 1,0 anos) e observaram redução dos índices SDNN, RMSSD, PNN50, LF ms² e HF ms² nesses indivíduos e em Jaiswal *et al.*¹², que avaliaram 354 jovens com DM tipo 1 (18,8 ± 3,3 anos) e também observaram redução dos índices SDNN, RMSSD, HF un, LF un e na relação LF/HF nesses indivíduos em comparação ao controle.

Em função da redução tanto da atividade simpática quanto parassimpática as relações SD1/SD2 e LF/HF e os índices LF e HF em unidades normalizadas não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

Alterações nos índices de VFC são um indicativo de adaptação anormal e insuficiente do SNA⁷, condição que aumenta o risco de morte súbita por arritmias cardíacas e está associada à elevação das taxas de mortalidade por outras

causas³², indicando que a disfunção autonômica cardíaca em pacientes já em risco, como no DM, pode ser especialmente perigosa³³. A diminuição da VFC é o primeiro sinal de neuropatia autonômica, e é sugerida como um dos testes de diagnóstico em um comunicado da American Diabetes Association⁶.

Estudos apontam que alguns índices da VFC possuem acurácia diagnóstica em determinadas populações¹⁵⁻¹⁷. Em nosso estudo, observamos que os índices RMSSD, SDNN, PNN50, LF ms², HF ms², RRtri, SD1 e SD2 apresentaram melhor sensibilidade e especificidade para discriminar disfunção autonômica em indivíduos com DM tipo 1 em comparação a indivíduos sem a doença. Os índices que apresentaram melhor poder discriminatório foram também aqueles que apresentaram valores significativamente menores no grupo DM tipo 1 em comparação com o grupo controle.

Estes índices estão relacionados à análise do comportamento parassimpático (RMSSD, PNN50, HF ms² e SD1), simpático (LF ms²) e global da VFC (SDNN, RRtri e SD2)⁷ e sugerem que a discriminação de pacientes com DM tipo 1 pode estar relacionada a redução da modulação autonômica global, simpática e vagal do coração.

Poucos são os estudos que avaliam o poder diagnóstico da VFC em indivíduos com DM tipo 1. Ziegler *et al.*³⁴ apontaram em seu trabalho que o índice HF apresentou maior sensibilidade para detectar disfunção autonômica precoce em diabéticos tipo 1 e tipo 2 já classificados em três estágios de neuropatia autonômica cardíaca. Já Kandoker *et al.*¹⁵ observaram que em diabéticos tipo 2, a SampEn e que a relação SD1/SD2 obtida pelo *plot* de Poincaré foram os índices capazes de distinguir melhor os pacientes diabéticos com neuropatia autonômica cardíaca, com sensibilidade de 100% e especificidade de 75%.

Ainda, Takasae *et al.*³⁵ apontaram que valores de SDANN inferiores a 30ms geraram melhor sensibilidade (72%) e especificidade (92%) do que valores inferiores a 20ms (sensibilidade de 31% e especificidade de 100%) para detectar disfunção autonômica e eventos cardíacos em diabéticos tipo 2 com neuropatia autonômica cardíaca.

Contudo, esses estudos avaliaram apenas indivíduos com neuropatia autonômica cardíaca instalada^{34,35}, a exceção de Khandoker *et al.*¹⁵, que avaliaram todos os indivíduos diabéticos, independente do diagnóstico de neuropatia. Em nosso estudo a análise de acurácia diagnóstica da VFC foi realizada em ambos os grupos (controle e diabético) ao mesmo tempo, com a preocupação de avaliar o real poder diagnóstico da ferramenta, o que não foi realizado nos estudos acima citados.

A validade de um teste refere-se a sua capacidade em diagnosticar ou prever um evento e as medidas de sensibilidade e especificidade fornecem a probabilidade de que um teste discrimine corretamente um indivíduo doente de um sadio³⁶. Em nosso estudo dos 14 índices testados, 8 apresentaram melhor sensibilidade e especificidade para discriminar indivíduos com DM tipo 1 daqueles sem a patologia.

A análise da VFC é rápida de ser executada, segura e não invasiva, o que possibilita um acompanhamento na prática clínica da condição do SNA, o que é fundamental para reduzir e intervir em possíveis complicações e minimizar eventos cardiovasculares³², morte súbita³⁷ e perda da qualidade de vida³⁸ a que essa população está sujeita.

Como limitação do estudo, podemos apontar o seu caráter transversal, que nos impossibilitou acompanhar o comportamento autonômico por um período maior, para saber se as alterações observadas estavam no seu estágio inicial ou

não. Ainda, o tempo de diagnóstico foi diferente entre os diabéticos e esses indivíduos apresentaram maior média do IMC e % gordura em comparação ao grupo controle, o que pode ter influenciado os resultados. Estudos longitudinais com essa população com o objetivo de identificar se os índices aqui descritos com melhor poder discriminatório se mantêm ao longo do tempo como um bom indicador prognóstico são perspectivas de estudos futuros.

Os resultados permitem concluir que indivíduos com DM Tipo 1 apresentam alterações autonômicas caracterizadas por redução tanto da atividade simpática quanto parassimpática e na variabilidade global e que os índices SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 apresentaram melhor acurácia diagnóstica para discriminar indivíduos com DM Tipo 1, com acurácia variando de 0,74 a 0,80.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro para este estudo (Número do Processo: 2013/19055-0).

REFERENCIAS

1. Organization WH. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. 1999
2. Diabetes Mellitus. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2013-2014.
3. Fradkin JE, Rodgers GP. Diabetes Research: A Perspective From the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Diabetes Journals. 2013;62:320-6.

4. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011.
5. Malpas SC, Maling TJB. Heart-rate variability and cardiac autonomic function in diabetes. *Diabetes*. 1990;39(10):1177-81.
6. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-62.
7. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009;24(2):205-17.
8. Guzik P, Piskorski J, Contreras P, Migliaro ER. Asymmetrical properties of heart rate variability in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010;20(4):255-7.
9. Javorka M, Javorková J, Tonhajzerová I, Calkovska A, Javorka K. Heart rate variability in young patients with diabetes mellitus and healthy subjects explored by Poincaré and sequence plots. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(2):119-27.
10. Chessa M, Butera G, Lanza GA, Bossone E, Delogu A, De Rosa G, et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children. *Herz*. 2002;27(8):785-90.
11. Kardelen F, Akçurin G, Ertuğ H, Akcurin S, Bircan I. Heart rate variability and circadian variations in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*. 2006;7(1):45-50.
12. Jaiswal M, Urbina EM, Wadwa RP, Talton JW, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, et al. Reduced heart rate variability among youth with type 1 diabetes: the Search CVD study. *Diabetes Care*. 2013;36(1):157-62.
13. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Javorkova J, Javorka K, Baumert M. Short-term heart rate complexity is reduced in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(5):1071-81.
14. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Lazarova Z, Javorkova J, Javorka K. Recurrences in heart rate dynamics are changed in patients with diabetes mellitus. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2008;28(5):326-31.
15. Khandoker AH, Jelinek HF, Palaniswami M. Identifying diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy by heart rate complexity analysis. *Biomed Eng Online*. 2009;8(3)-12.

16. Corrêa PR, Catai AM, Takakura IT, Machado MN, Godoy MF. Variabilidade da Frequência Cardíaca e Infecções Pulmonares Pós Revascularização Miocárdica. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(4):448-56.
17. Pivatelli FC, Santos MA, Fernandes GB, Gatti M, Abreu LC, Valenti VE, et al. Sensitivity, specificity and predictive values of linear and nonlinear indices of heart rate variability in stable angina patients. *Int Arch Med.* 2012;5(1):2-6.
18. Godoy M, Tanakamura I, Correa P. Relevância da análise do comportamento dinâmico não-linear (Teoria do Caos) como elemento prognóstico de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. *Arq Ciênc Saúde*2005;12(4):167-71.
19. Ewing DJ, Neilson JM, Shapiro CM, Stewart JA, Reid W. Twenty four hour heart rate variability: effects of posture, sleep, and time of day in healthy controls and comparison with bedside tests of autonomic function in diabetic patients. *Br Heart J.* 1991;65(5):239-44.
20. Diretriz. VI Diretriz de Hipertensão Arterial. 2010.
21. Associação Brasileira para o estudo da obesidade e síndrome metabólica. III Diretrizes Brasileira de Obesidade. 2009/2010.
22. World Health Organization (WHO). Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation. 2011.p.39
23. Lukaski H. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr.* 1987;46(4):537-56.
24. Matsudo S, Timoteo A, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ):Estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev Bras Ativ Fís Saúde.* 2001;6(2):05-18.
25. Gamelin F, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the Polar S810 Heart Rate Monitor to Measure R-R Intervals at Rest. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 2006;38(5):887-93.
26. Vanderlei LC, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(10):854-9.
27. Vanderlei L, Pastre C, Júnior IF, Godoy M. Índices Geométricos de Variabilidade da Frequência Cardíaca em Crianças Obesas e Eutróficas. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(1):35-40.
28. Vanderlei L, Pastre C, Júnior IF, Godoy M. Índices Geométricos de Variabilidade da Frequência Cardíaca em Crianças Obesas e Eutróficas. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(1):35-40.

29. Pincus S. Approximate entropy (ApEn) as a complexity measure. *Chaos*. 1995;5(1):110–7.
30. Niskanen JP, Tarvainen MP, Ranta-aho PO, Karjalainen PA. Software for advanced HRV analysis. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 2004; 76:73-81.
31. Javorka M, Javorkova J, Tonhajzerova I, Javorka K. Parasympathetic versus sympathetic control of the cardiovascular system in young patients with type 1 diabetes Mellitus. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(5):270–4.
32. Schmid H. Impacto Cardiovascular da Neuropatia Autonômica do Diabetes Mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2007;51(2):232-43.
33. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, Prineas RJ, Evans GW, Rosamond WD, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care*. 2005;28(3):668-74.
34. Ziegler D, Laude D, Akila F, Elghozi JL. Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Clin Auton Res*. 2001;11(6):369-76.
35. Takase B, Kurita A, Noritake M, Uehata A, Maruyama T, Nagayoshi H, et al. Heart rate variability in patients with diabetes mellitus, ischemic heart disease, and congestive heart failure. *J Electrocardiol*. 1992;25(2):79-88.
36. Martinez EZ, Louzada-Neto F, Pereira BB. A curva ROC para testes diagnósticos. *Cad Saúde Colet*. 2003;11(1):7-31.
37. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy. *Circulation*. 2007;115(3):387-97.
38. Zochodne DW. Diabetes mellitus and the peripheral nervous system: manifestations and mechanisms. *Muscle Nerve*. 2007;36(2):144-66.

Tabela 1 – Características dos grupos controle e diabéticos.

Variáveis	Controle (43)	DMT1 (39)	p-valor
Idade^b (anos)	21,00 (5,00)	21,00 (7,00)	0,534
Massa corporal^b (kg)	60,30 (22,80)	68,15 (22,90)	0,013
Estatura^a (m)	1,69 (0,09)	1,73 (0,17)	0,461
IMC^b (Kg/m²)	22,19 (4,67)	24,19 (5,84)	0,011
Relação C/Q^a (cm)	0,77 (0,06)	0,80 (0,10)	0,102
PAS^b (mmHg)	110,00 (20,00)	110,00 (10,00)	0,757
PAD^b (mmHg)	70,00 (10,00)	60,00 (10,00)	0,620
FC^a (bpm)	70,76 (10,04)	80,00 (16,00)	0,000
Glicemia casual^b (mg/dl)	93,00 (20,00)	162,00 (168,00)	0,000
Gordura Corporal^a (%)	21,86 (7,58)	26,00 (9,60)	0,044
AF semanal^b (minutos)	320,00 (440,00)	280,00 (510,00)	0,943
Tempo de Diagnóstico^a	---	11,71 (5,99)	---

^amédia (desvio padrão); ^bmediana (intervalo interquartil). **Legenda:** DMT1 = diabetes *mellitus* tipo 1; IMC = índice de massa corpórea; C/Q = cintura/quadril; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; FC = frequência cardíaca; AF = atividade física.

Tabela 2 – Valore dos índices de VFC dos grupos controle e diabéticos.

Índice	Controle (n=43)	DMT1 (n=39)	p-valor
SDNN ^b	64,50 (36,20)	37,30 (29,90)	0,000
RMSSD ^a	55,59 (21,60)	32,73 (17,43)	0,000
PNN50 ^b	36,40 (35,40)	8,70 (25,00)	0,000
TINN ^a	220,81 (85,36)	191,25 (76,14)	0,101
RRTri ^b	(15,87 (7,59)	10,63 (7,61)	0,000
LF ms² ^b	1203,00 (1148,00)	402,00 (531,00)	0,000
HF ms² ^b	963,00 (866,00)	386,00 (583,00)	0,000
LF un ^a	49,76 (16,72)	54,54 (14,83)	0,174
HF un ^a	50,23 (16,72)	45,45 (14,84)	0,174
LF/HF ^b	0,97 (1,05)	1,13 (0,82)	0,305
SD1 ^a	39,01 (15,43)	23,16 (12,33)	0,000
SD2 ^b	81,60 (43,30)	47,00 (34,00)	0,000
SD1/SD2 ^b	0,41 (0,18)	0,40 (0,16)	0,212
ApEn ^a	1,46 (0,10)	1,44 (0,11)	0,338

^amédia (desvio padrão); ^bmediana (intervalo interquartil). **Legenda:** DMT1 = diabetes *mellitus* tipo 1; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; TINN = interpolação triangular dos intervalos RR; RRTri = índice triangular; LF = componente de baixa frequência; HF = componente de alta frequência; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo; ApEn = Entropia aproximada.

Tabela 3 – Sensibilidade, Especificidade, Curva ROC, valor preditivo positivo e negativo para os índices da VFC.

Índices	SEN	ESP	ROC	VPP	VPN
RMSSD	0,66 [0,49 – 0,80]	0,81 [0,66 – 0,91]	0,79 [0,69 – 0,87]	0,76 [0,58 – 0,89]	0,72 [0,58 – 0,84]
SDNN	0,57 [0,40 – 0,73]	0,88 [0,74 – 0,96]	0,80 [0,70 – 0,88]	0,81 [0,61 – 0,93]	0,70 [0,56 – 0,82]
PNN50	0,71 [0,55-0,85]	0,72 [0,56-0,84]	0,77 [0,66-0,85]	0,70 [0,53-0,83]	0,73 [0,58-0,83]
LF (ms²)	0,79 [0,63 – 0,90]	0,69 [0,53 – 0,82]	0,75 [0,64 – 0,84]	0,70 [0,54 – 0,83]	0,75 [0,59 – 0,87]
HF (ms²)	0,82 [0,66 – 0,92]	0,55 [0,39 – 0,70]	0,74 [0,63 – 0,83]	0,62 [0,47 – 0,76]	0,77 [0,58 – 0,90]
LF/HF (ms)	0,84 [0,69 – 0,94]	0,32 [0,19 – 0,48]	0,56 [0,45 – 0,67]	0,53 [0,40 – 0,66]	0,70 [0,45 – 0,88]
LF nu	0,84 [0,69 – 0,94]	0,32 [0,19 – 0,48]	0,56 [0,45 – 0,67]	0,53 [0,40 – 0,66]	0,70 [0,45 – 0,88]
HF nu	0,84 [0,69 – 0,94]	0,32 [0,19 – 0,48]	0,56 [0,45 – 0,67]	0,53 [0,40 – 0,66]	0,70 [0,45 – 0,88]
TINN	0,53 [0,37 – 0,69]	0,79 [0,64 – 0,90]	0,63 [0,52 – 0,74]	0,70 [0,50 – 0,85]	0,65 [0,50 – 0,78]
RRTri	0,69 [0,52 – 0,83]	0,76 [0,61 – 0,88]	0,76 [0,65 – 0,85]	0,73 [0,55 – 0,86]	0,73 [0,58 – 0,85]
SD1	0,66 [0,49 – 0,80]	0,79 [0,64 – 0,90]	0,78 [0,68 – 0,87]	0,74 [0,56 – 0,87]	0,72 [0,57 – 0,84]
SD2	0,61 [0,44 – 0,76]	0,88 [0,74 – 0,96]	0,80 [0,70 – 0,88]	0,82 [0,64 – 0,94]	0,71 [0,57 – 0,83]
SD1/SD2	0,46 [0,30 – 0,62]	0,76 [0,61 – 0,88]	0,58 [0,46 – 0,68]	0,64 [0,44 – 0,81]	0,61 [0,46 – 0,74]
ApEn	0,35 [0,21 – 0,52]	0,86 [0,72 – 0,94]	0,56 [0,44 – 0,67]	0,70 [0,45 – 0,88]	0,59 [0,46 – 0,71]

Legenda: SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; TINN = interpolação triangular dos intervalos RR; RRTri = índice triangular; LF = componente de baixa frequência; HF = componente de alta frequência; SD1

= desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo; ApEn = Entropia aproximada.

Tabela 4 – Sensibilidade, Especificidade, Curva ROC e ponto de corte para os índices de VFC com curva ROC > 0,65.

ÍNDICES	SEN	ESP	ROC	Ponto de Corte
RMSSD	0,66 [0,49 – 0,80]	0,81 [0,66 – 0,91]	0,79 [0,69 – 0,87]	37,00
SDNN	0,57 [0,40 – 0,73]	0,88 [0,74 – 0,96]	0,80 [0,70 – 0,88]	41,90
PNN50	0,71 [0,55-0,85]	0,72 [0,56-0,84]	0,77 [0,66-0,85]	18,50
LF (ms²)	0,79 [0,63 – 0,90]	0,69 [0,53 – 0,82]	0,75 [0,64 – 0,84]	711,00
HF (ms²)	0,82 [0,66 – 0,92]	0,55 [0,39 – 0,70]	0,74 [0,63 – 0,83]	826,00
RRTri	0,69 [0,52 – 0,83]	0,76 [0,61 – 0,88]	0,76 [0,65 – 0,85]	12,66
SD1	0,66 [0,49 – 0,80]	0,79 [0,64 – 0,90]	0,78 [0,68 – 0,87]	26,20
SD2	0,61 [0,44 – 0,76]	0,88 [0,74 – 0,96]	0,80 [0,70 – 0,88]	55,60

Legenda: RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; LF = componente de baixa frequência; HF = componente de alta frequência; RRTri = índice triangular; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo.

Artigo 3

**ASSOCIAÇÃO DA MODULAÇÃO AUTÔNOMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA
COM CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CLÍNICAS DE
JOVENS DIABÉTICOS TIPO 1**

Anne Kastelianne França da Silva¹ e Luiz Carlos Marques Vanderlei²

¹Discente do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

²Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente – SP.

Endereço para correspondência:

Faculdade de Ciências e Tecnologia UNESP – Universidade Estadual Paulista.

Programa de Pós Graduação em Fisioterapia.

A/C Luiz Carlos Marques Vanderlei

Endereço: Avenida Roberto Simonsen, 305.

CEP: 19060-900. Presidente Prudente – São Paulo – Brasil

Telefone: (18) 3229 – 5819

e-mail:anne_franca@hotmail.com

RESUMO

INTRODUÇÃO: O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM tipo1), pode estar sujeito a diversas complicações, dentre elas as alterações na modulação autonômica. Vários fatores podem estar relacionados com essas alterações em indivíduos com DM, contudo poucos estudos abordam essa influência no DM tipo 1. **OBJETIVO:** Avaliar a existência de associações entre índices de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e níveis de atividade física, composição corporal, parâmetros metabólicos e cardiovasculares em indivíduos com DM tipo 1. **MÉTODOS:** Foram analisados dados de 39 jovens com DM tipo 1 (19 homens), os quais tiveram seus parâmetros cardiovasculares, composição corporal, nível de atividade física e glicemia casual mensurados. Para análise da VFC, a frequência cardíaca foi captada batimento a batimento por meio de um cardiófrequencímetro Polar S810i por 30 minutos com os voluntários em decúbito dorsal. Foram calculados os índices: SDNN, RMSSD, PNN50, HF ms², HF un, SD1 e SD2. A associação entre os índices da VFC e as variáveis independentes foi verificada por meio da Regressão Linear no modelo não ajustado e ajustado (considerando o sexo e a idade dos sujeitos). A significância estatística adotada foi fixada em 5% e o intervalo de confiança em 95%. **RESULTADOS:** Em jovens com DM tipo 1, valores elevados de Frequência Cardíaca de Repouso (FCR) estão associados a redução da atividade parassimpática (RMSSD, HF ms², PNN50, SD1) e global da VFC (SDNN e SD2) e que maiores valores na relação cintura quadril (RCQ) estão relacionadas a menor atividade parassimpática (HF un) independente da idade e sexo. Para as variáveis, Pressão Arterial Sistólica e Diastólica, Índice de Massa corpórea, Gordura Corporal, Glicemia Casual e Nível de Atividade Física, não apresentaram associação significativa com os índices da VFC avaliados sem ou com os ajustes realizados. **CONCLUSÃO:** Em jovens com DM tipo 1, incrementos nos valores de FCR estão associados à redução da atividade parassimpática e global da VFC e maiores valores na RCQ estão relacionadas a menor atividade parassimpática, independente da idade e sexo.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 1, Sistema Nervoso Autônomo e Fatores de Risco.

INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 , uma doença auto-imune resultante da destruição de células betapancreáticas e consequente deficiência de insulina que favorece a um quadro de hiperglicemia crônica¹, têm aumentado sua incidência em todo mundo ² ocorrendo em indivíduos cada vez mais jovens³.

Indivíduos com DM tipo 1 podem apresentar complicações decorrentes de alterações micro e macro vasculares que levam à disfunção e insuficiência em diferentes órgãos¹. A incidência de complicações no DM tipo1 está diretamente relacionada ao controle glicêmico⁴ e é favorecida pela presença de fatores de risco cardiovasculares, tais como sedentarismo, tabagismo, obesidade, hipertensão e hiperdislipidemia⁵.

Dentre as complicações induzidas pelo DM Tipo 1 destaca-se a neuropatia autonômica cardíaca (NAC), que está presente em 25% dos indivíduos com DM tipo1⁶ e intimamente relacionada ao aumento na taxa de mortalidade nesses indivíduos, por estarem mais propensos a arritmias fatais devido a ação parassimpática reduzida ou aumento da atividade simpática⁷. Essa forma de neuropatia é resultado de danos às fibras nervosas autonômicas que inervam o coração e os vasos sanguíneos provocando anormalidades no controle da frequência cardíaca e dinâmica cardiovascular, levando a uma resposta cardíaca mais lenta e a valores fixos de frequência cardíaca ao passo que a gravidade da disfunção aumenta⁸. A variabilidade da frequência cardíaca (VFC), um método simples e não invasivo que descreve as oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), as quais estão relacionadas às influências do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o nódulo sinusal⁹, tem sido recomendada

pela American Diabetes Association¹⁰ para avaliar a presença de alterações autonômicas no DM.

Indivíduos com DM tipo1 apresentam redução global da VFC quando comparados com indivíduos saudáveis para diversas faixas etárias¹¹⁻¹⁴. Redução de ambos os componentes autonômicos^{14,15} ou perda no componente parassimpático com aumento simpático¹⁶ observadas por meio de índices de VFC foram também relatados no DM tipo1.

Ao associar fatores de risco cardiovasculares com índices lineares de VFC em pacientes diabéticos tipo 1 Jaiswall *et al*¹⁶ observaram que idade mais avançada, sexo feminino, níveis de colesterol LDL e triglicérides elevados foram associados à redução da VFC. Redução da VFC foi também observada em indivíduos com DM tipo1 que apresentaram pressão arterial e índice de massa corporal elevados e baixo nível de atividade física¹⁷.

Estudos apontam ainda que em indivíduos com glicemia alterada e em diabéticos existe redução no componente parassimpático^{18,19} e que em diabéticos tipo 2 variáveis como pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) de repouso estão associadas à redução da VFC²⁰.

Como descrito acima, vários fatores podem estar relacionados às alterações na modulação autonômica de indivíduos com DM, contudo poucos estudos abordam a influência desses fatores no DM tipo 1. Estudos dessa natureza são importantes, pois permitirão identificar possíveis características físicas e clínicas que possam influenciar na dinâmica do SNA nesses indivíduos e, dessa forma, contribuir para melhores condições de estratificação de risco desses pacientes, conscientização para elaboração de programas preventivos e novas estratégias de tratamento para esses indivíduos.

Portanto, esse estudo teve por objetivo avaliar a existência de associações entre índices de VFC e níveis de atividade física, composição corporal, parâmetros metabólicos e cardiovasculares em indivíduos com DM tipo 1. Hipotetizamos que em indivíduos com DM tipo 1 exista associações entre características clínicas e físicas e índices da VFC, como por exemplo valores elevados de frequência cardíaca de repouso e menor atividade parassimpática, e que essas associações possam estar relacionadas com o surgimento de complicações.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Casuística

Este é um estudo de caráter transversal e para a sua realização foram recrutados 43 indivíduos jovens, com idade entre 18 e 30 anos, de ambos os sexos (20 homens e 23 mulheres; média de idade de $21,82 \pm 5,07$ anos), com diagnóstico clínico de DM tipo 1 (tempo de diagnóstico de $11,20 \pm 6,01$ anos).

Foram incluídos nesse estudo aqueles que apresentaram as seguintes condições: 1) Diagnóstico clínico de DM tipo 1, confirmado por exame sanguíneo e diagnóstico médico; 2) Não faziam uso de medicamentos que influenciem a modulação autonômica; 3) Não possuíam doenças cardiorrespiratórias; 4) Não eram tabagistas e/ou alcoólatras. Foram excluídos voluntários que apresentaram séries temporais de intervalos RR com menos de 95% de batimentos sinusais²¹.

Todos os indivíduos foram esclarecidos a respeito dos objetivos e procedimentos desse estudo e, após concordarem com sua participação, foram orientados a assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido, passando a

fazer parte efetivamente do estudo. Todos os procedimentos do estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Campus de Presidente Prudente (CAAE: 22530813.9.0000.5402\Parecer:417.031) e obedeceu à resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012.

Métodos

Coletas de Dados

A coleta de dados foi realizada em uma sala com temperatura entre 21°C e 23° C e umidade entre 40 e 60%, no período da tarde, entre 13 e 18h para minimizar as influências do ritmo circadiano²². Para realização das avaliações, que foi realizada de forma individual, os voluntários foram orientados a não ingerirem bebidas alcoólicas, e/ou estimulantes do sistema nervoso autônomo como café, chá e achocolatados nas 24 horas precedentes à avaliação.

Para coleta de dados, inicialmente os voluntários foram identificados coletando-se informações como idade, gênero, tempo de diagnóstico e uso de terapia medicamentosa. Posteriormente foram realizadas avaliações físicas, clínicas e autonômica, cujos procedimentos estão descritos abaixo. Após esses procedimentos o voluntário foi liberado.

Avaliações Físicas e Clínicas

Nesta etapa os voluntários foram avaliados quanto aos seus parâmetros cardiovasculares, composição corporal, nível de atividade física e glicemia pós-prandial.

Parâmetros Cardiovasculares

-Pressão arterial

A verificação da pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) foi realizada de forma indireta, com a utilização de estetoscópio (Littman, Saint Paul, USA) e esfigmomanômetro aneroide (Welch Allyn - Tycos, New York, USA) no braço esquerdo, com o indivíduo na posição sentada, utilizando os critérios estabelecidos pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial²³.

-Frequência cardíaca

Os voluntários foram orientados a permanecerem em repouso durante cinco minutos, na posição sentada e após esse período foi anotado o valor da frequência cardíaca (FC) captada por meio do cardiofrequencímetro Polar S810i (Polar Eletro, Kampele, Finland).

Composição Corporal

Para avaliação da composição corporal, foi realizado inicialmente, mensurações do peso, altura, circunferência da cintura, circunferência do quadril e, posteriormente, foi obtido o percentual de gordura por meio da bioimpedância.

Para análise antropométrica os voluntários foram orientados a descalçarem os sapatos, permanecendo com roupas leves (calça e camisa). A medida da altura foi realizada, por meio de estadiômetro (Sanny, Brasil), em posição ortostática, os pés mantidos paralelos com o peso do corpo distribuído de maneira uniforme entre eles e permanecendo de costas durante a medida. Para a mensuração do peso corporal, foi utilizada a balança digital (Welmy R/I 200, Brasil). A partir dos dados obtidos, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) = peso/altura^2 (kg/m²) conforme as Diretrizes Brasileiras de Obesidade²⁴.

As medidas da circunferência da cintura (menor perímetro abdominal situado entre a última costela e a crista ilíaca superior) e da circunferência do quadril (maior porção glútea na altura do trocânter maior) foram obtidas com o auxílio de uma fita métrica inelástica (Sanny, Brasil), com os voluntários em posição ortostática e braços abduzidos. A partir dos valores obtidos foi calculada a relação cintura/quadril (RCQ)²⁵.

Ainda, foi obtido o percentual de gordura corporal por meio do equipamento de Bioimpedância Maltron BF 906 Body Fat Analyser (Maltron, Reino Unido) com o indivíduo na posição supina, sobre uma superfície não condutora, sem contato com metal, membros inferiores abduzidos a 45° e membros superiores abduzidos a 30° para evitar contato dos membros com o tronco.

Para análise foram posicionados eletrodos com uma distância mínima de 5 cm entre eles após limpeza dos seguintes locais com álcool: um eletrodo na base do terceiro dedo e outro pouco acima da articulação do punho, próximo ao processo estilóide da mão direita, bem como um da base do terceiro dedo do pé direito e pouco acima da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral²⁶.

Nível de Atividade Física

A investigação do nível de atividade física foi determinada por meio da aplicação do International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), versão curta²⁷. Esse questionário é composto por questões que investigam a atividade física realizada em uma semana normal e é subdividido em quatro diferentes domínios: atividades físicas como meio de transporte, atividades no trabalho, em casa, e lazer.

O IPAQ permite classificar os indivíduos em muito ativos, ativos, insuficientemente ativos e sedentários.

Glicemia Casual

A glicemia pós-prandial foi realizada por meio do exame de punção da polpa digital, onde a amostra obtida foi depositada em uma fita reagente One touch ultra (Johnson&Johnson Medical, Brasil) e analisada por meio do glicosímetro One touch ultra (Johnson&Johnson Medical, Brasil). Os voluntários não foram restritos quanto sua alimentação e período de jejum.

Avaliação autonômica

Para avaliação autonômica, após as orientações iniciais, foi posicionada uma cinta de captação no tórax dos voluntários, na região do terço distal do esterno, e no punho, o receptor de frequência cardíaca Polar S810i (Polar Electro, Finlândia), equipamento previamente validado para captação da frequência cardíaca batimento a batimento e a utilização dos seus dados para análise da VFC^{28,29}. Após a colocação da cinta e do monitor, os voluntários foram posicionados em decúbito dorsal onde permaneceram em repouso por 30 minutos. Os voluntários foram orientados a manterem-se em repouso, acordados, em respiração espontânea, evitando conversas durante a coleta. Após a coleta da modulação autonômica os voluntários foram liberados.

Para análise dos índices de VFC a frequência cardíaca foi registrada batimento a batimento durante todo o protocolo experimental. Do período de maior estabilidade do sinal foram selecionados 1000 intervalos RR consecutivos após filtragem digital pelo *software Polar Precision Performance SW* (versão 4.01.029)

complementada por manual, para eliminação de batimentos ectópicos prematuros e artefatos e somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo²¹.

Para a análise da VFC foram utilizados índices lineares nos domínios do tempo e da frequência e índices não lineares⁹. A análise da VFC no domínio do tempo foi realizada por meio dos índices SDNN (desvio-padrão da média dos intervalos RR normais), RMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos RR normais adjacentes) e PNN50 (porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms). Já para análise da VFC no domínio da frequência foram utilizados os componentes espectrais de alta frequência (HF: 0,15 – 0,40 Hz), em ms^2 e em unidades normalizada. A análise espectral foi calculada usando o algoritmo da Transformada Rápida de Fourier.

Os índices não lineares utilizados foram extraídos do plot de Poincaré, uma representação gráfica de uma série temporal onde cada intervalo RR é representado em função do intervalo posterior definindo um ponto no plot³⁰. Para análise do plot foram calculados os índices SD1 (desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento) e SD2 (desvio-padrão a longo prazo dos intervalos R-R contínuos)⁹.

Todos os índices avaliados foram calculados pelo *software* HRV *analysis* – versão 2.0⁽⁵¹⁾ (Kubios, Biosignal Analysis and Medical Image Group, Department of Physics, University of Kuopio, Finland).

Análise dos dados

A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Komogorov-Sminorv. As variáveis que se enquadraram no modelo Gaussiano de distribuição foram apresentadas em média e desvio padrão. As variáveis não paramétricas foram mostradas em mediana e intervalo interquartil.

A associação entre os índices da variabilidade da frequência cardíaca e as variáveis independentes (frequência cardíaca de repouso, pressão arterial sistólica e diastólica, percentual de gordura corporal, IMC, RCQ, glicemia casual e prática de atividade física) foi verificada por meio da Regressão Linear no modelo não ajustado e ajustado (considerando o sexo e a idade dos sujeitos). A significância estatística adotada foi fixada em 5% e o intervalo de confiança em 95%. O programa utilizado nas análises foi o SPSS versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

RESULTADOS

Para realização desse estudo foram analisados dados de 43 voluntários com DM Tipo 1. Deste total, foram excluídos 4 voluntários que apresentaram erro na série de intervalos RR superiores a 5%. Sendo assim, a amostra final foi composta por 39 jovens com DM Tipo 1 (19 homens e 20 mulheres; $p = 0,384$).

Na tabela 1, estão apresentadas as características gerais desses voluntários. Dentre eles, três apresentaram obesidade (dois obesidade grau II e um obesidade grau III) e o tempo de diagnostico variou entre 3 e 26 anos. Além disso, todos são insulino dependentes e 15 (38,46%) tomam outros medicamentos além da insulina. Desses, cinco (12,82%) fazem uso de medicamentos para controle da pressão arterial, oito (20,51%) para distúrbios da tireoide, três (7,69%) para controle do colesterol, cinco (12,82%) utilizam anticoncepcional e oito (20,51%) para causas diversas, como rinite, polineuropatia diabética, neuropatia periférica e epilepsia.

Inserir Tabela 1

A tabela 2 apresenta a associação dos índices da VFC com as variáveis frequência cardíaca de repouso, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica com e sem ajuste pelo sexo e idade dos sujeitos com Diabetes Mellitus tipo 1. Pode-se observar que independente da idade e do sexo a variável frequência cardíaca de repouso apresentou associação significativa com os índices SDNN, RMSSD, HF ms², PNN50, SD1 e SD2.

Inserir Tabela 2

Na tabela 3 encontra-se a associação dos índices da VFC com as variáveis: gordura corporal, índice de massa corpórea e relação cintura quadril dos voluntários analisados com e sem ajuste pelo sexo e idade. Nota-se que a variável relação cintura quadril foi a única que se associou com a VFC e apenas para o índice HF un, independente do ajuste pelo sexo e idade.

Inserir Tabelas 3

A tabela 4 apresenta a associação dos índices da VFC com as variáveis: glicemia casual e atividade física com e sem ajuste pelo sexo e idade. Não foram observadas associações significativas entre as variáveis e os índices avaliados mesmo após todos os ajustes realizados.

Inserir Tabela 4

DISCUSSÃO

Nossos resultados apontam que em jovens com DM tipo 1, valores elevados de Frequência Cardíaca de Repouso (FCR) estão associados a redução da atividade parassimpática (RMSSD, HF ms², PNN50, SD1) e global da VFC (SDNN e SD2) e que maiores valores na relação cintura quadril (RCQ) estão relacionadas a menor atividade parassimpática (HF un) independente da idade e sexo. Já as variáveis, Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Índice de Massa corpórea (IMC), Gordura Corporal, Glicemia Casual e Nível de Atividade Física, não apresentaram associação significativa com os índices da VFC avaliados sem ou com os ajustes realizados.

Os resultados desse estudo apontam que em indivíduos jovens com DM Tipo 1, independente de idade e sexo, a FCR está associada à atividade parassimpática (RMSSD, HF ms², PNN50, SD1) e a variabilidade global (SDNN e SD2), ou seja, quanto maior a FCR menor a atividade parassimpática e a variabilidade global do SNA. Pelo nosso conhecimento esse é o primeiro estudo a apontar essa associação nesses indivíduos.

Resultados semelhantes foram observados por Cambri *et al.*²⁰, os quais apontaram que a redução do índice SD1 correlacionou-se negativamente ($r = -0,73$) com os valores de FCR em adultos de meia idade com DM tipo 2, indicando que quanto menor o tônus parassimpático maior os valores de FCR. O mesmo foi encontrado em Fronchetti *et al.*³², onde o índice SD1 relacionou-se negativamente com a FCR em jovens saudáveis.

A FC sofre influência da atividade vagal que mantém reduzido os seus valores em repouso³³ e o seu aumento é consequência da maior ação da via simpática e da menor atividade parassimpática, ou seja, inibição vagal³⁴. Vários estudos demonstram que elevada FCR (> 80 bpm) aumenta o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares³⁵⁻³⁷ tanto em indivíduos saudáveis³⁸ quanto em portadores de doença coronariana estável³⁹ ou com DM tipo 2⁴⁰. Achados recentes também apontam que o aumento FCR está associado a um risco aumentado de desenvolver DM tipo 2 em homens e mulheres⁴¹, adultos de meia idade⁴² e em pacientes com doenças vasculares⁴³.

Outra variável que apresentou associação com a VFC foi a relação cintura quadril (RCQ), a qual tem sido considerada como um importante método capaz de prever risco cardiovascular^{44,45} e em indivíduos com DM tipo 2 apresentou ligeiramente maior acurácia para prever risco cardiovascular em comparação ao IMC⁴⁶. O aumento de tecido adiposo visceral, mensurado pela RCQ, está associado a maiores alterações metabólicas, incluindo a diminuição da tolerância à glicose e redução da insulina que são fatores de risco para o DM tipo 2 e doenças cardiovasculares⁴⁴.

Neste estudo observamos que independente da idade e do sexo o aumento na RCQ está associado a redução da atividade parassimpática (índice HF un) em jovens com DM tipo 1, sugerindo que a maior adiposidade abdominal está relacionada com a redução da modulação vagal e, portanto, ao maior risco de mortalidade e de complicações cardiovasculares e metabólicas em indivíduos com DM tipo 1.

Como a RCQ e a FCR estão relacionados ao desarranjo autonômico parassimpático e, possivelmente, com o prognóstico dos indivíduos com DM tipo 1,

medidas como dietas adequadas⁴⁷, prática de atividade física⁴⁸ e controle glicêmico⁴⁹ devem ser incentivadas nessa população a fim de reduzir e prevenir as alterações metabólicas geradas por essa patologia⁵⁰.

A prática de atividade física regular como alternativa no tratamento do DM tipo 1 pode auxiliar no controle glicêmico adequado^{51,52}, reduzir a dose diária de insulina, diminuir o risco de complicações associadas ao diabetes⁵³ e controlar fatores de risco cardiovasculares⁵⁴. Além disso, o exercício físico em adolescentes com DM tipo 1 pode também contribuir para um maior controle vagal e ligeira redução simpática⁵⁵.

Nosso estudo avaliou ainda a associação entre índices de VFC e as variáveis: PAD, PAS, IMC, gordura corporal, glicemia casual e atividade física, contudo, os resultados não mostraram associação dessas variáveis com os índices de VFC utilizados no estudo mesmo após todos os ajustes realizados. Diferentemente dos nossos resultados Colhoun *et al.*⁵⁶ encontraram associações entre os índices da VFC e variáveis como pressão arterial, IMC elevado e baixo nível de atividade física quando comparados homens e mulheres com DM tipo 1.

Os participantes desse estudo apresentavam em geral, características dentro dos padrões de normalidade (Tabela 1) o que poderia justificar a ausência de associações com os índices da VFC. O mesmo ocorreu com Jaiswal *et al.* 2013, ao avaliarem a associação de variáveis como idade, sexo, IMC e PAD em jovens com DM tipo 1 e média de idade de 18,8(3,3) anos com os índices SDNN, RMSSD, HF un, LF un e LF/HF.

Indivíduos com DM podem estar sujeitos a diversas complicações que podem se agravar na presença de fatores de risco cardiovasculares⁵ e de acordo com a literatura esses fatores estão associados a alteração do comportamento do

SNA^{16,20,32,56}. Contudo poucos foram os trabalhos que avaliaram a associação de fatores de risco na VFC em jovens com DM tipo1.

Nosso estudo traz achados importantes, porém apresenta algumas limitações. A presença de obesidade para três dos voluntários analisados e a variação de 3 a 26 anos do tempo de diagnóstico do DM tipo 1, pode ter influenciado os resultados obtidos.

Como o caráter transversal adotado pelo estudo permiti apenas a associação dos dados, estudos futuros podem ser realizados para avaliar longitudinalmente esta população com objetivo de melhor entender a progressão das alterações autonômicas ao longo do tempo e avaliar se o tempo de diagnóstico de fato poderia influenciar a associação dessas variáveis com a modulação autonômica cardíaca.

A partir dos resultados obtidos com esse estudo, podemos concluir que em jovens com DM tipo 1, incrementos nos valores de FCR e RCQ estão associados a redução da atividade vagal e global do SNA independente da idade e do sexo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro para este estudo (Número do Processo: 2013/19055-0).

REFERENCIAS

1. Diabetes Mellitus. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2013-2014.
2. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(3):481-97.

3. Fradkin JE, Rodgers GP. Diabetes Research: A Perspective From the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. *Diabetes Journals*. 2013;62:320-6.
4. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 Diabetes Mellitus: Etiology, Presentation, and Management. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52(6):1553-78.
5. Daneman D. Early Diabetes-Related Complications in Adolescents. *Horm Res*. 2005;63(2):75-85.
6. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy. *Circulation*. 2007;115(3):387-97.
7. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The Association Between Cardiovascular Autonomic Neuropathy and Mortality in Individuals With Diabetes - A meta-analysis. *Diabetes Care*, 2005;26(6):1895-901.
8. Khatoon N, Kumar BS, Abdul M. Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Patients With Diabetes Mellitus. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2010;1(3):1-7.
9. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009;24(2):205-17.
10. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-62.
11. Guzik P, Piskorski J, Contreras P, Migliaro ER. Asymmetrical properties of heart rate variability in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010;20(4):255-7.
12. Javorka M, Javorková J, Tonhajzerová I, Calkovska A, Javorka K. Heart rate variability in young patients with diabetes mellitus and healthy subjects explored by Poincaré and sequence plots. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(2):119-27.
13. Chessa M, Butera G, Lanza GA, Bossone E, Delogu A, De Rosa G, et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children. *Herz*. 2002;27(8):785-90.
14. Kardelen F, Akçurin G, Ertuğ H, Akcurin S, Bircan I. Heart rate variability and circadian variations in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*. 2006;7(1):45-50.

15. Chessa M, Butera G, Lanza GA, Bossone E, Delogu A, De Rosa G, et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children. *Herz*. 2002;27(8):785-90.
16. Jaiswal M, Urbina EM, Wadwa RP, Talton JW, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, et al. Reduced heart rate variability among youth with type 1 diabetes: the Search CVD study. *Diabetes Care*. 2013;36(1):157-62.
17. Colhoun HM, Francis DP, Rubens MB, Underwood SR, Fuller JH. The association of heart-rate variability with cardiovascular risk factors and coronary artery calcification: a study in type 1 diabetic patients and the general population. *Diabetes Care*. 2001;24(6):1108-14.
18. Singh JP, Larson MG, O'Donnell CJ, Wilson PF, Tsuji H, Lloyd-Jones DM, Levy D. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*. 2000;86(3):309-12.
19. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, Prineas RJ, Evans GW, Rosamond WD, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care*. 2005;28(3):668-74.
20. Cambri LT, Oliveira FR, Gevaerd MS. Modulação autonômica cardíaca em repouso e controle metabólico em diabéticos tipo 2. *HU Ver*. 2008;34(2):115-21.
21. Godoy M, Tanakamura I, Correa P. Relevância da análise do comportamento dinâmico não-linear (Teoria do Caos) como elemento prognóstico de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. *Arq Ciênc Saúde* 2005;12(4):167-71.
22. Ewing DJ, Neilson JM, Shapiro CM, Stewart JA, Reid W. Twenty four hour heart rate variability: effects of posture, sleep, and time of day in healthy controls and comparison with bedside tests of autonomic function in diabetic patients. *Br Heart J*. 1991;65(5):239-44.
23. Diretriz. VI Diretriz de Hipertensão Arterial. 2010.
24. Associação Brasileira para o estudo da obesidade e síndrome metabólica. III Diretrizes Brasileira de Obesidade. 2009/2010.
25. World Health Organization (WHO). Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation. 2011.p.39
26. Lukaski H. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr*. 1987;46(4):537-56.

27. Matsudo S, Timoteo A, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ):Estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev Bras Ativ Fís Saúde*. 2001;6(2):05-18.
28. Gamelin F, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the Polar S810 Heart Rate Monitor to Measure R-R Intervals at Rest. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2006;38(5):887-93.
29. Vanderlei LC, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41(10):854-9.
30. Vanderlei L, Pastre C, Júnior IF, Godoy M. Índices Geométricos de Variabilidade da Frequência Cardíaca em Crianças Obesas e Eutróficas. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(1):35-40.
31. Niskanen JP, Tarvainen MP, Ranta-aho PO, Karjalainen PA. Software for advanced HRV analysis. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 2004;76:73-81.
32. Fronchetti L, Nakamura FY, AGUIAR CA, DE-OLIVEIRA FR. Indicadores de regulação autonômica cardíaca em repouso e durante exercício progressivo – Aplicação do limiar de variabilidade da frequência cardíaca. *Rev Port Cien Desp*. 2006;6(1):21-8.
33. Lima JRP, Oliveira TP, Ferreira-Júnior AJ. Recuperação autonômica cardíaca pós-exercício: Revisão dos mecanismos autonômicos envolvidos e relevância clínica e desportiva. *Motric*. 2012;8(S2):419-30.
34. Rajendra Acharya U, Paul Joseph K, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. Heart rate variability: a review. *Med Biol Eng Comput*. 2006;44(12):1031-51.
35. Menown IB, Davies S, Gupta S, Kalra PR, Lang CC, Morley C, Padmanabhan S. Resting heart rate and outcomes in patients with cardiovascular disease: where do we currently stand? *Cardiovasc Ther*. 2013;31(4):215-23.
36. Fox K, Borer JS, Camm AJ, Danchin N, Ferrari R, Lopez Sendon JL, et al. Resting heart rate in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(9):823-30.
37. Palatini P. Elevated Heart Rate: A “New” Cardiovascular Risk Factor? *Prog Cardiovasc Dis*. 2009;52(1):1-5.

38. Cooney MT, Vartiainen E, Laatikainen T, Juolevi A, Dudina A, Graham IM. Elevated resting heart rate is an independent risk factor for cardiovascular disease in healthy men and women. *Am Heart J*. 2010;159(4):612-9.
39. Ho JE, Bittner V, Demicco DA, Breazna A, Deedwania PC, Waters DD. Usefulness of heart rate at rest as a predictor of mortality, hospitalization for heart failure, myocardial infarction, and stroke in patients with stable coronary heart disease (Data from the Treating to New Targets [TNT] trial). *Am J Cardiol*. 2010;105(7):905-11.
40. Stettler C, Bearth A, Allemann S, Zwahlen M, Zanchin L, Deplazes M, et al. QTc interval and resting heart rate as long-term predictors of mortality in type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 23-year follow-up. *Diabetologia*. 2007;50(1):186-94.
41. Nagaya T, Yoshida H, Takahashi H, Kawai M. Resting heart rate and blood pressure, independent of each other, proportionally raise the risk for type-2 diabetes mellitus. *Int J Epidemiol*. 2010;39(1):215-22.
42. Carnethon MR, Yan L, Greenland P, Garside DB, Dyer AR, Metzger B, Daviglius ML. Resting heart rate in middle age and diabetes development in older age. *Diabetes Care*. 2008;31(2):335-9.
43. Bemelmans RH, Wassink AM, van der Graaf Y, Nathoe HM, Vernooij JW, Spiering W, et al. Risk of elevated resting heart rate on the development of type 2 diabetes in patients with clinically manifest vascular diseases. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(4):717-25.
44. Mushtaq MU, Gull S, Abdullah HM, Shahid U, Shad MA, Akram J. Waist circumference, waist-hip ratio and waist-height ratio percentiles and central obesity among Pakistani children aged five to twelve years. *BMC Pediatr*. 2011;11:105.
45. American College of Sports Medicine. Diretrizes do ACSM para o teste de esforço e sua prescrição [Traduzido por Giuseppe Taranto]. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.p.239.
46. Qiao Q, Nyamdorj R. The optimal cutoff values and their performance of waist circumference and waist-to-hip ratio for diagnosing type II diabetes. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(1):23-9.
47. Strychar I, Cohn JS, Renier G, Rivard M, Aris-Jilwan N, Beaugard H, et al. Effects of a diet higher in carbohydrate/lower in fat versus lower in carbohydrate/higher in monounsaturated fat on postmeal triglyceride concentrations and other cardiovascular risk factors in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(9):1597-9.

48. Quirk H, Blake H, Tennyson R, Randell TL, Glazebrook C. Physical activity interventions in children and young people with Type 1 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Diabet Med*. 2014;31(10):1163-73.
49. Plank J, Köhler G, Rakovac I, Semlitsch BM, Horvath K, Bock G, et al. Long-term evaluation of a structured outpatient education programme for intensified insulin therapy in patients with Type 1 diabetes: a 12-year follow-up. *Diabetologia*. 2004;47(8):1370-5.
50. Piłaciński S, Zozulińska-Ziółkiewicz D A. Influence of lifestyle on the course of type 1 diabetes mellitus. *Arch Med Sci*. 2014;10(1):124–34.
51. Silveira AP, Bentes CM, Costa PB, Simão R, Silva FC, Silva RP, et al. Acute effects of different intensities of resistance training on glycemic fluctuations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Res Sports Med*. 2014;22(1):75-87.
52. Carral F, Gutiérrez JV, Ayala Mdel C, García G, Aguilar M. Intense physical activity is associated with better metabolic control in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;101(1):45-9.
53. Rachmiel M, Buccino J, Daneman D. Exercise and type 1 diabetes mellitus in youth; review and recommendations. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2007;5(2):656-65.
54. Salem MA, Aboelarrar MA, Elbarbary NS, Elhilaly RA, Refaat YM. Is exercise a therapeutic tool for improvement of cardiovascular risk factors in adolescents with type 1 diabetes mellitus? A randomised controlled trial. *Diabetol Metab Syndr*. 2010;2(1):47.
55. Lucini D, Zuccotti GV, Scaramuzza A, Malacarne M, Gervasi F, Pagani M. Exercise might improve cardiovascular autonomic regulation in adolescents with type 1 diabetes. *Acta Diabetol*. 2013;50(3):341-9.
56. Colhoun HM, Francis DP, Rubens MB, Underwood SR, Fuller JH. The association of heart-rate variability with cardiovascular risk factors and coronary artery calcification: a study in type 1 diabetic patients and the general population. *Diabetes Care*. 2001;24(6):1108-14.

Tabela 1 – Caracterização dos voluntários com Diabetes *Mellitus* tipo 1.

Variáveis	DMT1 (39)
Idade (anos) ^b	21,00 (7,00)
Massa corporal (kg) ^a	73,54 (15,31)
Estatura (m) ^a	1,73 (0,17)
IMC (Kg/m ²) ^b	24,19 (5,84)
Relação C/Q (cm) ^a	0,80 (0,10)
PAS (mmHg) ^b	110,00 (10,00)
PAD (mmHg) ^b	60,00 (10,00)
FC (bpm) ^a	80,00 (16,00)
Glicemia casual ^b (mg/dl)	162,00 (168,00)
Gordura corporal (%) ^a	26,00 (9,60)
AF semanal (minutos) ^b	280,00 (510,00)
Tempo de diagnóstico ^a	11,71 (5,99)

^amédia (desvio padrão); ^bmediana (intervalo interquartil). **Legenda:** DMT1 = diabetes *mellitus* tipo 1; IMC = índice de massa corpórea; C/Q = cintura/quadril; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; FC = frequência cardíaca; AF = atividade física.

Tabela 2 - Associação dos índices da VFC com as variáveis Frequência Cardíaca de Repouso, Pressão Arterial Sistólica e Pressão Arterial Diastólica com e sem ajuste pelo sexo e idade em jovens com Diabetes Mellitus tipo 1,

	Frequência Cardíaca de Repouso				Pressão Arterial Sistólica				Pressão Arterial Diastólica			
	Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)		Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)		Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)	
	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>
RMSSD	-0,83 (-1,32; -0,34)	0,00 1	-0,90 (-1,39; -0,41)	0,001	-0,09 (-0,56; 0,38)	0,705	0,06 (-0,46; 0,59)	0,797	-0,34 (-0,85; 0,16)	0,179	-0,23 (-0,79; 0,32)	0,402
SDNN	-0,95 (-1,50; -0,40)	0,00 1	-0,95 (-1,50; -0,40)	0,001	-0,01 (-0,54; 0,52)	0,980	0,16 (-0,42; 0,74)	0,580	-0,43 (-1,03; 1,10)	1,10	-0,35 (-0,97; 0,26)	0,248
HF ms ²	-22,24 (-37,26; -7,21)	0,00 5	-22,11 (-36,91; -7,31)	0,005	-1,34 (-15,4; 12,8)	0,849	3,41 (-11,8; 18,6)	0,652	-7,96 (-23,30; 0,31)	0,300	-3,99 (-20,41; 12,41)	0,624
HF un	-0,28 (-0,75; 0,19)	0,23 4	-0,37 (-0,85; 0,10)	0,121	-0,09 (-0,49; 0,31)	0,639	-0,05 (-0,50; 0,39)	0,801	-0,19 (-0,63; 0,24)	0,379	-0,18 (-0,66; 0,29)	0,436
PNN50	-6,31 (-10,93; -1,70)	0,00 9	-7,14 (-11,74; -2,55)	0,003	-0,03 (-4,32; 4,25)	0,987	1,46 (-3,26; 6,19)	0,532	-2,24 (-6,89; 2,41)	0,335	-1,22 (-6,34; 3,87)	0,627
SD1	-0,59 (-0,93; -0,24)	0,00 1	-0,64 (-0,98; -0,29)	0,001	-0,06 (-0,40; 0,27)	0,706	0,04 (-0,32; 0,42)	0,796	-0,24 (-0,60; 0,11)	0,177	-0,16 (-0,53; 0,26)	0,399
SD2	-1,20 (-1,92; -0,48)	0,00 2	-1,18 (-1,90; -0,46)	0,002	0,01 (-0,68; 0,70)	0,977	0,22 (-0,52; 0,97)	0,546	-0,61 (1,35; 0,13)	0,104	-0,48 (-0,12; 0,31)	0,227

Legenda: RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; SDNN = desvio padrão dos intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; HF ms² = componente de alta frequência em milissegundos ao quadrado; HF un = componente de alta frequência em unidades normalizadas; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo.

Tabela 3 - Associação dos índices da VFC com as variáveis Gordura Corporal, Índice de Massa Corpórea e Relação Cintura Quadril com e sem ajuste pelo sexo e idade em jovens com Diabetes *Mellitus* tipo 1.

	Gordura Corporal (%)				IMC				RCQ			
	Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)		Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)		Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)	
	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>	β / CI (95%)	<i>P</i>
RMSSD	-1,25 (-0,72; 0,47)	0,676	-0,05 (-0,75; 0,65)	0,886	-0,15 (-1,36; 1,06)	0,802	0,03 (-1,21; 1,27)	0,962	-63,24 (-140,04;13,75)	0,104	-65,90 (-171,23;39,41)	0,212
SDNN	-0,40 (-1,07; 0,25)	0,222	-0,19 (-0,97; 0,58)	0,619	-0,27 (-1,64; 1,08)	0,685	-0,03 (-1,41; 1,34)	0,965	-41,16 (-129,86;47,53)	0,353	-60,37 (-78,08;57,33)	0,305
HF ms ²	-4,23 (-22,12;13,65)	0,634	4,48 (-15,89;24,25)	0,658	10,27 (-25,57;46,11)	0,565	18,25 (-17,16; 53,66)	0,303	-216,41 (∞)	0,854	84,47 (∞)	0,956
HF un	-0,09 (-0,61; 0,41)	0,697	-0,36 (-0,94; 0,22)	0,221	-0,88 (-1,87; 0,10)	0,080	-0,83 (-1,94; 0,08)	0,070	-76,09 (-138,92;-13,26)	0,019	-90,81 (-177,37;-4,24)	0,040
PNN50	0,04 (-5,37; 5,47)	0,986	0,28 (-0,607; 6,63)	0,928	0,80 (-10,09; 11,70)	0,882	2,17 (-1,94; 0,08)	0,695	-579,11 (∞)	0,097	-512,06 (∞)	0,284
SD1	-0,08 (-0,51; 0,33)	0,676	-0,03 (-0,56; 0,46)	0,887	-0,10 (-0,96; 0,75)	0,800	0,02 (-0,85; 0,89)	0,964	-44,66 (-98,99;9,66)	0,104	-46,55 (-121,06;27,96)	0,213
SD2	-0,59 (-1,45; 0,26)	0,170	-0,28 (-1,29; 0,71)	0,566	-0,39 (-2,16; 1,08)	0,657	-0,06 (-1,84; 1,71)	0,939	-43,66 (-159,41; 72,08)	0,450	-71,43 (-223,96;81,08)	0,348

Legenda: RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; HF ms² = componente de alta frequência em milissegundos ao quadrado; HF un = componente de alta frequência em unidades normalizadas; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo.

Tabela 4 - Associação dos índices da VFC com as variáveis Glicemia Casual e Atividade Física com e sem ajuste pelo sexo e idade em jovens com Diabetes *Mellitus* tipo 1.

	Glicemia Casual				Atividade Física			
	Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)		Sem Ajuste		Ajustado (Sexo e Idade)	
	β / CI (95%)	P	β / CI (95%)	P	β / CI (95%)	P	β / CI (95%)	P
RMSSD	-0,02	0,34	-0,01	0,543	-0,00	0,686	-0,00	0,495
	-0,08; 0,03	4	-0,07; 0,04		-0,01; 0,00		-0,01; 0,00	
SDNN	-0,02	0,51	-0,01	0,754	-0,02	0,510	-0,01	0,356
	-0,08; 0,04	0	-0,07; 0,05		-0,08; 0,04		-0,01; 0,00	
HF ms ²	-0,71	0,41	-0,39	0,652	-0,02	0,889	-0,10	0,497
	-2,46; 0,103	0	-2,16; 1,37		-0,33; 0,29		-0,42; 0,20	
HF un	-0,00	0,87	-0,00	0,931	-0,00	0,254	-0,00	0,334
	-0,05; 0,04	5	-0,05; 0,05		-0,01; 0,00		-0,01; 0,00	
PNN50	-0,22	0,40	-0,14	0,591	-0,03	0,488	-0,04	0,394
	-0,75; 0,30	3	-0,69; 0,40		-0,02; 0,06		-0,13; 0,05	
SD1	-0,02	0,34	-0,01	0,545	-0,00	0,686	-0,00	0,496
	-0,06; 0,02	6	-0,05; 0,03		0,00; 0,00		-0,00; 0,01	
SD2	-0,02	0,56	-0,01	0,810	-0,00	0,696	-0,00	0,347
	-0,11; 0,06	1	-0,09; 0,07		-0,01; 0,01		-0,02; 0,00	

Legenda: RMSSD = raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms; HF ms² = componente de alta frequência em milissegundos ao quadrado; HF un = componente de alta frequência em unidades normalizadas; PNN50 = porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms; SD1 = desvio padrão da variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2 = desvio padrão da variabilidade a longo prazo.

Conclusões

Conclui-se, a partir dos achados que:

I. Apesar de existirem diferenças metodológicas e de índices utilizados, a variabilidade da frequência cardíaca pode ser utilizada com eficácia no prognóstico e diagnóstico prático de indivíduos com Diabetes *Mellitus*.

II. Jovens adultos com Diabetes *Mellitus* Tipo 1 apresentam alterações autonômicas caracterizadas por redução tanto da atividade simpática quanto parassimpática e na variabilidade global e que os índices SDNN, RMSSD, PNN50, RRtri, LF ms², HF ms², SD1 e SD2 apresentaram melhor acurácia diagnóstica para discriminar indivíduos com essa condição.

III. Em jovens adultos com Diabetes *Mellitus* Tipo 1, valores elevados de Frequência Cardíaca de Repouso (FCR) estão associados a redução da atividade parassimpática e global da VFC e maiores valores na relação cintura quadril (RCQ) estão relacionadas a menor atividade parassimpática, independente da idade e sexo.

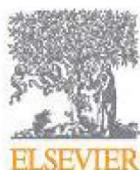
Referências

1. Organization WH. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. 1999.
2. Diabetes Mellitus. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2013-2014.
3. Diabetes Atlas, 5^a edition. International Diabetes Federation, 2012.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2012;35(suppl. 1):S64-S71.
5. Posicionamento Oficial SBD. Diagnóstico e Tratamento do Diabetes tipo 1. 2012.
6. Fradkin JE, Rodgers GP. Diabetes Research: A Perspective From the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. *Diabetes Journals*. 2013;62:320-6.
7. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011.
8. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52(6):1553-78.
9. Khatoon N, Kumar BS, Abdul M. Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Patients With Diabetes Mellitus. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2010;1(3):1-7.
10. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The Association Between Cardiovascular Autonomic Neuropathy and Mortality in Individuals With Diabetes - A meta-analysis. *Diabetes Care*, 2003;26(6):1895–901.
11. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy. *Circulation*. 2007;115(3):387-97.
12. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-62.
13. Vanderlei L, Pastre C, Júnior IF, Godoy M. Índices Geométricos de Variabilidade da Frequência Cardíaca em Crianças Obesas e Eutróficas. *Arq Bras Cardiol*2010;95(1):35-40.

14. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2009;24(2):205-17.
15. Guzik P, Piskorski J, Contreras P, Migliaro ER. Asymmetrical properties of heart rate variability in type 1 diabetes. *Clin Auton Res.* 2010;20(4):255-7.
16. Javorka M, Javorková J, Tonhajzerová I, Calkovska A, Javorka K. Heart rate variability in young patients with diabetes mellitus and healthy subjects explored by Poincaré and sequence plots. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2005;25(2):119-27.
17. Chessa M, Butera G, Lanza GA, Bossone E, Delogu A, De Rosa G, et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children. *Herz.* 2002;27(8):785-90.
18. Kardelen F, Akçurin G, Ertuğ H, Akcurin S, Bircan I. Heart rate variability and circadian variations in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes.* 2006;7(1):45-50.
19. Jaiswal M, Urbina EM, Wadwa RP, Talton JW, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, et al. Reduced heart rate variability among youth with type 1 diabetes: the Search CVD study. *Diabetes Care.* 2013;36(1):157-62.
20. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Javorkova J, Javorka K, Baumert M. Short-term heart rate complexity is reduced in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(5):1071-81.
21. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Lazarova Z, Javorkova J, Javorka K. Recurrences in heart rate dynamics are changed in patients with diabetes mellitus. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2008;28(5):326-31.
22. Singh JP, Larson MG, O'Donnell CJ, Wilson PF, Tsuji H, Lloyd-Jones DM, et al. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 2000;86(3):309-12.
23. Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, Prineas RJ, Evans GW, Rosamond WD, et al. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care.* 2005;28(3):668-74.
24. Cambri LT, Oliveira FR, Gevaerd MS. Modulação autonômica cardíaca em repouso e controle metabólico em diabéticos tipo 2. *HU Revista.* 2008;34(2):115-21.
25. Khandoker AH, Jelinek HF, Palaniswami M. Identifying diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy by heart rate complexity analysis. *Biomed Eng Online.* 2009;8(3):1-12.

26. Ziegler D, Laude D, Akila F, Elghozi JL. Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Clin Auton Res.* 2001;11(6):369-76.
27. Pivatelli FC, Santos MA, Fernandes GB, Gatti M, Abreu LC, Valenti VE, et al. Sensitivity, specificity and predictive values of linear and nonlinear indices of heart rate variability in stable angina patients. *Int Arch Med.* 2012;5(1):2-6.
28. Corrêa PR, Catai AM, Takakura IT, Machado MN, Godoy MF. Variabilidade da Frequência Cardíaca e Infecções Pulmonares Pós Revascularização Miocárdica. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(4):448-56.

Anexos



DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE

The official journal of the [International Diabetes Federation](#)

NEW: - [The Diabetes Research and Clinical Practice A1chieve Resource Centre](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

ISSN: 0168-8227

●	Description	p.1
●	Audience	p.1
●	Impact Factor	p.1
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.4

DESCRIPTION

Diabetes Research and Clinical Practice is an international journal for health-care providers and clinically oriented researchers that publishes high-quality original research articles and expert reviews in **diabetes** and related areas. The role of the journal is to provide a venue for dissemination of knowledge and discussion of topics related to diabetes clinical research and patient care. Topics of focus include **translational science, genetics, immunology, nutrition, psychosocial research, epidemiology, prevention, socio-economic research, complications, new treatments, technologies** and **therapy**.

Diabetes Research and Clinical Practice is the official journal of the [International Diabetes Federation](#).

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

AUDIENCE

Diabetologists, Endocrinologists, Specialists in Internal Medicine.

IMPACT FACTOR

2013: 2.536 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2014

ABSTRACTING AND INDEXING

BIOSIS
 Elsevier BIOBASE
 Chemical Abstracts
 Current Contents
 MEDLINE®
 Diabetes Contents
 EMBASE
 Research Information Systems
 Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

S Colagiuri, MD, University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia

Associate Editors

N.H. Cho, MD, PhD, Ajou University School of Medicine, suwon, South Korea

J J Gagliardino, MD, CENEXA (UNLP-CONICET), Argentina

J E Gerich, MD, University of Rochester Medical Center, Rochester, New York, USA

L. Guariguata, MPH, Brussels, Belgium

M Massi-Benedetti, MD, Hub for International health ReSearch (HIRS), Perugia, Italy

R S Scott, MB, ChB, BMed, Sci, FRACP, PhD, Christchurch School of Medicine, Christchurch, New Zealand

E Sobngwi, MD, MPhil, PhD, Newcastle University, UK; University of Yaounde, Cameroon

X. Zhou, MD, PhD, Peking University, Beijing, China

Reviews Editor

P. Lefebvre, MD, PhD, FRCP, MAE, Université de Liège, Liège, Belgium

Honorary Editors

J. R. Turtle, Sydney, Australia

C. S. Cockram, Shatin, N.T., Hong Kong

N. Hotta, Nagoya, Japan

Editorial Board

P. Aschner, Bogota, Colombia

J.S. Bajaj, New Delhi, India

M.A. Banerji, Brooklyn, New Jersey, USA

K. Borch-Johnsen, Gentofte, Denmark

A. Ceriello, Coventry, UK

I. Chen, Los Angeles, California, USA

T. Cundy, Auckland, New Zealand

M.B. Davidson, Los Angeles, California, USA

A.J. Farmer, Oxford, UK

O.P. Ganda, Boston, Massachusetts, USA

E Goyder, Sheffield, UK

J. Gross, Porto Alegre, Brazil

L.C. Harrison, Parkville, Victoria, Australia

P. Home, Newcastle, UK

Y.-J. Hung, Taipei, Taiwan

L. Ji, Beijing, China

Y. Kanazawa, Shiga, Japan

M. Kobayashi, Toyama, Japan

H.M.J. Krans, Leiden, Netherlands

K.S.L Lam, Hong Kong, China

R. Landgraf, München, Germany

H.K. Lee, Seoul, South Korea

Y. Matsuzawa, Osaka, Japan

J.C. Mbanya, Cameroon, UK

C. Meyer, Phoenix, Arizona, USA

A. Misra, New Delhi, India

A. Mitrakou, Athens, Greece

M. Mokán, Slovakia

K. Nanjo, Wakayama, Japan

GUIDE FOR AUTHORS

Diabetes Research and Clinical Practice is an international journal for health-care providers and clinically oriented researchers that publishes high-quality original research articles and expert reviews in **diabetes** and related areas. The role of the journal is to provide a venue for dissemination of knowledge and discussion of topics related to diabetes clinical research and patient care. Topics of focus include **translational science, genetics, immunology, nutrition, psychosocial research, epidemiology, prevention, socio-economic research, complications, new treatments, technologies** and **therapy**.

Diabetes Research and Clinical Practice is the official journal of the [International Diabetes Federation](#).

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Diabetes Research and Clinical Practice is the official journal of the International Diabetes Federation.

Journal Principles

All manuscripts submitted to *Diabetes Research and Clinical Practice* should report original research not previously published or being considered for publication elsewhere, make explicit any conflict of interest, identify sources of funding and generally be of a high ethical standard.

Submission of a manuscript to this journal gives the publisher the right to publish that paper if it is accepted. Manuscripts may be edited to improve clarity and expression. Submission of a paper to *Diabetes Research and Clinical Practice* is understood to imply that it has not previously been published and that it is not being considered for publication elsewhere.

Editorial Office

The full contact details for the Editorial Office are shown below:

Diabetes Research and Clinical Practice Editorial Office, Elsevier Ltd, The Boulevard, Landford Land, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK; Phone: +44 (0) 1865 843753, E-mail: diab@elsevier.com

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Human and animal rights

If the work involves the use of animal or human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

Conflict of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest then please state this: 'Conflicts of interest: none'. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible

authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Clinical Trials

* All randomised controlled trials submitted to Diabetes Research and Clinical Practice whose primary purpose is to affect clinical practice (phase 3 trials) must be registered in accordance with the principles outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE; <http://www.icmje.org/>). ICMJE-approved registries currently include the following: <http://www.anzctr.org.au>, <http://www.clinicaltrials.gov>, <http://www.ISRCTN.org>, <http://www.umin.ac.jp/ctr/index/htm>, <http://www.trialregister.nl>, and <https://eudract.ema.europa.eu/>. Please include the unique trial number and registry name on manuscript submission.

Copyright

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open access and Subscription.

For subscription articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.
Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An open access publication fee is payable by authors or their research funder

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No open access publication fee

All articles published open access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Elsevier has established agreements with funding bodies, <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. This ensures authors can comply with funding body open access requirements, including specific user licenses, such as CC BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. If you need to comply with your funding body policy, you can apply for the CC BY license after your manuscript is accepted for publication.

To provide open access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published open access. Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The open access publication fee for this journal is **\$2,500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific

English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Patients and Study Participants

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent which should be documented in your paper.

Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patient's photographs, pedigree, images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in the submissions unless the information is essential for scientific purposes and written informed consent has been obtained for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin). If such consent is made subject to any conditions, Elsevier must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to the journal on request.

Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. Complete anonymity is difficult to achieve. For example, masking the eye region in photographs of patients is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/diab>.

Article Types

N.B. For reasons of available space, manuscripts that exceed the required word limits (below) will be declined automatically. All articles other than Editorials and Letters to the Editor are subject to full peer review.

1. **Editorials** are either written or commissioned by the Editors and should not exceed 1000 words (not including a maximum of 20 references; one small figure can be included).
2. **Commentaries** (1000 words not including a maximum of 20 references and one small figure) offer a stimulating, journalistic and accessible insight into issues of common interest. They are usually commissioned by the Editors but unsolicited articles will be considered. Debates comprise two commentaries of opposing or contrasting opinion written by two different groups of authors. Controversial opinions are welcomed as long as they are set in the context of the generally accepted view.
3. **Original Research Articles** should be designated either (a) Basic Research (b) Clinical Research or (c) Epidemiology and should be a maximum of 5000 words. The word limit includes a combined total of five figures or tables with legends, but does not include up to 50 references and an abstract of up to 200 words structured according to Aims, Methods, Results, Conclusions and Keywords. Divide the manuscript into the following sections: Title Page; Structured Abstract; Introduction; Subjects, Materials and Methods; Results; Discussion; Acknowledgements; References; figures and tables with legends.
4. **Brief Reports** should not exceed 1000 words, including a summary of no more than 50 words (but not including up to 20 references) and may be a preliminary report of work completed, a final report or an observation not requiring a lengthy write-up.

5. **Review articles** should be a maximum of 5000 words, including a summary of no more than 200 words (not including up to 75 references) with subheadings in the text to highlight the content of different sections. The word limit includes a combined total of five figures or tables with legends. Reviews are generally commissioned by the Editors but unsolicited articles will be considered.

6. **Letters to the Editor** should be no more than 400 words.

Brief Reports and Letters to the Editor will only be published electronically but will be listed in the print Table of Contents. These articles can be cited by Digital Object Identifier (DOI) rather than page number.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Structured Abstract: Original Research Articles

An abstract of no more than 250 words should be structured as per following:

- **Aims:** Reflects the purpose of the study (the hypothesis that is being tested);
- **Methods:** The setting for the study, the subjects (number and type), the treatment or intervention, and the type(s) of statistical analysis used;
- **Results:** The outcome(s) of the study and, if appropriate, its/their statistical significance;
- **Conclusions:** The significance of the results.

Abstracts for other articles (Commentaries and Reviews) should be written as a single paragraph not to exceed 200 words.

Highlights

Highlights are a short collection of bullet points that convey the core findings of the article. Highlights are optional and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Illustration services

Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/illustrationservices>) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address

- Full postal address
 - Phone numbers
- All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Authorship

The Corresponding Author must submit a completed Author Consent Form to DRCP with their manuscript. All authors must sign the [Author Consent Form](#).

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's

WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

Special Subject Repositories

Certain repositories such as PubMed Central ('PMC') are authorized under special arrangement with Elsevier to process and post certain articles. The following agreements have been established for authors whose articles have been accepted for publication in an Elsevier journal and whose underlying research is supported by one of the following funding bodies:

- National Institutes of Health: Elsevier will send a version of the author's accepted manuscript that includes author revisions following peer-review for public access posting 12 months after final publication. Because the NIH 'Public Access' policy is voluntary, authors may elect not to deposit such articles in PMC. If you wish to 'opt out' and not deposit to PMC, you may indicate this by sending an e-mail to NIHauthorrequest@elsevier.com. More information regarding the agreement between Elsevier and the National Institutes of Health can be found at <http://www.elsevier.com/wps/find/authorhome.authors/nihauthorrequest>
- The Wellcome Trust: Elsevier will send to PMC the version of the author's manuscript that reflects all author-agreed changes including those made post peer review, for public access posting immediately after final publication. Authors are required to initially subsidize their manuscript with fees reimbursed by the Wellcome Trust. Wellcome Trust authors, whose manuscripts are subsidized, will have the corresponding articles made free to non-subscribers on ScienceDirect www.sciencedirect.com and Elsevier's electronic publishing platforms. More information regarding the agreement between Elsevier and The Wellcome Trust can be found at <http://www.elsevier.com/wps/find/authorhome.authors/wellcometrustauthors>

AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/89/p/8045/. You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.



Instructions for authors

Original investigations

Submission process

Manuscripts must be submitted by one of the authors of the manuscript, and should not be submitted by anyone on their behalf. The submitting author takes responsibility for the article during submission and peer review.

Please note that *Cardiovascular Diabetology* levies an article-processing charge on all accepted Original investigations; if the submitting author's institution is a [BioMed Central member](#) the cost of the article-processing charge may be covered by the membership (see [About](#) page for detail). Please note that the membership is only automatically recognised on submission if the submitting author is based at the member institution.

To facilitate rapid publication and to minimize administrative costs, *Cardiovascular Diabetology* prefers [online submission](#).

Files can be submitted as a batch, or one by one. The submission process can be interrupted at any time; when users return to the site, they can carry on where they left off.

See below for examples of [word processor](#) and [graphics file formats](#) that can be accepted for the main manuscript document by the online submission system. Additional files of any type, such as [movies](#), animations, or [original data files](#), can also be submitted as part of the manuscript.

During submission you will be asked to provide a cover letter. Use this to explain why your manuscript should be published in the journal, to elaborate on any issues relating to our editorial policies in the '[About Cardiovascular Diabetology](#)' page, and to declare any potential competing interests. You will be also asked to provide the contact details (including email addresses) of potential peer reviewers for your manuscript. These should be experts in their field, who will be able to provide an objective assessment of the manuscript. Any suggested peer reviewers should not have published with any of the authors of the manuscript within the past five years, should not be current collaborators, and should not be members of the same research institution. Suggested reviewers will be considered alongside potential reviewers recommended by the Editor-in-Chief and/or Editorial Board members.

Assistance with the process of manuscript preparation and submission is available from [BioMed Central customer support team](#).

We also provide a collection of links to useful tools and resources for scientific authors on our [Useful Tools](#) page.

File formats

The following word processor file formats are acceptable for the main manuscript document:

- Microsoft word (DOC, DOCX)
- Rich text format (RTF)
- Portable document format (PDF)
- TeX/LaTeX (use [BioMed Central's TeX template](#))
- DeVice Independent format (DVI)

TeX/LaTeX users: Please use [BioMed Central's TeX template](#) and BibTeX stylefile if you use TeX format. During the TeX submission process, please submit your TeX file as the main manuscript file and your bib/bbl file as a dependent file. Please also convert your TeX file into a PDF and submit this PDF as an additional file with the name 'Reference PDF'. This PDF will be used by internal staff as a reference point to check the layout of the article as the author intended. Please also note that all figures must be coded at the end of the TeX file and not inline.

If you have used another template for your manuscript, or if you do not wish to use BibTeX, then please submit your manuscript as a DVI file. We do not recommend converting to RTF.

For all TeX submissions, all relevant editable source must be submitted during the submission process. Failing to submit these source files will cause unnecessary delays in the publication procedures.

Preparing main manuscript text

General guidelines of the journal's style and language are given [below](#).

Overview of manuscript sections for Original investigations

Manuscripts for Original investigations submitted to *Cardiovascular Diabetology* should be divided into the following sections (in this order):

- Title page
- Abstract
- Keywords
- Background
- Methods
- Results and discussion

- Conclusions
- List of abbreviations used (if any)
- Competing interests
- Authors' contributions
- Authors' information
- Acknowledgements
- Endnotes
- References
- Illustrations and figures (if any)
- Tables and captions
- Preparing additional files

The **Accession Numbers** of any nucleic acid sequences, protein sequences or atomic coordinates cited in the manuscript should be provided, in square brackets and include the corresponding database name; for example, [EMBL:AB026295, EMBL:AC137000, DDBJ:AE000812, GenBank:U49845, PDB:1BFM, Swiss-Prot:Q96KQ7, PIR:S66116].

The databases for which we can provide direct links are: EMBL Nucleotide Sequence Database ([EMBL](#)), DNA Data Bank of Japan ([DDBJ](#)), GenBank at the NCBI ([GenBank](#)), Protein Data Bank ([PDB](#)), Protein Information Resource ([PIR](#)) and the Swiss-Prot Protein Database ([Swiss-Prot](#)).

You can [download a template](#) (Mac and Windows compatible; Microsoft Word 98/2000) for your article.

For reporting standards please see the information in the [About](#) section.

Title page

The title page should:

- provide the title of the article
- list the full names, institutional addresses and email addresses for all authors
- indicate the corresponding author

Please note:

- the title should include the study design, for example "A versus B in the treatment of C: a randomized controlled trial X is a risk factor for Y: a case control study"
- abbreviations within the title should be avoided

Abstract

The Abstract of the manuscript should not exceed 350 words and must be structured into separate sections: **Background**, the context and purpose of the study; **Methods**, how the study was performed and statistical tests used; **Results**, the main findings; **Conclusions**, brief summary and potential implications. Please minimize the use of abbreviations and do not cite references in the abstract. **Trial registration**, if your original investigation reports the results of a controlled health care intervention,

please list your trial registry, along with the unique identifying number (e.g. **Trial registration:** Current Controlled Trials ISRCTN73824458). Please note that there should be no space between the letters and numbers of your trial registration number. We recommend manuscripts that report randomized controlled trials follow the [CONSORT extension for abstracts](#).

Keywords

Three to ten keywords representing the main content of the article.

Background

The Background section should be written in a way that is accessible to researchers without specialist knowledge in that area and must clearly state - and, if helpful, illustrate - the background to the research and its aims. Reports of clinical research should, where appropriate, include a summary of a search of the literature to indicate why this study was necessary and what it aimed to contribute to the field. The section should end with a brief statement of what is being reported in the article.

Methods

The methods section should include the design of the study, the setting, the type of participants or materials involved, a clear description of all interventions and comparisons, and the type of analysis used, including a power calculation if appropriate. Generic drug names should generally be used. When proprietary brands are used in research, include the brand names in parentheses in the Methods section.

For studies involving human participants a statement detailing ethical approval and consent should be included in the methods section. For further details of the journal's editorial policies and ethical guidelines see '[About this journal](#)'.

For further details of the journal's data-release policy, see the policy section in '[About this journal](#)'.

Results and discussion

The Results and discussion may be combined into a single section or presented separately. Results of statistical analysis should include, where appropriate, relative and absolute risks or risk reductions, and confidence intervals. The Results and discussion sections may also be broken into subsections with short, informative headings.

Conclusions

This should state clearly the main conclusions of the research and give a clear explanation of their importance and relevance. Summary illustrations may be included.

List of abbreviations

If abbreviations are used in the text they should be defined in the text at first use, and a list of abbreviations can be provided, which should precede the competing interests and authors' contributions.

Competing interests

A competing interest exists when your interpretation of data or presentation of information may be influenced by your personal or financial relationship with other people or organizations. Authors must disclose any financial competing interests; they should also reveal any non-financial competing interests that may cause them embarrassment were they to become public after the publication of the manuscript.

Authors are required to complete a declaration of competing interests. All competing interests that are declared will be listed at the end of published articles. Where an author gives no competing interests, the listing will read 'The author(s) declare that they have no competing interests'.

When completing your declaration, please consider the following questions:

Financial competing interests

- In the past three years have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? Is such an organization financing this manuscript (including the article-processing charge)? If so, please specify.
- Do you hold any stocks or shares in an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? If so, please specify.
- Do you hold or are you currently applying for any patents relating to the content of the manuscript? Have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that holds or has applied for patents relating to the content of the manuscript? If so, please specify.
- Do you have any other financial competing interests? If so, please specify.

Non-financial competing interests

Are there any non-financial competing interests (political, personal, religious, ideological, academic, intellectual, commercial or any other) to declare in relation to this manuscript? If so, please specify.

If you are unsure as to whether you, or one your co-authors, has a competing interest please discuss it with the editorial office.

Authors' contributions

In order to give appropriate credit to each author of a paper, the individual contributions of authors to the manuscript should be specified in this section.

According to [ICMJE guidelines](#), An 'author' is generally considered to be someone who has made substantive intellectual contributions to a published study. To qualify as an author one should 1) have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) have been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; 3) have given final approval of the version to be published; and 4) agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group, alone, does not justify authorship.

We suggest the following kind of format (please use initials to refer to each author's contribution): AB carried out the molecular genetic studies, participated in the sequence alignment and drafted the manuscript. JY carried out the immunoassays. MT participated in the sequence alignment. ES participated in the design of the study and performed the statistical analysis. FG conceived of the study, and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support.

Authors' information

You may choose to use this section to include any relevant information about the author(s) that may aid the reader's interpretation of the article, and understand the standpoint of the author(s). This may include details about the authors' qualifications, current positions they hold at institutions or societies, or any other relevant background information. Please refer to authors using their initials. Note this section should not be used to describe any competing interests.

Acknowledgements

Please acknowledge anyone who contributed towards the article by making substantial contributions to conception, design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data, or who was involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content, but who does not meet the criteria for authorship. Please also include the source(s) of funding for each author, and for

the manuscript preparation. Authors must describe the role of the funding body, if any, in design, in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. Please also acknowledge anyone who contributed materials essential for the study. If a language editor has made significant revision of the manuscript, we recommend that you acknowledge the editor by name, where possible.

The role of a scientific (medical) writer must be included in the acknowledgements section, including their source(s) of funding. We suggest wording such as 'We thank Jane Doe who provided medical writing services on behalf of XYZ Pharmaceuticals Ltd.'

Authors should obtain permission to acknowledge from all those mentioned in the Acknowledgements section.

Endnotes

Endnotes should be designated within the text using a superscript lowercase letter and all notes (along with their corresponding letter) should be included in the Endnotes section. Please format this section in a paragraph rather than a list.

References

All references, including URLs, must be numbered consecutively, in square brackets, in the order in which they are cited in the text, followed by any in tables or legends. Each reference must have an individual reference number. Please avoid excessive referencing. If automatic numbering systems are used, the reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission.

Only articles, datasets, clinical trial registration records and abstracts that have been published or are in press, or are available through public e-print/preprint servers, may be cited; unpublished abstracts, unpublished data and personal communications should not be included in the reference list, but may be included in the text and referred to as "unpublished observations" or "personal communications" giving the names of the involved researchers. Obtaining permission to quote personal communications and unpublished data from the cited colleagues is the responsibility of the author. Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted. Journal abbreviations follow Index Medicus/MEDLINE. Citations in the reference list should include all named authors, up to the first 30 before adding '*et al.*'.

Any *in press* articles cited within the references and necessary for the reviewers' assessment of the manuscript should be made available if requested by the editorial office.

Style files are available for use with popular bibliographic management software:

- [BibTeX](#)
- [EndNote style file](#)

- [Reference Manager](#)
- [Zotero](#)

Examples of the *Cardiovascular Diabetology* reference style are shown [below](#). Please ensure that the reference style is followed precisely; if the references are not in the correct style they may have to be retyped and carefully proofread.

All web links and URLs, including links to the authors' own websites, should be given a reference number and included in the reference list rather than within the text of the manuscript. They should be provided in full, including both the title of the site and the URL, in the following format: **The Mouse Tumor Biology Database** [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]. If an author or group of authors can clearly be associated with a web link, such as for weblogs, then they should be included in the reference.

Examples of the Cardiovascular Diabetology reference style

Article within a journal

Koonin EV, Altschul SF, Bork P: **BRCA1 protein products: functional motifs.** *Nat Genet* 1996,**13**:266-267.

Article within a journal supplement

Orengo CA, Bray JE, Hubbard T, LoConte L, Sillitoe I: **Analysis and assessment of ab initio three-dimensional prediction, secondary structure, and contacts prediction.** *Proteins* 1999, **43**(Suppl 3):149-170.

In press article

Kharitonov SA, Barnes PJ: **Clinical aspects of exhaled nitric oxide.** *Eur Respir J*, in press.

Published abstract

Zvaifler NJ, Burger JA, Marinova-Mutafchieva L, Taylor P, Maini RN: **Mesenchymal cells, stromal derived factor-1 and rheumatoid arthritis [abstract].** *Arthritis Rheum* 1999, **42**:s250.

Article within conference proceedings

Jones X: **Zeolites and synthetic mechanisms.** In *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore*. Edited by Smith Y. Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996:16-27.

Book chapter, or article within a book

Schnepf E: **From prey via endosymbiont to plastids: comparative studies in dinoflagellates.** In *Origins of Plastids. Volume 2*. 2nd edition. Edited by Lewin RA. New York: Chapman and Hall; 1993:53-76.

Whole issue of journal

Ponder B, Johnston S, Chodosh L (Eds): **Innovative oncology.** In *Breast Cancer Res* 1998, **10**:1-72.

Whole conference proceedings

Smith Y (Ed): *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore*. Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996.

Complete book

Margulis L: *Origin of Eukaryotic Cells*. New Haven: Yale University Press; 1970.

Monograph or book in a series

Hunninghake GW, Gadek JE: **The alveolar macrophage**. In *Cultured Human Cells and Tissues*. Edited by Harris TJR. New York: Academic Press; 1995:54-56. [Stoner G (Series Editor): *Methods and Perspectives in Cell Biology*, vol 1.]

Book with institutional author

Advisory Committee on Genetic Modification: *Annual Report*. London; 1999.

PhD thesis

Kohavi R: **Wrappers for performance enhancement and oblivious decision graphs**. *PhD thesis*. Stanford University, Computer Science Department; 1995.

Link / URL

The Mouse Tumor Biology Database [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]

Link / URL with author(s)

Corpas M: **The Crowdfunding Genome Project: a personal genomics community with open source values** [<http://blogs.biomedcentral.com/bmcblog/2012/07/16/the-crowdfunding-genome-project-a-personal-genomics-community-with-open-source-values/>]

Dataset with persistent identifier

Zheng, L-Y; Guo, X-S; He, B; Sun, L-J; Peng, Y; Dong, S-S; Liu, T-F; Jiang, S; Ramachandran, S; Liu, C-M; Jing, H-C (2011): **Genome data from sweet and grain sorghum (Sorghum bicolor)**. *GigaScience Database*. <http://dx.doi.org/10.5524/100012>.

Clinical trial registration record with persistent identifier

Mendelow, AD (2006): **Surgical Trial in Lobar Intracerebral Haemorrhage**. Current Controlled Trials. <http://dx.doi.org/10.1186/ISRCTN22153967>

Preparing illustrations and figures

Illustrations should be provided as separate files, not embedded in the text file. Each figure should include a single illustration and should fit on a single page in portrait format. If a figure consists of separate parts, it is important that a single composite illustration file be submitted which contains all parts of the figure. There is no charge for the use of color figures.

Please read our [figure preparation guidelines](#) for detailed instructions on maximising the quality of your [figures](#).

Formats

The following file formats can be accepted:

- PDF (preferred format for diagrams)
- DOCX/DOC (single page only)
- PPTX/PPT (single slide only)
- EPS
- PNG (preferred format for photos or images)
- TIFF
- JPEG
- BMP

Figure legends

The legends should be included in the main manuscript text file at the end of the document, rather than being a part of the figure file. For each figure, the following information should be provided: Figure number (in sequence, using Arabic numerals - i.e. Figure 1, 2, 3 etc); short title of figure (maximum 15 words); detailed legend, up to 300 words.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have previously been published elsewhere.

Preparing a personal cover page

If you wish to do so, you may submit an image which, in the event of publication, will be used to create a cover page for the PDF version of your article. The cover page will also display the journal logo, article title and citation details. The image may either be a figure from your manuscript or another relevant image. You must have permission from the copyright to reproduce the image. Images that do not meet our requirements will not be used.

Images must be 300dpi and 155mm square (1831 x 1831 pixels for a raster image).

Allowable formats - EPS, PDF (for line drawings), PNG, TIFF (for photographs and screen dumps), JPEG, BMP, DOC, PPT, CDX, TGF (ISIS/Draw)

Preparing tables

Each table should be numbered and cited in sequence using Arabic numerals (i.e. Table 1, 2, 3 etc.). Tables should also have a title (above the table) that summarizes the whole table; it should be no longer than 15 words. Detailed legends may then follow, but they should be concise. Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

Smaller tables considered to be integral to the manuscript can be pasted into the end of the document text file, in A4 portrait or landscape format. These will be typeset and displayed in the final published form of the article. Such tables should be formatted using the 'Table object' in a word processing program to ensure that columns of data are kept aligned when the file is sent electronically for review; this will not always be the case if columns are generated by simply using tabs to separate text. Columns and rows of data should be made visibly distinct by ensuring that the borders of each cell display as black lines. Commas should not be used to indicate numerical values. Color and shading may not be used; parts of the table can be highlighted using symbols or bold text, the meaning of which should be explained in a table legend. Tables should not be embedded as figures or spreadsheet files.

Larger datasets or tables too wide for a landscape page can be uploaded separately as additional files. Additional files will not be displayed in the final, laid-out PDF of the article, but a link will be provided to the files as supplied by the author.

Tabular data provided as additional files can be uploaded as an Excel spreadsheet (.xls) or comma separated values (.csv). As with all files, please use the standard file extensions.

Preparing additional files

Although *Cardiovascular Diabetology* does not restrict the length and quantity of data included in an article, we encourage authors to provide datasets, tables, movies, or other information as additional files.

Please note: All Additional files **will be published** along with the article. Do not include files such as patient consent forms, certificates of language editing, or revised versions of the main manuscript document with tracked changes. Such files should be sent by email to CardiovascDiabetol.Office@sheba.health.gov.il, quoting the Manuscript ID number.

Results that would otherwise be indicated as "data not shown" can and should be included as additional files. Since many weblinks and URLs rapidly become broken, *Cardiovascular Diabetology* requires that supporting data are included as additional files, or deposited in a recognized

repository. Please do not link to data on a personal/departmental website. The maximum file size for additional files is 20 MB each, and files will be virus-scanned on submission.

Additional files can be in any format, and will be downloadable from the final published article as supplied by the author. We recommend CSV rather than PDF for tabular data.

Certain supported files formats are recognized and can be displayed to the user in the browser. These include most movie formats (for users with the Quicktime plugin), mini-websites prepared according to our guidelines, chemical structure files (MOL, PDB), geographic data files (KML).

If additional material is provided, please list the following information in a separate section of the manuscript text:

- File name (e.g. Additional file 1)
- File format including the correct file extension for example .pdf, .xls, .txt, .pptx (including name and a URL of an appropriate viewer if format is unusual)
- Title of data
- Description of data

Additional files should be named "Additional file 1" and so on and should be referenced explicitly by file name within the body of the article, e.g. 'An additional movie file shows this in more detail [see Additional file 1]'.

Additional file formats

Ideally, file formats for additional files should not be platform-specific, and should be viewable using free or widely available tools. The following are examples of suitable formats.

- Additional documentation
 - PDF (Adode Acrobat)
- Animations
 - SWF (Shockwave Flash)
- Movies
 - MP4 (MPEG 4)
 - MOV (Quicktime)
- Tabular data
 - XLS, XLSX (Excel Spreadsheet)
 - CSV (Comma separated values)

As with figure files, files should be given the standard file extensions.

Mini-websites

Small self-contained websites can be submitted as additional files, in such a way that they will be browsable from within the full text HTML version of the article. In order to do this, please follow these instructions:

1. Create a folder containing a starting file called index.html (or index.htm) in the root.
2. Put all files necessary for viewing the mini-website within the folder, or sub-folders.
3. Ensure that all links are relative (ie "images/picture.jpg" rather than "/images/picture.jpg" or "http://yourdomain.net/images/picture.jpg" or "C:\Documents and Settings\username\My Documents\mini-website\images\picture.jpg") and no link is longer than 255 characters.
4. Access the index.html file and browse around the mini-website, to ensure that the most commonly used browsers (Internet Explorer and Firefox) are able to view all parts of the mini-website without problems, it is ideal to check this on a different machine.
5. Compress the folder into a ZIP, check the file size is under 20 MB, ensure that index.html is in the root of the ZIP, and that the file has .zip extension, then submit as an additional file with your article.

Style and language

General

Currently, *Cardiovascular Diabetology* can only accept manuscripts written in English. Spelling should be US English or British English, but not a mixture.

There is no explicit limit on the length of articles submitted, but authors are encouraged to be concise.

Cardiovascular Diabetology will not edit submitted manuscripts for style or language; reviewers may advise rejection of a manuscript if it is compromised by grammatical errors. Authors are advised to write clearly and simply, and to have their article checked by colleagues before submission. In-house copyediting will be minimal. Non-native speakers of English may choose to make use of a copyediting service.

Help and advice on scientific writing

The abstract is one of the most important parts of a manuscript. For guidance, please visit our page on [Writing titles and abstracts for scientific articles](#).

Tim Albert has produced for BioMed Central a [list of tips](#) for writing a scientific manuscript. [American Scientist](#) also provides a list of resources for science writing. For more detailed guidance on preparing a manuscript and writing in English, please visit the [BioMed Central author academy](#).

Abbreviations

Abbreviations should be used as sparingly as possible. They should be defined when first used and a list of abbreviations can be provided following the main manuscript text.

Typography

- Please use double line spacing.
- Type the text unjustified, without hyphenating words at line breaks.
- Use hard returns only to end headings and paragraphs, not to rearrange lines.
- Capitalize only the first word, and proper nouns, in the title.
- All pages should be numbered.
- Use the *Cardiovascular Diabetology* [reference format](#).
- Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted.
- Please do not format the text in multiple columns.
- Greek and other special characters may be included. If you are unable to reproduce a particular special character, please type out the name of the symbol in full. **Please ensure that all special characters used are embedded in the text, otherwise they will be lost during conversion to PDF.**

Units

SI units should be used throughout (liter and molar are permitted, however).

& Diabetes Metabolism

Instructions for authors

"Diabetes & Metabolism" publishes studies on diabetes, metabolism or nutrition. We only consider contributions submitted in English, and presented according to the "Presentation of Manuscripts".

Contributions may be submitted in the form of:

- **Original articles** should not exceed 4 000 words, can include up to 6 tables and/or figures and a maximum of 40 references
- **Review papers** should not exceed 7 500 words, can include up to 8 tables and/or figures and up to 60 references
- **Letters to the editor** should not exceed 1 000 words, and up to 10 references
- **Brief reports** should not exceed 1 750 words plus one table or figure, and 15 references
- **Commentaries** should not exceed 1750 words plus one table or figure and up to 15 references.
- **Editorials**, are usually solicited by the editors, should not exceed 1 500 words plus one table, and 15 references

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

- Submitting an article via Internet

Brief overview of the EES system

New users can access the home page of *Diabetes & Metabolism* : <http://ees.elsevier.com/diabet/>. Click on "register" at the top of the screen and fill in the required information. You will receive confirmation of your registration together with your "username" and "password" by e-mail. Registration is required only on your first visit. On subsequent occasions, you only need to click on "login", then on "author login" to access the system directly.

Once you have been identified and have entered the system, to submit a manuscript, follow the instructions on the screen and enter the details required for the submission and then upload your files.

A single file is required for the title page, the manuscript text, the tables and the legends of the figures (refer to presentation of manuscripts).

Each figure (diagrams, drawings, and color or black and white photos) should be submitted in an individual file. Authors are invited to refer to the artwork quality instructions at: authors.elsevier.com/ArtworkInstructions.html?dc=AI1. Please contact our help service for authors with any technical problems: authorsupport@elsevier.com

PRESENTATION OF MANUSCRIPTS

• Cover letter

The cover letter must provide the address, telephone and fax number as well as the e-mail address of the corresponding author. It must include the following statement signed by all authors: *"We approve the submission of this paper to "Diabetes & Metabolism" for publication. We confirm that neither the manuscript submitted nor any part of it has been published or is being considered for publication elsewhere (abstracts < 300 words excepted). We confirm that the paper has been read and approved by all authors."*

• Typeface and line spacing in manuscript

Microsoft Word with Times New Roman font, character 12; line spacing 1.5.

• Abbreviations

Try to avoid using abbreviations. Any abbreviations should be defined: oral glucose tolerance test (OGTT). If necessary, a list of abbreviations can be provided.

• Title page

The title page should include:

- manuscript title without abbreviations;
- initials of first and middle names, and the last name of each author;
- name and address of department(s) and institution(s); if several institutions are involved, they must be identified with the corresponding author(s) by an **alphabetic letter** in superscript;
- a short running title of no more than 40 characters;
- address, e-mail, phone and fax number of the corresponding author.

• Summary/Abstract

Provide a summary with no more than 250 words, that includes four paragraphs: **Aim, Methods, Results, Conclusion**. At the end of the summary please provide up to five keywords. Do not use abbreviations in the Summary.

• Main text of the article

The manuscript should be divided into sections: **Introduction, Methods, Results, Discussion**.

• Acknowledgements and Funding

This should follow the main text.

• Conflict of interest section

In accordance with international practices concerning conflicts of interest, all submitted manuscripts must be accompanied by a declaration of conflict of interest.

A conflict of interest exists when an author or co-author has financial or personal interests with other persons or organisations that may influence his professional judgement concerning an essential factor (such as a patient's wellbeing or integrity of the research). The main conflicts of interest include financial interests, clinical trials, occasional business involvements and family connections.

All authors of the publication must declare all of the relationships they have had during the past 3 years that might be considered to have a potential conflict of interest **but only in connection with the published article**.

On submitting a manuscript electronically via EES, the completed declaration(s) must be included with the other components of the submitted article.

When the document(s) has not been sent along with the submitted manuscript, the following statement will be added to the published article:

Conflict of interest: the authors have not declared any conflicts of interest.

• References

Number references in brackets consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. References first cited in the legend of a table or a figure should be numbered in accordance with a sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. Articles in press may be quoted (cite the journal and add "in press" in parentheses); in this case, a copy of the manuscript must be provided with the manuscript.

Use the Vancouver style for references, as given below. For detailed information see Lancet 1979;1:428–31.

Standard Journal Article List all authors when six or fewer;

when seven or more, list only first six authors and add et al.:

Massin P, Aubert JP, Eschwege E, Erginay A, Bourovitch JC, Ben Mehidi A, et al. Evaluation of a screening program for diabetic retinopathy in a primary care setting Dodia (Dépistage ophtalmologique du diabète) study. *Diabetes Metab* 2005;31:153–62

Abstract in a journal supplement "Abstract" must be mentioned in brackets at the end of the reference, and the volume number must be followed by (suppl):

Bellanné-Chantelot C, Riveline JP, Larger E, Valéro R, Gautier JF, Ducluzeau Ph, et al. Description phénotypique du diabète MODY3 à partir de l'analyse rétrospective de 89 cas. (Abstract) *Diabetes Metab* 2005;31 (suppl 1):1S17 [Abstract]

Chapter in a book (the authors are the editors)

Marks V, Rose RC, eds. *Hypoglycaemia*. Oxford: Blackwell 1965, 240–58

Chapter in a book (the authors are not the editors)

Loubatières A. Pharmacological aspects of insulin secretion. In: Rodriguez RR, Vallance-Owen J, eds. *Diabetes*. Proc 7th Congress Internat Diabetes Fed. Amsterdam: Excerpta Medica 1971,137–58

• Legends of Figures

The legends corresponding to each figure should be given on a separate page, after the references. The figures should be numbered with arabic numerals.

• Tables

Tables should be numbered with arabic numerals.

• Figures

Each figure must be provided in a separate document. If an already published illustration is used in a manuscript, written authorization is required from the author or authors of that illustration.

• Supplementary Tables and Figures

In the case where additional detailed information is needed to support the manuscript, and 6 tables/figures are not adequate, these results can be made available in electronic format.

DIABETES AND METABOLISM REVIEWING AND PRODUCTION

Articles will be reviewed, and a manuscript may be refused, require extensive revisions, or be acceptable with minor revisions. If the article requires revision, the authors must resubmit a revised manuscript within one month.

Once the article is accepted for publication, it will be edited, and the proofs will be sent as a PDF to the author for corrections, along with possible questions from the editor. Corrections are limited to typographical errors. Authors are responsible for returning the corrected proofs to the publisher within 48 hours of reception at all times of the year. In the case of delay, the publisher reserves the right to print the manuscript without the author's corrections.

The corresponding author will be asked to complete a form for the transfer of copyright. This should be completed and signed by the corresponding on behalf of all the authors and returned to the publisher.

The corresponding author will receive an order form where he can order reprints. He will receive a PDF of the published article.

After publication, all requests for reproduction should be addressed to the publisher.