



Naiara Maria de Souza

**DINÂMICA NÃO LINEAR DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA EM JOVENS COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

Presidente Prudente

2013

Naiara Maria de Souza

**DINÂMICA NÃO LINEAR DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA EM JOVENS COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências e Tecnologia – FTC/UNESP, campus de Presidente Prudente, Área de Concentração “Avaliação e Intervenção em Fisioterapia” como requisito para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei.

Presidente Prudente

2013

Souza, Naiara Maria de.

S716d Dinâmica não linear da frequência cardíaca em jovens com diabetes *mellitus* tipo 1
/ Naiara Maria de Souza. - Presidente Prudente : [s.n.], 2013

110 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. Dinâmica não linear. I.
Vanderlei, Luiz Carlos Marques. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Ciências e Tecnologia. III. Título.

BANCA EXAMINADORA

Luiz Carlos Marques Vanderlei

PROF. DR. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
(ORIENTADOR)

Manuela Loureiro Ferreira

PROFA. DRA. MANUELA LOUREIRO FERREIRA
(UNIVERSITY OF SIDNEY)

Francis Lopes Pacagnelli

PROFA. DRA. FRANCIS LOPES PACAGNELLI
(UNOESTE)

Naiara Maria de Souza

NAIARA MARIA DE SOUZA

PRESIDENTE PRUDENTE (SP), 13 DE DEZEMBRO DE 2013.

RESULTADO: Aprovada

*Toda minha dedicação e esforços são para meus exemplos de vida, amor,
caráter e índole, meus pais Aguinaldo e Marley.*

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pelo o caminho que me guiou, pois por meio deste consegui alcançar todos os objetos, inclusive os objetivos de escolher a profissão certa e as pessoas com quem iria aprender e percorrer essa etapa importantíssima da minha vida. Obrigada Senhor.

Além disso, Deus me deu um presente eterno, e esse presente é uma das provas diárias que eu sei que Ele existe, que é o fato ter me dado a oportunidade de ser filha do Aguinaldo Robinson de Souza e da Marley Boleta de Souza. Eles são os maiores exemplos da minha vida, e quero levar seus ensinamentos comigo sempre! Obrigada por tudo! Amo profundamente vocês.

Obrigada a todos meus familiares, principalmente ao Francis, Monique, Joãozinho, Irma, Diva e Valdomiro, vocês são meu porto seguro e sei que parte do que sou hoje tem um pedaço de todos vocês. Obrigada por todo apoio, carinho, ensinamentos e incentivos.

Outra pessoa que agradeço imensamente, que me apoiou e lutou junto comigo numa das etapas mais difíceis, que me fazia estudar em todos os dias, que me acalmava nos momentos de pânico e que sabe o quanto foi difícil fazer a especialização e o mestrado juntos, o meu noivo Vinícius. Obrigada por todo amor meu.

Além da minha família, uma pessoa que cuidou dos meus caminhos foi o professor Luiz Carlos Marques Vanderlei. A ele dedico meus sinceros agradecimentos, pois sei que estive em ótimas mãos, que me orientaram durante o processo de especialização e mestrado e acredito, fortemente, que passei por TODAS as etapas que uma pessoa deve passar ao cursar o mestrado e assim aprender como ser um verdadeiro profissional no meio acadêmico. Muito obrigada também pela oportunidade e de acreditar e apostar em mim.

Apesar de todo o apoio do professor e da minha família, eu não chegaria onde estou se não fosse pela força que minhas amadas amigas prudentinas, acreditem, vocês facilitaram muito a jornada. Na verdade, sem vocês eu não chegaria nem na metade da jornada!! Sem o incentivo de vocês eu não sairia do lugar, em muitos casos isso é literal!!! Muito obrigada maravilhosas por serem amigas, confidentes, mães e irmãs Marianne, Regiane, Aline, Renata, Anne e Rafaela.

Agradeço também a todos os integrantes do laboratório de fisiologia do estresse, o qual foi meu principal endereço durante todo o processo, portanto, todos que passaram por lá me ajudaram, de algum modo, a crescer tanto profissional quanto pessoalmente. Muito obrigada especialmente a Ana Clara, Tallita, Rayana.

Além dessas integrantes do laboratório, existem três pessoas que eu tive a oportunidade de ajudar a construir seus trabalhos de graduação, e por meio destes, pude acompanhar o crescimento de verdadeiras profissionais na área da saúde. São esforçadas e exemplos de alunas, as quais chamo, no melhor sentido da expressão, de “minhas filhas”, meus agradecimentos Thais, Camila e Talys.

Agradeço ainda a todas as pessoas que facilitaram meu contato com os voluntários recrutados. MUITÍSSIMO obrigada a todas as pessoas que coordenam os postos de saúde de Presidente Prudente e ao hospital HR, principalmente a professora Francis; obrigada a associações de diabetes de Bauru, Botucatu, Santa Barbara, Americana, Ribeirão Preto e Ourinhos.

E ofereço a vocês, voluntários avaliados, os meus sinceros agradecimentos. Espero, realmente, que vocês entendam o quanto foi grande a participação de vocês nesse estudo! Obrigada por serem interessados em colaborar, em muitos casos sem nem entender direito o que realmente seria feito, mas mesmo assim compreendiam o quanto isso era importante.

Obrigada a todos meus professores desde a graduação como todos os professores do mestrado, em especial a Patrícia, Zeca, Marcelo e Papoti. Agradeço ainda os funcionários da FCT, principalmente ao André, da sessão da pós, que estava sempre disposto a ajudar e resolver os problemas.

Gostaria ainda de agradecer as pessoas que em algum momento de toda essa jornada estiveram do meu lado, me apoiando e acreditando que eu seria capaz, muito obrigada a Ariane, Gleydson, Ungaro, Bruno Cesar, Érika, Camila, Suzi, Arthur, Jamile e Mayara. E ao Warlen ... obrigada por ser meu ponto de equilíbrio, minha referência, por ser a pessoa por quem meu amor e carinho são incondicionais, você é essencial.

Por fim agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro, e a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Epigrafe

*“Não conheço missão maior e mais nobre que a de dirigir as inteligências jovens
e preparar os homens do futuro”.*

D. Pedro II.

SUMÁRIO

1. Apresentação	13
2. Resumo	16
3. Abstract	19
4. Introdução.....	22
a. Artigo I.....	27
b. Artigo II.....	56
5. Conclusões.....	83
6. Referências	85
7. Anexos.....	89
a. Normas da revista “ Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases”	90
b. Normas da revista “Journal of Diabetes and its Complication	100

Em concordância com as normas do modelo alternativo do Programa de Pós Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Ciência e Tecnologia – FCT/UNESP, a presente dissertação é composta por uma introdução, dois artigos científicos, conclusões e referências bibliográficas.

O primeiro artigo é um estudo transversal intitulado “**Índices geométricos da variabilidade da frequência cardíaca de jovens diabéticos tipo 1**”, apresentado segundo as normas da Revista Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases e o segundo artigo, também um estudo transversal, intitulado “**Dinâmica não linear do sistema nervoso autônomo de jovens diabéticos tipo 1 por meio da análise do plot de recorrência**”, apresentado de acordo com as normas da revista Journal of Diabetes and its Complications.

Ambos os artigos foram desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia do Estresse e no Centro de Estudos e Atendimento em Fisioterapia e Reabilitação da Faculdade de Ciência e Tecnologia FCT-UNESP.

O primeiro artigo, intitulado “**Índices geométricos da variabilidade da frequência cardíaca de jovens diabéticos tipo 1**”, teve por objetivo comparar índices da VFC obtidos por meio de métodos geométricos, entre jovens com diabetes mellitus tipo 1 e jovens saudáveis, associados a análise de índices obtidos no domínio do tempo e da frequência, além de verificar se há correlações entre os índices geométricos e os obtidos pelo domínio do tempo e da frequência dos indivíduos diabéticos.

Já o segundo artigo, intitulado “**Dinâmica não linear do sistema nervoso autônomo de jovens diabéticos tipo 1 por meio da análise do plot de recorrência**”, objetivou comparar a modulação autonômica em repouso de indivíduos jovens portadores de diabetes mellitus tipo 1 com indivíduos

saudáveis por meio da análise qualitativa e quantitativa dos índices obtidos pelo plot de recorrência juntamente com índices obtidos por métodos lineares.

Contextualização: A utilização de métodos lineares da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), para avaliar a modulação autonômica em indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 (DM1) apresentam resultados controversos e os estudos que utilizam métodos não lineares são escassos e inconclusivos, apesar desses métodos serem mais representativos da condição fisiológica do sistema nervoso autônomo (SNA). **Objetivos:** Comparar a modulação autonômica entre indivíduos jovens com DM1 e saudáveis, por meio de métodos não lineares de VFC (*plot* de Recorrência [PR] e *plot* de Poincaré), associados a índices obtidos por meio de métodos geométricos e lineares (domínio do tempo e da frequência). **Métodos:** Foram analisados dados de 43 voluntários com idade entre 18 a 30 anos (20 com DM1 e 23 saudáveis) de ambos os gêneros. Todos os voluntários foram submetidos a uma anamnese, avaliação física e avaliação autonômica. Para análise da VFC, a frequência cardíaca foi captada batimento a batimento, com os voluntários em decúbito dorsal por 30 minutos, e um trecho com 1000 intervalos RR foi utilizado para obtenção dos índices: taxa de recorrência (REC), determinismo (DET) e entropia de Shanon (ES), derivados do PR; SD1, SD2 e SD1/SD2, obtidos do *plot* de Poincaré; RRtri e TINN, representativos dos índices geométricos; RMSSD, SDNN, LF e HF, em ms² e em unidades normalizadas, e a relação LF/HF, derivados de métodos lineares. As análises visuais de ambos os *plots* também foram realizadas. Para comparação entre os grupos foi utilizado teste t de Student para dados não pareados ou o teste de Mann-Whitney, de acordo com a normalidade dos dados. Para avaliar correlações entre os índices, correlações de Pearson ou Spearman foram utilizados. O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes. **Resultados:** Para os índices derivados de métodos não lineares, houve

diferença estatisticamente significativa, com valores menores para os indivíduos DM1 em relação aos saudáveis dos índices: DET % ($96,14 \pm 1,56$ vs. $97,13 \pm 0,92$), REC % ($19,65 \pm 5,44$ vs. $23,56 \pm 4,68$), ES bits ($4,06 \pm 0,32$ vs. $4,31 \pm 0,29$), SD1 ms ($28,98 \pm 19,76$ vs $42,99 \pm 16,05$) e SD2 ms ($58,00 \pm 32,47$ vs $92,21 \pm 26,29$). A análise visual dos *plots* mostrou menor dispersão dos intervalos RR no *plot* de Poincaré e um PR com menor quadrados e linhas aparentes, indicando redução da complexidade do sistema nervoso autônomo para os indivíduos DM1. As análises dos índices geométricos e dos obtidos por métodos lineares indicam redução da VFC global e da atividade tanto simpática quanto parassimpática do sistema nervoso autônomo (SNA). Foram observadas ainda correlações fortes dos índices geométricos com os obtidos no domínio do tempo e da frequência. **Conclusão:** Indivíduos com DM1 apresentam redução da complexidade de atuação do SNA, redução da VFC global e menor atuação tanto na atividade simpática quanto parassimpática do SNA.

Background: The use of linear methods of heart rate variability (HRV) to assess autonomic modulation in subjects with type 1 diabetes mellitus (T1DM) is controversial and studies using non-linear methods are scarce and inconclusive.

Aims: To compare the autonomic modulation in young type 1 diabetic and healthy through non-linear methods of HRV (Recurrence *plot* [RP] and Poincaré *plot*), associated with indexes obtained by geometrical and linear methods (time domain and frequency).

Methods: We analyzed data from 43 young volunteers (20 with T1DM and 23 healthy) of both genders. All subjects underwent a medical history, physical assessment and autonomic evaluation. For analysis of HRV, heart rate was recorded beat to beat, with volunteers in the supine position for 30 minutes, and a stretch of 1000 RR intervals was used to obtain the indexes: recurrence rate (REC), determinism (DET) and Shannon entropy (SE) derived from RP; SD1, SD2 and SD1/SD2 obtained by *plot* Poincaré; RRtri and TINN, representing the geometric indexes; RMSSD, SDNN, LF and HF, in ms² and in standard units, and LF / HF ratio, derived from linear methods. The visual analyses of both plots were also performed. For comparison between groups we used Student's t test for unpaired data or the Mann-Whitney test, according to the normality of the data. To evaluate correlations between the indexes, Pearson or Spearman correlations were used. The level of significance was set at 5% for all tests.

Results: For those indices derived from non-linear methods, a statistically significant difference was found, with lower values for individuals T1DM compared to healthy for these indexes: DET% (96.14 ± 1.56 vs. 97.13 ± 0.92), REC% (19.65 ± 5.44 vs. 23.56 ± 4.68), ES bits (4.06 ± 0.32 vs. 4.31 ± 0.29), SD1 ms (28.98 ± 19.76 vs 42.99 ± 16.05) ms and SD2 (58.00 ± 32.47 vs 92.21 ± 26.29). The visual analysis of *plots* showed less dispersion of RR

intervals in the Poincaré *plot* and a RP with less square and lines apparent, indicating a reduction of the complexity of the autonomic nervous system for T1DM individuals. The analysis of geometric indexes and those obtained by linear methods indicate reduced of overall HRV and both sympathetic and parasympathetic activity of the ANS. Strong correlations were observed between the geometrical indexes and those obtained in the time domain and frequency.

Conclusion: Individuals with T1DM showed reduction the complexity of ANS action, reduction of overall performance of HRV and lower sympathetic and parasympathetic activity.

A Organização Mundial de Saúde define a diabetes mellitus (DM) como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou incapacidade desta exercer adequadamente suas ações. É caracterizada pela hiperglicemia crônica e por alterações no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. Sua epidemiologia mundial é superior a 366 milhões de pessoas, e a maior parte dos casos de diabetes enquadra-se dentro de duas categorias etiopatogenéticas: o diabetes tipo 1 (DM1) e diabetes tipo 2 (DM2)^{1, 2}.

A DM1 é uma doença autoimune, resultado da destruição das células beta pancreáticas por uma alteração genética que leva a deficiência na secreção de insulina, enquanto que, a DM2 tem como causa uma combinação de resistência à ação da insulina e uma resposta metabólica compensatória inadequada à secreção da mesma^{1, 3}.

A DM pode estar associada a múltiplas complicações decorrentes de alterações micro e macro vasculares que levam à disfunção e insuficiência em diferentes órgãos^{4, 5}. Entre as mais comuns destaca-se a neuropatia autonômica diabética (NAD), a qual atinge mais de cinquenta por cento da população diabética e mesmo assim é pouco reconhecida e entendida apesar dos prejuízos que ela produz⁶, sendo a neuropatia autonômica cardiovascular (NAC), a forma clínica mais importante da NAD^{7, 8}.

A NAC provoca danos às fibras nervosas autonômicas que inervam o coração e vasos sanguíneos, resultando em manifestações clínicas que incluem taquicardia em repouso, intolerância ao exercício, hipotensão ortostática, infarto agudo do miocárdio silencioso, disfunção erétil e disfunção sudorípara, diminuição da sensibilidade dos reflexos autonômicos, além de aumentar o risco da mortalidade e reduzir a expectativa de vida nos portadores dessa doença^{7, 8}.

Nesse contexto, destaca-se a importância de se avaliar a função do sistema nervoso autônomo (SNA) nos indivíduos com DM, o que pode ser feito por meio da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), uma ferramenta simples e não invasiva que descreve as oscilações dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), que estão relacionadas às influências do SNA sobre o nódulo sinusal^{9, 10}.

A VFC pode ser analisada por meio de métodos lineares e não lineares. Os métodos lineares são analisados nos domínios do tempo e da frequência, enquanto que, os métodos não lineares são baseados na teoria de caos¹¹. Os métodos não lineares descrevem as flutuações complexas do ritmo mais adequadamente do que os métodos lineares¹³, pois a teoria do caos apresenta algumas características que são condizentes as encontradas no organismo humano, assim essas análises permitem uma melhor avaliação da condição do SNA e discriminação entre uma pessoa com fisiologia normal ou alterada¹²⁻¹⁴.

Nesse contexto nota-se a importância de realizar análises não lineares, já que os métodos convencionais de avaliação, nos domínios do tempo e da frequência, são insuficientes para representar fenômenos fisiológicos adequadamente¹⁵. Além disso, os métodos não lineares são capazes de detectar alterações autonômicas com maior sensibilidade e são promissores no sentido de contribuir com a caracterização da modulação autonômica nesses indivíduos¹⁶.

Estudos que utilizam a VFC, para avaliar o SNA de indivíduos com DM apresentam resultados inconclusivos. Alguns estudos apontam que índices da VFC são reduzidos nessa população^{15, 17, 18}, porém outro estudo aponta que esses índices estão elevados para indivíduos diabéticos em relação aos

indivíduos saudáveis¹⁹. Além disso, são escassos os trabalhos que abordam por meio de análises não lineares as alterações na dinâmica do comportamento da frequência cardíaca desses indivíduos, e, os estudos existentes indicam perda da complexidade do SNA apenas para alguns índices^{14, 20, 21}.

Dentre os diversos métodos de análise não linear da VFC podemos destacar os *plots* de Poincaré e de recorrência (PR). O *plot* de Poincaré é construído pela plotagem de cada intervalo R-R em função do intervalo seguinte e mostra dados do desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento-a-batimento, representado pelo índice SD1 (marcador da modulação parassimpática), e a longo prazo de intervalos R-R contínuos, representado pelo índice SD2 (caracterizado como marcador da modulação parassimpática e simpática)^{9, 22}. A relação SD1/SD2 pode ser também calculada e representa a razão entre a curta e longa variação dos intervalos R-R⁹.

Além desta análise quantitativa, o *plot* de Poincaré pode também ser analisado de forma qualitativa, sendo esta uma análise considerada por alguns autores como baseada na teoria do caos²³⁻²⁵. Essa análise é feita por meio da avaliação da figura formada pelo seu atrator, a qual permite avaliar a dispersão dos intervalos RR ao longo do tempo e analisar a complexidade do SNA²⁶.

O PR é a representação gráfica da repetição de um estado em um período de tempo e apresenta índices como a taxa de recorrência (REC), o determinismo (DET) e a entropia de Shanno (ES) que são utilizados para quantificar e caracterizar a complexidade de um sistema dinâmico^{16, 27, 28}. Condições de anormalidades, na dinâmica do SNA, produzem alterações nos valores dos índices obtidos do PR e sua representação gráfica^{29, 30}.

Diante do exposto e levando em consideração que a DM produz alterações no comportamento do SNA capazes de influenciar a atuação de diversos sistemas e aumentar a taxa de morbidade e mortalidade^{18, 31} investigar a dinâmica do SNA é de fundamental importância. Informações dessa natureza podem contribuir para melhores condições de estratificação de risco, elaboração de programas preventivos e novas estratégias de acompanhamento e tratamentos para a população diabética. Além disso, devido a alta prevalência da DM e sua possível evolução para complicações que geram altos gastos públicos, esse tipo de abordagem vai de encontro a um problemas de saúde publica, tanto em âmbito nacional quanto mundial.

Nesse contexto, a presente dissertação foi elaborada com objetivo de avaliar a influência da DM1 sobre a modulação autonômica, por meio de índices não lineares da VFC (*plot* de Poincaré e PR), associado à análise de índices lineares obtidos nos domínios do tempo (RMSSD e SDNN) e da frequência (LF, HF e relação LF/HF) e índices geométricos (índice triangular [RRtri] e interpolação triangular dos intervalos RR [TINN]).

ÍNDICES GEOMÉTRICOS DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE JOVENS DIABÉTICOS TIPO 1

Souza NM^a, Bonora TNH^a, Vitor ALR^a, Bernardo AFB^a, Pacagnelli FL^b, Pastre CM^a, Vanderlei LCM^a.

^aUniversidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

^bUniversidade do Oeste Paulista – UNOEST, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

Endereço de correspondência: Departamento de fisioterapia, Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP, Roberto Simonsen, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

E-mail: naiara_bs@live.com

RESUMO

Contextualização e objetivos: A maioria dos estudos que avaliam a modulação autonômica em diabetes mellitus tipo 1 (DM1), por meio da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), foram realizados por métodos lineares no domínio do tempo e da frequência. Comparar a modulação autonômica entre indivíduos jovens com DM1 (n=20) e saudáveis (n= 23), por meio de índices geométricos da VFC, associado a índices lineares (domínios do tempo e da frequência) e verificar se há correlações entre os índices geométricos e os obtidos pelo domínio do tempo e da frequência dos indivíduos diabéticos. Métodos e resultados: A frequência cardíaca foi captada batimento a batimento com os voluntários em decúbito dorsal por 30 minutos. Foram calculados os índices: RRtri, TINN, *plot* de Poincaré, SD1, SD2, SD1/SD2, RMSSD, SDNN, LF e HF em ms² e em un e a relação LF/HF. Análise visual do *plot* de Poincaré também foi realizada. Foram utilizados testes t de Student e de Mann-Whitney, de acordo com a normalidade, para dados não pareados, e para as correlações dos índices foram utilizados os teste de correlação de Pearson ou Spearman, de acordo com a normalidade dos dados, com nível de significância de 5%. Reduções significantes dos índices SD1 (28,98 ± 19,76 vs 42,99 ± 16,05), SD2 (58,00 ± 32,47 vs 92,21 ± 26,29), RRtri (12,81 ± 6,71 vs 18,02 ± 4,12), RMSSD (40,95 ± 27,91 vs 60,75 ± 22,70), SDNN (46,08 ± 26,45 vs 72,45 ± 19,99) e LF (894,00 ± 1238,6 vs 1269,9 ± 760,19) e HF (901,65 ± 1220,8 vs 1446,5 ± 947,48) em ms², foram observados em portadores de DM1. O plot de Poincaré mostrou menor dispersão dos intervalos RR para o grupo DM1, indicando perda da complexidade do sistema nervoso autônomo (SNA) e ainda foram observados

correlações fortes dos índices geométricos com os obtidos no domínio do tempo e da frequência. Conclusão: Jovens com DM1 apresentam redução tanto do componente simpático quanto parassimpático do SNA, além dos índices geométricos apresentarem fortes correlações com os índices do domínio do tempo e da frequência.

Palavras Chaves: Diabetes mellitus tipo 1, sistema nervoso autônomo, dinâmica não linear, frequência cardíaca e adulto jovem.

INTRODUÇÃO

A neuropatia autonômica cardiovascular (NAC) é uma das complicações mais importantes do quadro de diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1)⁽¹⁾, pois acomete as fibras nervosas autonômicas exercendo influência na maioria das funções internas do organismo, como anormalidades no controle da frequência cardíaca e dinâmica vascular^(2, 3) e aumento da taxa de mortalidade^(4, 5).

Alterações na modulação autonômica foram descritas em indivíduos diabéticos por meio da variabilidade da frequência cardíaca (VFC)⁽⁶⁻⁹⁾, uma medida não invasiva, que descreve as oscilações entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR), que estão relacionadas às influências do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o nodo sinusal^(10, 11).

A maioria dos estudos que avaliam a modulação autonômica por meio da VFC foram realizados com portadores de diabetes *mellitus* tipo 2^(9, 12-15), os quais em geral apresentam doenças associadas⁽¹²⁾ que podem interferir na interpretação dos resultados da modulação autonômica, e utilizam métodos lineares no domínio do tempo e da frequência para esta avaliação^(14, 15).

Considerando que os métodos de análise lineares da VFC apresentam algumas limitações, como exigências estacionárias e apresentam mais sensibilidade a interferências e batimentos ectopicos⁽¹⁶⁾, as análises não lineares, baseadas na teoria do caos, vêm ganhando crescente interesse no meio acadêmico, pois possibilitam uma análise mais representativa da condição fisiológica do SNA⁽⁶⁾. Nesse contexto, o *plot* de Poincaré, um método que permite analisar a modulação autonômica de forma geométrica e não linear devido a sua análise qualitativa⁽¹⁶⁻¹⁸⁾, têm se destacado. Estudo prévio em pacientes diabéticos tipo 2, que avaliou a VFC por diferentes métodos,

demonstrou que os métodos geométricos são mais sensíveis para verificar a presença da doença autonômica diabética⁽¹⁹⁾.

Considerando esses aspectos, levanta-se a hipótese de que métodos geométricos podem também identificar alterações autonômicas em portadores de DM1 em comparação a indivíduos saudáveis. Os achados desse estudo podem auxiliar na compreensão das alterações que a DM1 promove no SNA de indivíduos jovens e contribuir para que intervenções possam ser mais efetivas e direcionadas às alterações do SNA.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivos: comparar índices de VFC obtidos por meio de métodos geométricos (RRtri, TINN e *plot* de Poincaré – SD1, SD2 e SD1/SD2) entre jovens com DM1 e jovens saudáveis, associados a análise de índices obtidos no domínio do tempo (RMSSD e SDNN) e da frequência (LF, HF em ms² e em um e LF/HF); 2) e verificar se há correlações entre os índices geométricos e os obtidos pelo domínio do tempo e da frequência dos indivíduos diabéticos.

MÉTODOS

Desenho do estudo

Estudo de caráter transversal, controlado, não aleatorizado e aberto, cujos procedimentos adotados não permitiam influencia do avaliador ou do avaliado.

Casuística

Para a realização deste estudo foram analisados dados de 43 voluntários adultos jovens de ambos os sexos, os quais foram divididos em dois grupos distintos: grupo diabético, composto por 20 voluntários com DM1 (9 homens e 11 mulheres) com média de idade de $22,05 \pm 4,35$ anos e tempo de diagnóstico de DM1 de $10,60 \pm 4,81$ anos, e grupo controle, constituído por 23 voluntários saudáveis (15 homens e 8 mulheres) com média de idade de $21,69 \pm 2,42$ anos. A seleção dos indivíduos saudáveis foi pareada de acordo com as características físicas e clínicas dos voluntários diabéticos.

Todos os voluntários do grupo controle foram encontrados em âmbito universitário da cidade de Presidente Prudente, já os indivíduos do grupo diabetes foram encontrados em diversos centros de saúde e associações de diabetes de diversas cidades do interior do estado de São Paulo, Brasil.

Como critérios de inclusão foram adotados: ausência de doenças do sistema cardiorrespiratório conhecidas e do uso de medicamentos que influenciassem a atividade autonômica do coração, não-tabagistas e não-etilistas. Os voluntários foram devidamente informados sobre os procedimentos e objetivos deste estudo, e após concordarem, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética da Instituição (Proc. nº 47/2011) e seguiram as normas estabelecidas pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Procedimentos

Todos os voluntários foram submetidos a um protocolo de avaliação composto por três etapas: identificação, avaliação física e avaliação autonômica.

Inicialmente os voluntários foram identificados coletando-se as seguintes informações: idade, sexo, sinais e sintomas decorrentes da diabetes, uso de terapia medicamentosa e avaliação do nível de atividade física, mensurado pelo IPAQ⁽²⁰⁾. A seguir foram realizadas as avaliações físicas (avaliação antropométrica, mensuração de frequência cardíaca e pressão arterial em repouso), em seguida, foi realizada a avaliação autonômica.

Todas as avaliações foram realizadas por um dos quatro pesquisadores previamente treinados para adotarem os mesmo procedimentos, em uma sala com temperatura de $23,87 \pm 2,54^{\circ}\text{C}$ e umidade de $54,22 \pm 8,51\%$, em ambiente calmo e com controle de circulação de pessoas e de barulhos externos. Todas as avaliações foram realizadas no período da tarde, entre 13h e 17h, para evitar as influências circadianas.

Avaliação física

Na avaliação antropométrica foram coletadas a massa e estatura, para obtenção do índice de massa corporal (IMC), e as circunferências da cintura e do quadril, para obtenção da relação cintura/quadril (C/Q).

A massa corporal foi obtida por meio da medida em balança digital (Welmy R/I 200, Brasil) com os voluntários usando roupas leves e sem calçados. A estatura foi mensurada usando um estadiômetro (Sanny, Brasil). A partir das medidas de massa corporal e estatura foi calculado o IMC utilizando-se a fórmula da massa do indivíduo (quilogramas) dividida pela sua altura (metros) ao quadrado⁽²¹⁾.

Para a mensuração das circunferências da cintura e quadril foi utilizada uma fita métrica flexível (Sanny, Brasil), sendo a medida da cintura realizada

sobre o abdome despido no ponto mais estreito entre a última costela e a borda superior da crista ilíaca ântero-superior e a do quadril foi medida ao nível do maior diâmetro em torno das nádegas. Estes valores permitiu o cálculo da relação cintura/quadril⁽²²⁾.

A mensuração da frequência cardíaca foi feita por meio da palpação da arterial braquial por um minuto e a pressão arterial foi verificada de forma indireta utilizado estetoscópio (Littman, Saint Paul, USA) e esfigmomanômetro aneróide (Welch Allyn - Tycos, New York, USA) no braço esquerdo do voluntário, seguindo as recomendações estabelecidas pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial⁽²³⁾.

Avaliação autonômica

Para avaliação autonômica os voluntários foram previamente orientados a não consumir, durante o período de 24 horas prévias à avaliação, bebidas alcoólicas e/ou estimulantes do SNA como café, chá e achocolatados e atividade física intensa.

Após a explicação dos procedimentos necessários para a coleta de dados, foi posicionada no terço distal do esterno uma cinta de captação e, no pulso, 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 na análise dos índices de VFC^(24, 25). Após a colocação desses instrumentos, os voluntários foram colocados em decúbito dorsal em uma maca e instruídos a manter-se em silêncio, acordados e em repouso com respiração espontânea por 30 minutos.

Para análise dos índices da VFC, a frequência cardíaca foi registrada batimento a batimento durante toda a avaliação autonômica pelo cardiofrequencímetro Polar S810i com uma taxa de amostragem de 1000 Hz. Para análise dos dados foram selecionados 1000 intervalos RR consecutivos após ter sido feita filtragem digital complementada por manual, para eliminação de batimentos ectópicos prematuros e artefatos, e somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo⁽²⁶⁾.

Análise dos índices de variabilidade da frequência cardíaca

A análise da VFC foi realizada por meio dos métodos geométricos (RRtri, TINN e *plot* de poincaré – SD1, SD2 e SD1/SD2) como também dos índices do domínio do tempo (RMSSD e SDNN) e da frequência (LF, HF em ms² e em un e LF/HF).

Os índices RRtri e o TINN foram calculados a partir da construção do histograma de densidade dos RR normais, o qual mostra no eixo horizontal (eixo x) todos os possíveis valores dos intervalos RR e no eixo vertical (eixo y) a frequência com que cada um deles ocorreu⁽¹⁷⁾.

O RRtri consiste na integral do histograma (número total de intervalos RR) dividida pelo máximo da distribuição de densidade (frequência modal dos intervalos RR), mensurado em uma escala discreta com caixas de 7.8125 ms (1/128 segundos), enquanto que o TINN (interpolação triangular de histograma de intervalos NN) consiste na largura da linha de base da distribuição, medida como a base de um triângulo, sendo o erro dos mínimos quadrados utilizado na determinação do triângulo⁽²⁷⁾.

O *plot* de Poincaré é uma representação gráfica bidimensional da correlação entre intervalos RR consecutivos, em que cada intervalo é plotado contra o próximo intervalo formando uma figura que possibilita a extração dos índices SD1, SD2 e relação SD1/SD2, além da análise qualitativa do seu atrator⁽²⁸⁾.

O índice SD1 representa a dispersão dos pontos perpendiculares à linha de identidade, sendo considerado um índice de registro instantâneo da variabilidade batimento a batimento, ou seja, representativo da atuação do ramo parassimpático. Já o índice SD2 representa a dispersão dos pontos ao longo da linha de identidade e representa a VFC em registros de longa duração, possibilitando assim a análise da atuação conjunta dos ramos simpático e parassimpático. A relação SD1/SD2 representa a razão entre as variações curtas e longas dos intervalos RR⁽¹⁰⁾.

A análise qualitativa do *plot* foi feita por meio da análise das figuras formadas pelo seu atrator, as quais foram descritas por Tulppo et al⁽²⁹⁾: I) figura na qual um aumento na dispersão dos intervalos RR é observada com aumento nos intervalos, característica de um *plot* normal; II) figura com pequena dispersão global batimento a batimento e sem aumento da dispersão dos intervalos RR a longo prazo, característica de um *plot* com menor variabilidade. Todas as figuras foram analisadas por apenas um avaliador.

Em relação aos índices no domínio do tempo foram calculados o RMSSD e o SDNN. O índice RMSSD representa a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes e o SDNN o desvio padrão de todos os intervalos RR normais, gravados em um intervalo de tempo^(10, 13). A análise realizada no domínio da frequência foi calculada utilizando

o algoritmo da Transformada Rápida de Fourier. Foram utilizados os componentes espectrais de baixa frequência (LF: 0,04 – 0,15 Hz) e de alta frequência (HF: 0,15 – 0,40 Hz), em ms^2 e em unidades normalizadas (un), e a razão entre esses componentes (relação LF/HF)⁽¹⁰⁾.

O software HRV analysis – versão 2.0 (Kubios, Biosignal Analysis and Medical Image Group, Department of Physics, University of Kuopio, Finlândia) foi utilizado para obtenção desses índices⁽³⁰⁾.

Análise estatística

Para comparação das características e dos índices da VFC entre os grupos, inicialmente foi determinada a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk. Para as variáveis em que a distribuição normal foi aceita, o teste t de Student para dados não pareados foi aplicado (massa corporal, estatura, C/Q, PAS, PAD, FC, LF e HF em un, TINN e SD1/SD2). Para as variáveis onde a distribuição normal não foi aceita (IMC, idade, LF e HF em ms^2 , LF/HF, RMSSD, SDNN, RRtri, SD1 e SD2) foi aplicado o teste de Mann-Whitney.

A existência de correlação entre os índices geométricos e os obtidos nos domínios do tempo e frequência do grupo diabetes foi testada pela correlação de Pearson quando a distribuição normal dos dados foi aceita (LF e HF em un, TINN e SD1/SD2) ou correlação de Spearman quando a distribuição normal não foi aceita (SDNN, RMSSD, LFms, HFms, LF/HF, RRtri, SD1 e SD2). De acordo com a classificação de magnitude de correlação, os coeficientes de correlação, valores de r , que se apresentaram entre $\pm 0,60$ e $\pm 0,79$ foram considerados de forte correlação e os valores acima de $\pm 0,80$ de muito forte correlação.

Todos os testes foram considerados estatisticamente significantes quando o valor de “p” foi menor que 0,05.

RESULTADOS

As características antropométricas dos grupos controle e diabético estão apresentadas na tabela 01. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para essas variáveis, mostrando assim a homogeneidade dos mesmos.

Inserir Tabela 1

Todos os voluntários do grupo diabético são insulínod dependentes e quatro voluntários (20%) utilizam medicação para controle da pressão arterial, um (5%) para distúrbios da tireóide, dois (10%) para sintomas de neuropatia periférica e dois (10%) fazem uso de anticoncepcional. Em relação as comorbidades existentes, cada grupo é composto por dois voluntários classificados como grau I de obesidade⁽²¹⁾.

A tabela 02 apresenta os valores dos índices da VFC no domínio do tempo e da frequência. Observa-se redução dos índices LF e HF em ms², RMSSD e SDNN para o grupo diabético em comparação ao grupo controle.

Inserir Tabela 2

Os valores dos índices geométricos da VFC podem ser observados na tabela 3. Nota-se que os índices RRtri, SD1 e SD2 foram menores para os voluntários do grupo diabético em comparação ao grupo controle.

Inserir Tabela 3

A figura 01 representa exemplos de padrões do *plot* de Poincaré para voluntários do grupo controle e diabético. Para a escolha do *plot*, foram selecionados os voluntários que apresentaram valores de SD1 e SD2 próximos à média de seu respectivo grupo. Nota-se menor dispersão dos pontos para o *plot* do representante do grupo diabético em relação ao controle.

Inserir Figura 1

A tabela 4 apresenta os valores de “r” das correlações entre os índices geométricos e os índices calculados nos domínios do tempo e da frequência dos indivíduos do grupo diabetes. Nota-se que há fortes correlações dos índices geométricos com os índices obtidos nos domínios do tempo e da frequência.

Inserir Tabela 4

DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que em indivíduos com DM1 ocorreram reduções dos índices geométricos, sugerindo redução da VFC. Associado a isso, os índices lineares de VFC nos domínios do tempo e da frequência apontaram nos indivíduos diabéticos redução da modulação autonômica tanto simpática quanto parassimpática.

Os índices geométricos RRtri e SD2 que refletem a VFC global apresentaram menores valores no grupo com diabetes em comparação ao

controle, sugerindo que a DM1 promove redução da atividade global do SNA. Essa condição é um indicativo de adaptação anormal e insuficiente desse sistema e pode ocasionar prejuízos no funcionamento fisiológico de todos os órgãos mediados pelo SNA⁽¹⁰⁾. Além disso, a diminuição na VFC global pode ser considerada uma manifestação precoce de danos às fibras autonômicas do coração, sendo um marco subclínico da NAC, o que aumenta o risco de arritmias, isquemia miocárdica e morte súbita nessa população⁽⁴⁾.

Apesar de também indicar a atividade global do SNA e de ser menor no grupo com DM1, o índice TINN não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Esse achado pode ser justificado devido a forma de análise desse índice, a qual não leva em consideração a frequência com que os intervalos RR ocorreram, ou seja, expõe apenas a amplitude de variação dos intervalos RR ao longo do tempo⁽²⁷⁾.

Estudos envolvendo indivíduos adultos e idosos com diabetes *mellitus* tipo 2 que analisaram o comportamento do SNA por meio dos índices geométricos, apresentam resultados conflitantes como também que corroboram com os do presente estudo. May et al.⁽³¹⁾ avaliaram indivíduos portadores de diabetes *mellitus* tipo 2, na faixa etária de 40 a 75 anos, e não observaram diferenças estatisticamente significantes para o índice RRtri entre essa população e indivíduos saudáveis. Em contrapartida, Seyd et al.⁽⁹⁾, analisaram indivíduos de 40 a 72 anos de idade, sendo 70 indivíduos com diagnóstico de diabetes *mellitus* não insulino dependentes e 64 voluntários saudáveis, e observaram menores valores dos índices TINN e RRtri para os voluntários diabéticos, indicando redução da VFC global para essa população.

O índice SD1, que representa a modulação autonômica parassimpática^(17, 28, 32), foi menor nos voluntários com DM1 em comparação aos voluntários sem a doença, o que sugere uma redução na atividade parassimpática nesses indivíduos. Resultados semelhantes também foram observados em indivíduos com DM1 com idade superior a 40 anos^(8, 18) e indivíduos jovens, com média de idade de 22 anos⁽³³⁾.

Entretanto, Hägglund et al.⁽³²⁾ não encontraram diferenças significantes para o índice SD1 em indivíduos adulto-jovens com DM1 durante o repouso. Os autores apontam que isso pode estar relacionado ao pequeno tamanho amostral utilizado no estudo ou ao fato dos indivíduos analisados realizarem tratamento e controle adequados do quadro de glicemia, o que impediria o desencadeamento dos distúrbios gerados pela diabetes.

Quanto à relação SD1/SD2 as análises mostraram que não ocorreram diferenças significativas deste índice quando comparado o grupo diabético com o grupo controle, o que pode ser justificado pela redução observada tanto no índice SD1 quanto no SD2, no grupo diabético.

Na análise qualitativa do *plot* de Poincaré, que permite uma avaliação do SNA de forma não linear^(16, 32, 34), observou-se menor dispersão dos pontos para o grupo diabético em comparação ao grupo controle. Este padrão de baixa dispersão dos intervalos RR reflete redução da VFC, indicando perda da complexidade da atuação do SNA para esses indivíduos⁽¹⁶⁾. Nos indivíduos do grupo controle a análise visual do *plot* mostrou maior dispersão batimento-a-batimento e a longo prazo dos intervalos RR, que é representativo de um comportamento normal do SNA^(10, 16).

Resultados semelhantes ao apresentado são encontrados em alguns estudos que também analisaram qualitativamente o *plot* de Poincaré de indivíduos com DM1^(8, 18).

Todos os achados observados pelos índices geométricos são confirmados pela análise da VFC por meio de índices obtidos nos domínios do tempo e da frequência. Em relação à atividade global do SNA o índice SDNN, que representa a ação conjunta das atividades simpática e parassimpática⁽¹⁰⁾, foram menores no grupo diabético em comparação ao grupo controle, indicando diminuição global da VFC.

Os índices RMSSD e HF(ms²) que representam a atividade parassimpática, também se apresentaram reduzidos para o grupo diabético em comparação ao grupo controle. Corroborando com esses achados, estudos apontam uma redução na modulação parassimpática em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1⁵ e 2^(9, 35, 36). Essa redução é descrita na literatura como o primeiro sinal da NAC⁽³¹⁾, a qual é um forte prognóstico negativo em relação a todas as causas de mortalidade em uma população de diabéticos^(37, 38).

A análise do índice LF(ms²), que permite observar a atuação do sistema simpático⁽¹⁰⁾, também mostrou uma diminuição significativa no grupo de diabéticos quando comparados aos indivíduos saudáveis, indicando assim uma diminuição da atividade simpática, corroborando com alguns achados na literatura^(39, 40). Foi encontrado também um estudo que não corroborou com o resultado referente ao índice LF(ms²)⁽⁴¹⁾, o que pode ser justificados devido a insulina exógena poder aumentar a atividade simpática, descolando o equilíbrio da variabilidade do LF e HF para o componente LF⁽⁴¹⁾, ou ainda pelas limitações

metodológicas para avaliação da atividade simpática, em função do índice LF não ser puro da atividade deste componente do SNA⁽⁴²⁾.

Dados transformados em unidades normalizadas contribuem para avaliar o balanço simpatovagal⁽⁴³⁾, pois representam a atuação de ambos os ramos de forma proporcional, ou seja, a porcentagem com que cada ramo atua num total de 100%. Os índices LF e HF em unidades normalizadas não apresentaram nenhuma diferença significativa, pois houve uma diminuição tanto da atividade simpática quanto parassimpática.

É importante ressaltar que as alterações observadas nos ramos do SNA dos voluntários diabéticos, foram encontradas numa condição de ausência de complicações clínicas decorrentes da diabetes, ou seja, o SNA se encontra alterado frente ao quadro de hiperglicemia, antes da ocorrência de qualquer outra alteração clínica.

Índices obtidos por meio de métodos geométricos apresentaram diversas e boas correlações com os índices obtidos nos domínios do tempo e da frequência, indicando que eles são sensíveis para identificação de alterações na modulação autonômica.

Destaca-se, principalmente, as fortes correlações existentes entre os índices geométricos e os índices SDNN e RMSSD, obtidos no domínio do tempo. Observa-se que o índice SD1 apresentou correlação absoluta com o índice RMSSD e uma forte correlação com o índice HFms2, destacando-se que todos esses índices refletem a atuação do ramo parassimpático. Resultado semelhante foi encontrado para os índices que avaliam a VFC global, ou seja, os índices SD2, RRtri e TINN apresentaram forte correlação com o índice SDNN.

Essas correlações parecem estar relacionadas ao fato dos índices expressarem a mesma condição do SNA^(44, 45).

Algumas limitações do estudo devem ser apontadas. O caráter transversal do estudo, que impossibilitou analisar, ao longo do tempo, a influencia da DM1 sobre o SNA, assim não se pode afirmar que as alterações observadas no SNA dos indivíduos diabéticos sejam o estágio inicial, intermédio ou final da influência do quadro de hiperglicemia sobre os ramos do SNA. Adicionalmente, o tempo de diagnostico do quadro de DM1 se diferiu entre os participantes e ainda, a presença do quadro de obesidade para um indivíduo de cada grupo de estudo, apesar de ambos serem classificados no mesmo grau de obesidade (grau I).

Em função das implicações que a disfunção autonômica pode trazer para esses indivíduos, ações devem ser tomadas a fim de se restabelecer a atuação do SNA dessa população para evitar as complicações decorrentes dessa alteração. Esse estudo contribui com uma nova forma de interpretação da influencia da DM1 sobre o SNA, principalmente em relação a análise qualitativa do *plot* de Poincaré, a qual possibilita uma análise mais representativa da condição fisiológica desse sistema.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que os indivíduos com DM1 apresentam redução tanto com componente simpático quanto parassimpático do SNA, o que foi observado por índices extraídos por meio de métodos geométricos e índices nos domínios do tempo e da frequência. Foi possível verificar também correlações

entre os índices geométricos e os obtidos nos domínios do tempo e da frequência.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro para este estudo (Protocolo n ° 477442/2012-9).

REFERÊNCIAS

1. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation*. 2007; 115(3): 387-97.
2. Oliveira AF, Valente JGA, Leite IDC, Schramm JMA, Azevedo ASR, Gadelha AMJ. Global burden of disease attributable to diabetes mellitus in Brazil. *Cader Saude Publica*. 2009; 25: 1234-44.
3. Association Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2010; 33(1): S62-S9.
4. Mogensen UM, Jensen T, Kober L, Kelbaek H, Mathiesen AS, Dixen U, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy and subclinical cardiovascular disease in normoalbuminuric type 1 diabetic patients. *Diabetes*. 2012; 61(7): 1822-30.
5. Dungan KM, Osei K, Sagrilla C, Binkley P. Effect of the approach to insulin therapy on glycaemic fluctuations and autonomic tone in hospitalized patients with diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2013; 15(2) 558-563.
6. Vitor ALR, Souza NM, Lorenconi R, Pastre CM, Abreu LC, Valenti VE, et al. Nonlinear methods of heart rate variability analysis in diabetes. *HealthMed*. 2012; 6(8): 2647-53.
7. Orlov S, Bril V, Orszag A, Perkins BA. Heart rate variability and sensorimotor polyneuropathy in type 1 diabetes. *Diabetes care*. 2012; 35(4): 809-16.
8. Guzik P, Piskorski J, Contreras P, Migliaro E. Asymmetrical properties of heart rate variability in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010; 20(4): 255-7.
9. Seyd A, Joseph PK, Jacob J. Automated diagnosis of diabetes using heart rate variability signals. *J Med Syst*. 2012; 36(3): 1935-41.
10. 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.
11. Ferreira LL, Souza NM, Bernardo AFB, Vitor ALR, Valenti VE, Vanderlei LCM. Variabilidade da frequência cardíaca como recurso em fisioterapia: análise de periódicos nacionais. *Fisioter Mov*. 2013; 26(1): 25-36.

12. Nolan RP, Barry-Bianchi SM, Mechetiuc AE, Chen MH. Sex-based differences in the association between duration of type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2009; 6(4): 276-282.
13. Soydan N, Bretzel RG, Fischer B, Wagenlehner F, Pilatz A, Linn T. Reduced capacity of heart rate regulation in response to mild hypoglycemia induced by glibenclamide and physical exercise in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2013; 62(5): 717-724.
14. Fakhrzadeh H, Yamini-Sharif A, Sharifi F, Tajalizadekhoob Y, Mirarefin M, Mohammadzadeh M, et al. Cardiac autonomic neuropathy measured by heart rate variability and markers of subclinical atherosclerosis in early type 2 diabetes. *ISRN Endocrinol*. 2012; 1-7.
15. Matei D, Popescu CD, Ignat B, Matei R. Autonomic dysfunction in type 2 diabetes mellitus with and without vascular dementia. *J Neurol Sci*. 2013; 325: 6-9.
16. Hsu C-H, Tsai M-Y, Huang G-S, Lin T-C, Chen K-P, Ho S-T, et al. Poincaré plot indexes of heart rate variability detect dynamic autonomic modulation during general anesthesia induction. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*. 2012; 50(1): 12-8.
17. Vanderlei LCM, Pastre CM, Júnior IFF, Godoy MF. Índices geométricos de variabilidade da frequência cardíaca em crianças obesas e eutróficas. *Arq Bras Cardiol*. 2010; 95(1): 35-40.
18. Contreras P, Canetti R, Migliaro E. Correlations between frequency-domain HRV indices and lagged Poincaré plot width in healthy and diabetic subjects. *Physiol Meas*. 2007; 28(1): 85–94.
19. Ziegler D, Pilot R, Straßburger K, Lambeck H, Dannehl K. Normal ranges and reproducibility of statistical, geometric, frequency domain, and non-linear measures of 24-hour heart rate variability. *Horm Metab Res*. 1999; 31(12): 672-9.
20. Hallal PC, Gomez LF, Parra DC, Lobelo F, Mosquera J, Florindo AA, et al. Lições aprendidas depois de 10 anos de uso do IPAQ no Brasil e Colômbia. *J Phys Act Health*. 2010; 7(2): S259-S64.
21. Abeso. Diretrizes brasileiras de obesidade – Associação brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica. 2009: 1-83.
22. Ferreira MG, Valente JG, Gonçalves-Silva RMV, Sichieri R. Accuracy of waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of dyslipidemia in a

cross-sectional study among blood donors in Cuiabá, Mato Grosso State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2006; 22(2): 307-14.

23. Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes brasileiras de hipertensão. *Arq. Bras. Cardiol*. 2010; 95(1): 1-51.

24. Vanderlei LCM, 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: 854-9.

25. Gamelin FX, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 heart rate monitor to measure R-R intervals at rest. *J Exerc Sci Fit*. 2006; 38(5): 887-93.

26. Vanderlei FM, Rossi RC, Souza NM, Sá DA, Gonçalves TM, Pastre CM, et al. Heart rate variability in healthy adolescents at rest. *J Hum Growth Dev*. 2012; 22(2): 173-8.

27. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*. 1996; 93(5): 1043-65.

28. Carvalho TD, Pastre MC, 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.

29. Tulppo MP, Makikallio TH, Seppanen T, Airaksinen JKE, Huikuri HV. Heart rate dynamics during accentuated sympathovagal interaction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1998; 274(3): H810-H6.

30. Niskanen J-P, Tarvainen MP, Ranta-aho PO, Karjalainen PA. Software for advanced HRV analysis. *Comput Methods Programs Biomed*. 2004; 76(1): 73-81.

31. May O, Arildsen H. Long-term predictive power of heart rate variability on all-cause mortality in the diabetic population. *Acta Diabetol*. 2011; 48(1): 55-9.

32. Häggglund H, Uusitalo A, Peltonen JE, Koponen AS, Aho J, Tiinanen S, et al. Cardiovascular autonomic nervous system function and aerobic capacity in type 1 diabetes. *Front Physiol*. 2012; 3: 356.

33. 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.

34. Khandoker A, Palaniswami M, Begg R. A comparative study on approximate entropy measure and poicare plot indexes of minimum foot clearance variability in the elderly during walking. *J Neuroeng Rehabil*. 2008; 5(4): 1-10.

35. 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.

36. Skinner JE, Weiss DN, Anchin JM, Turianikova Z, Tonhajzerova I, Javorkova J, et al. Nonlinear PD2i heart rate complexity algorithm detects autonomic neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol*. 2011; 122(7): 1457-62.

37. Xhyheri B, Manfrini O, Mazzolini M, Pizzi C, Bugiardini R. Heart rate variability today. *Prog Cardiovasc Dis*. 2012; 55(3): 321-31.

38. Rodrigues TC, Ehrlich J, Hunter CM, Kinney GL, Rewers M, Snell-Bergeon JK. Reduced heart rate variability predicts progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes and controls without diabetes. *Diabetes Technol Ther*. 2010; 12(12): 963-9.

39. Sucharita S, Ganapathi B, Jyothi I, Vageesh A, Vaz M. Autonomic nervous system function in type 2 diabetes using conventional clinical autonomic tests, heart rate and blood pressure variability measures. *Indian J Endocrinol Metab*. 2011; 15(3): 198-203.

40. Traon AP, Fontaine S, Tap G, Guidolin B, Senard JL, Hanaire H. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010; 20(3): 153-60.

41. Lucini D, Zuccotti G, Malacarne M, Scaramuzza A, Riboni S, Palombo C, et al. Early progression of the autonomic dysfunction observed in pediatric type 1 diabetes mellitus. *Hypertension*. 2009; 54(5): 987-94.

42. Souza NM, Rossi RC, Vanderlei FM, Vitor ALR, Bernardo AFB, Gonçalves ACR, et al. Heart rate variability in obese children. *J hum growth dev*. 2012; 22(3): 328-33.

43. Chun MY, Park HK, Hwang HS, Han JI, Chee YJ, Lee JS. The association between symptoms of autonomic neuropathy and the heart rate variability in diabetics. *Korean J Fam Med*. 2011; 32(5): 292-8.
44. Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Do existing measures of Poincare plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 2001; 48(11): 1342-7.
45. Karmakar C, Khandoker A, Gubbi J, Palaniswami M. Complex correlation measure: a novel descriptor for Poincaré plot. *Biomed Eng Online*. 2009; 8(17):1-12.

Tabela 01. Características gerais dos grupos controle e diabéticos estudados.

VARIÁVEIS	CONTROLE (N=23)	DM1 (N=20)	p Valor
Idade (anos)	21,69 ± 2,42 [29 – 19]	22,05 ± 4,35 [30 – 18]	0,6004
Massa corporal (Kg)	72,68 ± 14,69 [100,00 – 50,00]	71,73 ± 11,24 [93,80 – 56,30]	0,8147
Estatura (m)	1,73 ± 0,11 [1,93 – 1,51]	1,69 ± 0,10 [1,93 – 1,54]	0,1881
IMC (Kg/m²)	23,96 ± 3,70 [31,9 – 17,8]	25,03 ± 3,48 [34,3 – 21,3]	0,3362
C/Q (m)	0,79 ± 0,09 [0,93 – 0,60]	0,77 ± 0,05 [0,87 – 0,67]	0,5919
FC (bpm)	75,56 ± 10,61 [92 – 60]	80,20 ± 10,52 [97 – 64]	0,1592
PAS (mmHg)	114,52 ± 11,65 [140 – 90]	109,00 ± 11,19 [130 – 90]	0,1221
PAD (mmHg)	73,91 ± 9,40 [100 – 60]	68,50 ± 9,88 [80 – 50]	0,0733
AF semanal (min)	790,00 ± 761,36 [2990 – 60]	545,60 ± 679,53 [3080 – 0]	0,2189

Média ± desvio padrão [máximo – mínimo]; N: número absoluto; Kg: kilograma; m = metro; bpm: batimento por minuto; mmHg = milímetros de mercúrio; min: minuto; IMC: índice de massa corporal; C/Q: relação cintura-quadril; FC: frequência cardíaca; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; AF: atividade física; DM1: diabetes *mellitus* tipo 1.

Tabela 02. Valores dos índices da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência (LFun, LFms², HFun, HFms² e relação LF/HF) e do tempo (RMSSD e SDNN) de ambos os grupos estudados.

ÍNDICES	CONTROLE	DM1	P
LF (un)	48,03 (50,50) ± 16,57	52,39 (50,85) ± 15,37	0,3789
LF (ms²)	1269,9 (1226,00) ± 760,19	894,00 (413,50) ± 1238,6	0,0077
HF (un)	51,96 (49,50) ± 16,57	47,60 (49,15) ± 15,37	0,3789
HF (ms²)	1446,5 (1168,00) ± 947,48	901,65 (541,00) ± 1220,8	0,0036
LF/HF	1,21 (1,01) ± 1,09	1,40 (1,03) ± 1,06	0,5838
RMSSD (ms)	60,75 (58,90) ± 22,70	40,9 (33,50) ± 27,91	0,0038
SDNN (ms)	72,45 (69,50) ± 19,99	46,08 (36,60) ± 26,45	0,0004

Média (mediana) ± desvio-padrão; DM1: Diabetes *Mellitus* tipo 1; LF: componente de baixa frequência; HF: componente de alta frequência; un: unidade normalizada; ms² = milissegundos ao quadrado; ms= milissegundos; LF/HF: relação do componente de baixa frequência e alta frequência; RMSSD: raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes; SDNN: desvio padrão de todos os intervalos RR normais.

Tabela 03. Valores dos índices geométricos (RRtri, TINN, SD1, SD2 e SD1/SD2) da variabilidade da frequência de ambos os grupos estudados.

ÍNDICES	CONTROLE	DM1	P
RRtri (s)	18,02 (17,24) ± 4,12	12,81 (10,42) ± 6,71	0,0009
TINN (ms)	218,26 (220,00) ± 82,78	203,50 (182,50) ± 98,69	0,2424
SD1(ms)	42,99 (41,70) ± 16,05	28,98 (23,70) ± 19,76	0,0038
SD2 (ms)	92,21 (87,10) ± 26,29	58,00 (46,45) ± 32,47	0,0002
SD1/SD2	0,47 (0,44) ± 0,14	0,47 (0,44) ± 0,13	0,9554

Média (mediana) ± desvio-padrão; DM1: Diabetes *Mellitus* tipo 1; RRtri: índice triangular; TINN: interpolação triangular de histograma de intervalos RR; SD1: desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento-a-batimento; SD2: desvio-padrão a longo prazo dos intervalos R-R contínuos; SD1/SD2: razão entre os índices SD1 e SD2; s = segundos; ms = milissegundos.

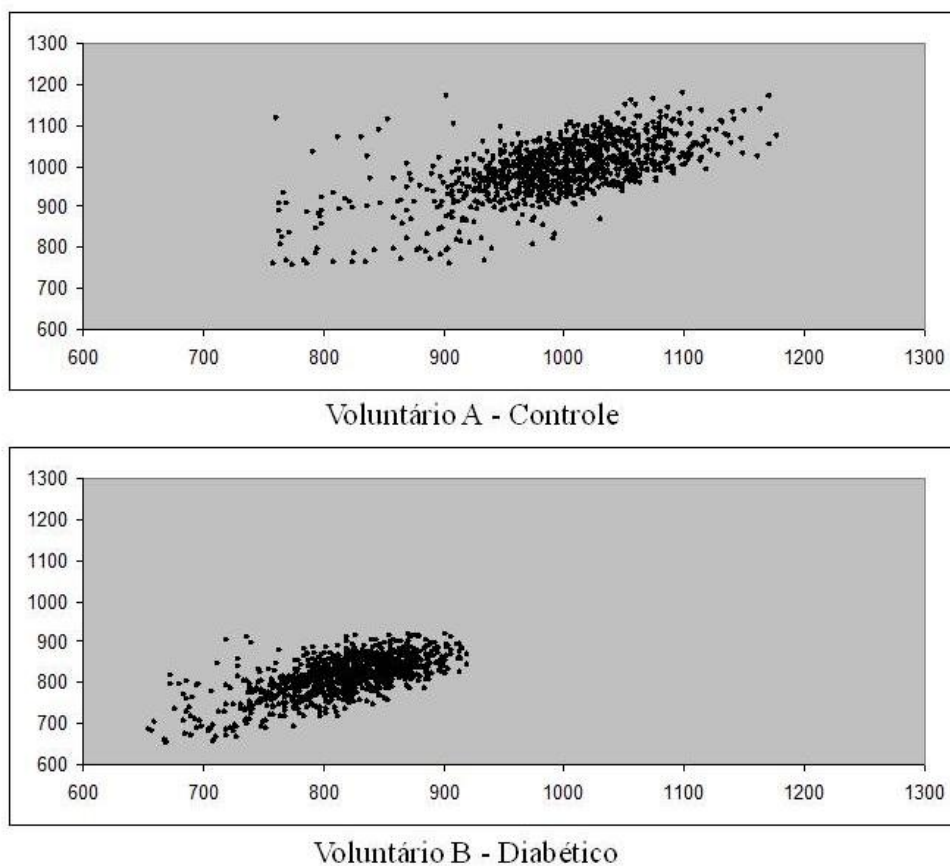


Figura 01. Padrão visual do *Plot* de Poincaré observado no grupo controle (Voluntário A – SD1= 42,4 e SD2= 88,7) e diabético (Voluntário B – SD1= 27,8 e SD2= 60,9).

Tabela 4. Valores do coeficiente de correlação (r) dos índices geométricos com os índices obtidos nos domínios do tempo e da frequência do grupo diabetes.

Índices	RRtri (s)	TINN (ms)	SD1 (ms)	SD2 (ms)	SD1/SD2
SDNN (ms)	0,9210**	0,9465**	0,9395**	0,9872**	0,5288*
RMSSD (ms)	0,8736**	0,8814**	1,000**	0,8876**	0,7579**
LF (ms²)	0,8774**	0,8625**	0,8030**	0,9695**	0,3083
HF (ms²)	0,9368**	0,9032**	0,9549**	0,9124**	0,6602*
LF/HF	-0,3278	-0,2622	-0,4957*	-0,1843	-0,8334**
LF (un)	-0,3278	-0,2205	-0,4957*	-0,1843	-0,8151**
HF (un)	0,3278	0,2205	0,4957*	0,1843	0,8151**

*p<0,05; **p<0,0001. Abreviaturas: RRtri: índice triangular; TINN: interpolação triangular de histograma de intervalos RR; SD1: desvio-padrão da variabilidade instantânea batimento-a-batimento; SD2: desvio-padrão a longo prazo dos intervalos R-R contínuos; SD1/SD2: razão entre os índices SD1 e SD2; SDNN: desvio padrão de todos os intervalos RR normais; RMSSD: raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes; LF: componente de baixa frequência; HF: componente de alta frequência; LF/HF: relação do componente de baixa frequência e alta frequência; s: segundos; un: unidade normalizada; ms = milissegundos; ms²: milissegundos ao quadrado.

DINÂMICA NÃO LINEAR DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO DE JOVENS DIABÉTICOS TIPO 1 POR MEIO DA ANÁLISE DO *PLOT* DE RECORRÊNCIA.

Naiara Maria de Souza¹, Thais Roque Giacon², Francis Lopes Pacagnelli³, Marianne Penaquine da Costa Rezende Barbosa², Vitor Engrácia Valenti⁴, Luiz Carlos Marques Vanderlei⁵.

¹Especialista em Fisioterapia Cardíaca. Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

²Fisioterapeuta. Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

³Doutora em Biologia Celular e Estrutural. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, Brasil.

⁴Pós-Doutor em Ciências. Faculdade de Filosofia e Ciências – FFC/UNESP, Marília, SP, Brasil.

⁵Livre-docente em Fisioterapia Cardiovascular. Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

Naiara Maria de Souza

Endereço: Rua Roberto Simonsen, 305 - Presidente Prudente-SP, CEP: 19060-900, Fone: (18) 3229-5819 – E-mail: naiara_bs@live.com

Apoio financeiro:

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e CNPQ - Conselho Nacional de Pesquisa.

RESUMO

O objetivo do estudo foi comparar a modulação autonômica em repouso de indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 1 (DM1) com indivíduos saudáveis por meio de métodos não linear e lineares da variabilidade da frequência cardíaca. Foram analisados 20 voluntários com DM1 e 23 saudáveis, todos com idade entre 18 a 30 anos. Após a captação da frequência cardíaca por 30 minutos em repouso, utilizou-se 1000 intervalos RR para obtenção dos índices não lineares: recorrência (REC), determinismo (DET) e entropia de Shanon (ES); e lineares: LF e HF em ms^2 e un, relação LF/HF, SDNN e RMSSD. A análise visual do plot de recorrência (PR) foi também realizada. Para a análise estatística utilizou o teste t de Student ou de Mann-Whitney, dependendo da normalidade dos dados, com nível de significância de 5%. Houve diferenças significantes com valores menores para os indivíduos DM1 em relação aos saudáveis dos índices: DET %, REC %, ES bits, RMSSD ms, SDNN ms, LF ms^2 e HF ms^2 . Em relação ao gráfico do PR, os voluntários com DM1 apresentaram menor recorrência, e maior variação de suas figuras, inter e intragrupos respectivamente. Os resultados demonstram que os indivíduos com DM1 apresentaram uma tendência à aleatoriedade do sistema nervoso autônomo (SNA), que está associado a reduções tanto na atividade simpática quanto parassimpática desse sistema.

Palavras-chave: Diabetes mellitus tipo 1, sistema nervoso autônomo, dinâmica não linear, frequência cardíaca e adulto jovem.

INTRODUÇÃO

A neuropatia autonômica diabética é uma das complicações mais comuns da diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e, em geral, manifesta-se inicialmente no sistema cardiovascular desencadeando a neuropatia autonômica cardiovascular (NAC)⁽¹⁾, a qual influencia de forma importante a taxa de mortalidade de pacientes diabéticos⁽²⁻⁴⁾.

Nesse contexto, destaca-se a importância de estudos direcionados a avaliar a dinâmica do sistema nervoso autônomo (SNA), os quais podem gerar conhecimentos de como as neuropatias são instaladas e de que forma podem alterar os ramos simpático e parassimpático do SNA⁽³⁾.

Um dos métodos utilizados para avaliar a modulação autonômica é a variabilidade da frequência cardíaca (VFC)⁽⁵⁾, a qual descreve as oscilações existentes nos intervalos entre os batimentos cardíacos consecutivos (intervalos RR)(6-8) e fornece informações sobre o diagnóstico e prognóstico de diversas doenças⁽⁹⁾. As análises da VFC podem ser realizadas por métodos lineares, que contempla índices do domínio do tempo e da frequência, e por métodos não lineares, baseados na teoria do caos⁽⁷⁾.

Estudos utilizando a VFC para avaliação da DM1 por meio de métodos lineares apontaram que essa população pode apresentar redução da modulação de ambos os componentes do SNA^(2, 10, 11) ou de apenas um dos componentes^(12, 13). Já os estudos utilizando métodos não lineares, também em DM1, são escassos e apresentam resultados inconclusivos, indicando perda da complexidade do SNA apenas para alguns índices⁽¹³⁻¹⁶⁾.

Sabe-se que o comportamento não linear é predominante nos sistemas humanos, assim o estudo da VFC por métodos não-lineares tem ganhado

crescente interesse, sendo o plot de recorrência (PR) uma das formas capaz de explorar essa relação⁽¹⁷⁾.

O PR é a representação gráfica da recorrência em um sistema dinâmico e avalia a complexidade de um sistema^(18, 19). O plot permite uma análise qualitativa através das linhas verticais, horizontais e diagonais e também permite uma análise quantitativa por meio de índices fornecidos pelo mesmo⁽¹⁸⁾, possibilitando assim uma análise mais sensível do SNA.

Nesse contexto, estudar o comportamento não linear, que é mais representativo do comportamento fisiológico dos indivíduos, pode levar a melhor compreensão da influência da DM sobre o SNA e auxiliar na avaliação e estratificação de risco desses pacientes.

Assim, pretende-se comparar a modulação autonômica em repouso de indivíduos portadores de DM1, de ambos os gêneros, com indivíduos saudáveis por meio da análise qualitativa e quantitativa dos índices obtidos pelo plot de recorrência juntamente com índices obtidos por métodos lineares.

MATERIAS E METODOS

Desenho do estudo

Estudo de caráter transversal, controlado, não aleatorizado e aberto, cujos procedimentos adotados não permitiam influencia do avaliador ou do avaliado.

Amostra

Para a realização deste estudo foram analisados dados de 43 voluntários adultos jovens de ambos os sexos, os quais foram divididos em dois

grupos: DM1 e controle. O grupo DM1 foi constituído por 20 voluntários diagnosticados com DM1 e com tempo de diagnóstico da doença de $9,8 \pm 4,97$ anos e o grupo controle foi composto por 23 voluntários saudáveis. A tabela 01 contém a caracterização dos grupos estudados.

Os critérios de inclusão adotados, para seleção dos voluntários foram: indivíduos que não utilizassem medicamentos que influenciassem a atividade autonômica do coração, aqueles que não fossem portadores de doenças do sistema cardiorrespiratório conhecidas, que não fossem tabagistas e etilistas. Foram excluídos do estudo voluntários que não cumpriram com as recomendações feitas para realização do procedimento experimental e aqueles que apresentaram erros na captação da frequência cardíaca batimento a batimento maior que 5%.

Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (Proc.: 47/2011) e seguiram as normas estabelecidas pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os voluntários foram devidamente informados sobre os procedimentos e objetivos deste estudo, e após concordarem, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Procedimentos

Todas as avaliações realizadas foram realizadas entre 13h e 18h em sala com temperatura de $23,87 \pm 2,54^{\circ}\text{C}$ e umidade de $54,22 \pm 8,51\%$. As avaliações foram feitas de forma individual e na sala somente foi permitida a presença do avaliador. Não houve interferência de barulho externo durante a execução do protocolo.

Inicialmente os voluntários responderam a um questionário para identificação e obtenção das seguintes informações: idade, sinais e sintomas da DM1, uso de medicamentos, presença de doenças associadas, avaliação do tempo de atividade física realizada em uma semana, mensurada pelo IPAQ⁽²⁰⁾, e para os voluntários com DM1, o tempo da instalação da doença. Em seguida os voluntários realizaram avaliações físicas (avaliação antropométrica, mensuração de frequência cardíaca e pressão arterial em repouso), e após esses procedimentos, foi realizada a avaliação autonômica.

Avaliação física

Para avaliação antropométrica foram coletadas a massa e estatura, para obtenção do índice de massa corporal (IMC), a circunferência da cintura e a circunferência do quadril, para obtenção da relação cintura/quadril (RCQ).

A massa corporal foi mensurada por meio de uma balança digital (Welmy R/I 200, Brasil) e a estatura por um estadiômetro (Sanny, Brasil). A partir das medidas de massa corporal e estatura, o índice de massa corporal (IMC) foi calculado utilizando-se a fórmula da massa do indivíduo (quilogramas), dividida por sua altura (metros) ao quadrado⁽²¹⁾.

Para obtenção da RCQ utilizou-se uma fita métrica (Sanny, Brasil) para mensuração da circunferência da cintura (CC), a qual foi obtida pela medida da menor circunferência entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca ântero-superior, e a circunferência do quadril (CQ) obtida pela medida do diâmetro ao nível dos trocânteres maiores. Para obtenção da RCQ o valor da CC foi dividido pelo valor da CQ⁽²²⁾.

A pressão arterial foi obtida de forma indireta, com a utilização de estetoscópio (Littman, Saint Paul, USA) e esfigmomanômetro aneroide (WelchAllyn - Tycos, New York, USA) no braço esquerdo do voluntário seguindo os critérios estabelecidos pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial⁽²³⁾.

A mensuração da frequência cardíaca foi feita por meio da palpação da arterial braquial por um minuto.

Avaliação autonômica

Para avaliação da modulação autonômica os voluntários foram orientados a não consumirem, durante o período de 24 horas prévias à avaliação, bebidas alcoólicas e/ou estimulantes do sistema nervoso autônomo como café, chá e achocolatados⁽⁸⁾.

Os voluntários foram instruídos para que durante a coleta se mantivessem em silêncio e acordados. Após a explicação dos procedimentos necessários para a coleta de dados, foi posicionada no terço distal do esterno do voluntário uma cinta de captação e, no punho, o cardiofrequencímetro Polar S810i (Polar Electro – Finlândia)^(6, 24), em seguida eles foram colocados em decúbito dorsal em uma maca onde permaneceram por 30 minutos em repouso e com respiração espontânea.

Para análise da VFC, a frequência cardíaca foi registrada batimento a batimento durante todo o procedimento experimental por meio de um cardiofrequencímetro Polar S810i (Polar Electro – Finlândia), equipamento previamente validado para obtenção da frequência cardíaca batimento a batimento e sua utilização para análise de VFC^(4,5).

A série de intervalos RR obtida passou por uma filtragem digital pelo Polar ProTrainer 5 (Polar ProTrainer 5 Professional Training Software – Finlândia) complementada por manual para eliminação de batimentos ectópicos prematuros e artefatos⁽²⁵⁾ e somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo. Foram utilizados para análise dos dados 1000 intervalos RR consecutivos obtidos do trecho de maior estabilidade do sinal.

Para análise dos índices lineares de VFC nos domínios do tempo e da frequência foi utilizado o software Kubios HRV (Kubios, BiosignalAnalysis and Medical ImageGroup - Finlândia), enquanto que, os índices não lineares, derivados do plot de recorrência (PR), foram obtidos pelo software Visual RecurrenceAnalysis (VRA) (Visual RecurrenceAnalysis software – EUA).

Análise dos índices de variabilidade da frequência cardíaca

Métodos lineares

No domínio do tempo foram obtidos os índices SDNN e RMSSD e no domínio da frequência os índices LF, HF (em ms² e em un) e a relação LF/HF.

Em relação aos índices no domínio do tempo, o índice SDNN representa o desvio padrão de todos os intervalos RR normais, representando a variabilidade global, refletindo, portanto, a participação de todos os componentes rítmicos responsáveis pela VFC⁽⁷⁾. Já o índice RMSSD corresponde à raiz quadrada da somatória do quadrado das diferenças entre os intervalos RR no registro, dividido pelo número de intervalos RR em um tempo determinado menos um intervalo RR, representando a atividade parassimpática⁽⁷⁾.

Para a análise da VFC no domínio da frequência foram analisados os componentes LF e HF. As faixas de frequência utilizada para cada componente foram: baixa frequência (LF: 0,04 – 0,15 Hz) que representa a atividade do componente simpático, e alta frequência (HF: 0,15 – 0,40 Hz) que representa a atividade parassimpática. A relação LF/HF reflete as alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático do SNA. Todas as análises espectrais foram calculadas usando o algoritmo da Transformada de Fourier⁽⁷⁾.

Métodos não lineares

Os índices não lineares estudados foram derivados do plot de recorrência (PR). Foram obtidos seguintes índices: taxa de recorrência (REC), determinismo (DET) e entropia de Shannon (ES), além disso, foi feita uma análise qualitativa do PR.

O PR é a visualização de uma matriz quadrada na qual os elementos da matriz correspondem aos momentos em que um estado de um sistema dinâmico se repete (colunas e linhas correspondem a um determinado par de vezes). O PR revela os momentos em que a trajetória no espaço de fase do sistema dinâmico retorna aproximadamente a mesma área no espaço de fase⁽²⁶⁾, sendo que sua análise pode ocorrer de forma qualitativa e quantitativa.

A análise qualitativa foi realizada por apenas um indivíduo pela visualização do PR que mostra linhas verticais, horizontais e diagonais. As linhas diagonais refletem a repetição de sequências de estados na dinâmica do sistema e as horizontais e verticais resultam da persistência de um estado durante um intervalo de tempo⁽²⁶⁾. Para indivíduos saudáveis o PR apresenta

uma linha diagonal e menos quadrados aparentes, indicando VFC mais alta, enquanto que, em sujeitos com anormalidades cardíacas, o PR apresenta mais quadrados aparentes indicando a inerente periodicidade e uma baixa VFC⁽¹⁹⁾.

A análise quantitativa do PR possibilita a extração de três índices: REC, DET e ES. A REC é a relação de todos os estados recorrentes (pontos de retorno) para todos os estados possíveis e, portanto, a probabilidade de recorrência de um determinado estado; leva-se em conta a razão de zeros e uns na matriz do PR, medindo seus pontos de retorno. O DET é a quantidade dos pontos de recorrência presentes na formação das linhas diagonais em relação a todo o conjunto dos pontos de recorrência; está relacionada com o grau de previsibilidade do sistema⁽¹⁹⁾.

A ES é uma medida que descreve a irregularidade, complexidade ou grau de incerteza de uma série temporal experimental, representando a energia gasta para produzir trabalho⁽¹⁹⁾. Matematicamente, no cálculo da entropia de Shannon o sinal é negativo; ou seja, quanto maior o valor da entropia, mais informação e conseqüentemente maior adaptabilidade ao meio ambiente⁽²⁷⁾. Desta forma, se valor de ES for grande a sua distribuição é plana (todos os padrões aleatórios estão distribuídos e a série leva o máximo de informações). Por outro lado, se for pequeno, há um subconjunto de padrões prováveis⁽²⁸⁾.

Séries Matemáticas

Foram construídas séries matemáticas aleatória e linear⁽²⁹⁾ com o objetivo de comparar os padrões de comportamentos dessas séries com os obtidos pelas séries dos voluntários do presente estudo. As séries construídas

foram também analisadas por meio do software VRA (Visual RecurrenceAnalysis software – EUA) para obtenção dos índices derivados do PR.

A série aleatória foi construída no Excel com a fórmula = Aleatória()*100, excluindo-se as casas decimais, foram obtidos valores aleatório entre 0 e 100. A série linear foi construída por meio de uma série temporal formada com números primos de 2 a 3.800⁽²⁹⁾.

Análise estatística

Para a caracterização da população foi utilizado o método estatístico descritivo e os resultados foram apresentados com valores de médias, desvios-padrão, valores máximo e mínimos e intervalo de confiança de 95%.

Para comparação das características dos grupos e dos índices não lineares e lineares de VFC, inicialmente, foi determinada a normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro-Wilk, se aceita a distribuição normal, foi aplicado o teste t de Student para dados não pareados. Já nas situações onde a distribuição normal não foi aceita, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Foram consideradas diferenças estatisticamente significantes quando o valor de “p” foi menor que 0,05.

RESULTADOS

Na tabela 01 está representada a caracterização dos voluntários de ambos os grupos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, o que demonstra a homogeneidade entre os grupos.

Inserir tabela 1

Todos os voluntários do grupo DM1 são insulínod dependentes. Além disso, três voluntários (15%) utilizam medicação para controle da pressão arterial, três (15%) para distúrbios da tireoide, dois (10%) para sintomas de neuropatia periférica e dois (10%) fazem uso de anticoncepcional. Em relação as comorbidades existentes, cada grupo é composto por dois voluntários classificados como grau I de obesidade e um voluntário do grupo DM1 como grau 3 de obesidade⁽²¹⁾.

A tabela 02 mostra os valores dos índices DET, REC e a ES derivados da análise quantitativa do PR. Menores valores desses índices para o grupo DM1 em comparação ao grupo controle foram observados ($p < 0,05$).

Inserir tabela 2

Quanto a análise qualitativa do PR, uma amostra representativa dos grupos pode ser visualizado na figura 01. Os PR dos indivíduos selecionados apresentam os valores dos índices DET e REC mais próximos da média do grupo pertencente.

Observou-se que o PR do indivíduo saudável apresenta um padrão com mais quadrados e linhas verticais e horizontais aparentes em comparação com o PR do diabético, o qual apresentou menos quadrados e linhas aparentes. Além disso, a análise intragrupos demonstrou que as figuras dos PR no grupo controle apresentaram um padrão semelhante entre os indivíduos, o que não ocorreu com os PR dos indivíduos diabéticos, os quais apresentaram maior variação de suas figuras.

Inserir figura 1

Na tabela 03, estão apresentados os resultados dos modelos matemáticos utilizados para a comparação de comportamentos das séries temporais aleatória e linear com os valores médios dos grupos estudados. Nota-se que o valor médio do grupo DM1 está tendendo a aleatoriedade ao se comparar com o valor médio do grupo controle.

Inserir tabela 3

A tabela 04 mostra os valores dos índices de VFC obtidos nos domínios do tempo e da frequência. Observam-se diferenças estatisticamente significantes nos índices: LF (ms^2), HF (ms^2), RMSSD e SDNN entre os grupos.

Inserir tabela 4

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que jovens diabéticos apresentam redução de DET, REC e ES em comparação aos indivíduos jovens saudáveis, sugerindo que este grupo apresenta tendência a um comportamento aleatório do SNA, ou seja, comprometimento da função do SNA⁽³⁰⁾. A análise qualitativa do PR mostra que os indivíduos diabéticos apresentaram um padrão do *plot* com menos

quadrados e linhas verticais e horizontais aparentes além de maior variação das figuras entre os indivíduos em comparação com o PR do controle.

Esses achados foram acompanhados de redução tanto da modulação simpática quanto parassimpática do SNA, para o grupo DM1, observado pelos índices de VFC obtidos por meio de métodos lineares.

Utilizando os valores de REC, DET e ES obtidos das séries matemáticas aleatória e linear para comparar com os valores encontrados nos grupos estudados, observou-se que o grupo DM1 possui valores mais próximo dos obtidos pela série aleatória, sugerindo que esses indivíduos apresentam um padrão tendendo a aleatoriedade, o que pode explicar os valores mais baixos dos índices DET e REC apresentados por esse grupo.

A presença de aleatoriedade produz um comportamento imprevisível do SNA ⁽³¹⁾ e esse comportamento aleatório pode influenciar, direta ou indiretamente, na ocorrência de complicações do DM1⁽³²⁾.

Diferente dos resultados apresentados por esse trabalho, um estudo comparando DM1 com indivíduos jovens saudáveis descreve maiores valores de DET para os indivíduos com DM1, indicando uma complexidade reduzida no controle da frequência cardíaca do grupo de diabéticos⁽¹⁷⁾. Entretanto, a metodologia utilizada nesse estudo foi: restrição de estimulantes do SNA por 12 horas prévias a avaliação, avaliação do SNA no período da manhã e não ter sido adotado como critério de exclusão ser tabagista. Esses critérios se diferiram dos adotados no presente estudo, o que pode ter influenciado os resultados e contribuído para as divergências dos resultados.

Em relação a entropia, observamos maiores valores para os indivíduos saudáveis em comparação aos diabéticos. A redução da ES está relacionada a

um desequilíbrio simpato-vagal cardíaco, que pode prever uma depressão global do SNA, bem como situações patológicas como: arritmias cardíacas malignas, infarto agudo do miocárdio e até mesmo a morte súbita⁽²⁸⁾, indicando que pacientes com DM1 estão mais predispostos a tais condições.

Em relação à análise qualitativa do PR, os voluntários do grupo DM1 apresentaram um padrão gráfico com menor recorrência, o que vêm de encontro aos menores valores encontrados para os índices DET e REC observados na análise qualitativa dos voluntários desse grupo. Os voluntários desse grupo também apresentaram um padrão mais diversificado das figuras do PR, indicando uma dinâmica do SNA com maior variação.

A análise do índice SDNN que avalia a VFC global⁽⁷⁾ apontou menores valores desse índice sugerindo que esses indivíduos apresentam uma redução da VFC global, a qual é um indicador de adaptação anormal e insuficiente do SNA^(7, 33). Esta adaptação inadequada pode indicar um maior preditor de mortalidade, podendo estar relacionada com o infarto do miocárdio, fibrilação atrial, outras arritmias cardíacas, insuficiência cardíaca congestiva e cardiopatia isquêmica^(4, 5, 33).

Em concordância com esse resultado, um estudo realizado com 17 pacientes com DM1, com idade entre 12 e 30 anos, observou redução do índice SDNN nesses indivíduos⁽¹³⁾. Em contrapartida, Trunkvalterovaet al.⁽¹⁵⁾ analisaram o índice SDNN em 14 pacientes com DM1 e média de idade $22,3 \pm 1,2$ anos e não encontraram diferenças significativas entre os grupos controle e com DM. Os autores justificam que a ausência de diferenças pode estar relacionada ao pequeno tamanho amostral utilizado.

Os resultados apontam ainda que os índices que determinam tanto a modulação parassimpática (RMSSD e HF em ms²) quanto a simpática (LF em ms²) foram menores no grupo DM1 em comparação ao grupo controle. Essa condição pode produzir nos indivíduos respostas fisiológicas não eficientes frente às reações de alarme e aumento do risco de doenças cardiovasculares, aumentando de forma importante a taxa de mortalidade^(34, 35). Resultados semelhantes para os índices LF e HF em crianças com DM1 e idade entre 8 e 12 anos foram também relatados na literatura⁽¹⁰⁾.

O tempo de diagnóstico de diabetes que se diferiu entre os voluntários e a presença de obesidade em ambos os grupos são limitações que devem ser apontadas nesse estudo. Em relação a obesidade, apesar do grupo DM1 apresentar dois voluntários classificados como obesos de grau 1 e 3, estudo prévio apontou que esse quadro não afeta a função do SNA desses indivíduos⁽³⁶⁾.

Diante do exposto, observa-se que a presença da DM1 ocasiona alterações importantes no SNA, sendo que estas alterações já estão presentes na população jovem, a qual não apresenta outras complicações típicas desencadeadas pelo quadro de DM. Alterações na dinâmica do SNA é um fator importante de ser evitado e tratado, pois a sua ocorrência está associada com uma piora no prognóstico e na qualidade de vida⁽⁴⁾, pois pode influenciar a ocorrência de diversas patologias como arritmias graves, disfunção da trama vascular, arterosclerose, acidente vascular encefálico e até mesmo a morte súbita^(37, 38).

Desta forma, entende-se que a identificação precoce de alterações no SNA é importante, pois estratégias de tratamento poderão ser elaboradas de

forma mais direcionada, e assim prevenir o aparecimento de complicações ou impedir que o quadro evolua, gerando um melhor prognóstico ao indivíduo.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que os indivíduos jovens com diagnóstico de DM1 apresentaram um comportamento tendencioso a aleatoriedade do SNA em relação aos indivíduos jovens saudáveis. Esse comportamento está associado a reduções tanto na atividade simpática quanto parassimpática do SNA.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio financeiro da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e do CNPQ (Conselho Nacional de Pesquisa).

REFERENCIAS

1. Oliveira AF, Valente JGA, Leite IDC, Schramm JMA, Azevedo ASR, Gadelha AMJ. Global burden of disease attributable to diabetes mellitus in Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2009;25:1234-44.
2. Traon AP, Fontaine S, Tap G, Guidolin B, Senard JI, Hanaire H. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010;20(3):153-60.
3. Pop-Busui R, Evans GW, Gerstein HC, Fonseca V, Fleg JL, Hoogwerf BJ, et al. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the action to control cardiovascular risk in diabetes (ACCORD) trial. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1578-84.
4. Rolim L, Sá R, Chacra A, Dib S. Neuropatia autonômica cardiovascular diabética: fatores de risco, impacto clínico e diagnóstico precoce. *Arq Bras Cardiol*. 2008;90(4):24-32.
5. Villegas JER, Espinosa EL, Moreno DFR, Echeverry PCC, Rodrigues WA. Heart rate variability dynamics for the prognosis of cardiovascular risk. *Plos One*. 2011;6(2).
6. Vanderlei LCM, 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;41:854-9.
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. Vanderlei FM, Rossi RC, Souza NM, Sá DA, Gonçalves TM, Pastre CM, et al. Heart rate variability in healthy adolescents at rest. *J Hum Growth Dev*. 2012;22(2):173-8.
9. Ferreira L, Souza N, Bernardo A, Vitor A, Valenti V, Vanderlei L. Variabilidade da frequência cardíaca como recurso em fisioterapia: análise de periódicos nacionais. *Fisioter Mov*. 2013;26(1):25-36.
10. Chen S-R, Lee Y-J, Chiu H-W, Jeng C. Impact of physical activity on heart rate variability in children with type 1 diabetes. *Childs Nerv Syst*. 2008;24(6):741-7.

11. Seyd A, Joseph P, Jacob J. Automated diagnosis of diabetes using heart rate variability signals. *J Med Syst*. 2012;36(3):1935-41.
12. Lucini D, Zuccotti G, Malacarne M, Scaramuzza A, Riboni S, Palombo C, et al. Early progression of the autonomic dysfunction observed in pediatric type 1 diabetes mellitus. *Hypertension*. 2009;54(5):987-94.
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. Hägglund H, Uusitalo A, Peltonen JE, Koponen AS, Aho J, Tiinanen S, et al. Cardiovascular autonomic nervous system function and aerobic capacity in type 1 diabetes. *Front Physiol*. 2012;3:356.
15. Trunkvalterova Z, Javorka M, Tonhajzerova I, Javorkova J, Lazarova Z, Javorka K, et al. Reduced short-term complexity of heart rate and blood pressure dynamics in patients with diabetes mellitus type 1: multiscale entropy analysis. *Physiol Meas*. 2008;29(7):817.
16. Vitor A, Souza N, Lorenconi R, Pastre C, Abreu L, Valenti V, et al. Nonlinear methods of heart rate variability analysis in diabetes. *HealthMed*. 2012;6(8):2647-53.
17. 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.
18. Marwan N, Kurths J. Nonlinear analysis of bivariate data with cross recurrence plots. *Phys Lett A*. 2002;302(5-6):299-307.
19. Ferreira MT, Messias M, Vanderlei LCM, Pastre CM. Análise comparativa de séries temporais da variabilidade da frequência cardíaca de indivíduos saudáveis com indivíduos que apresentam insuficiência renal crônica. *Tend Mat Apl Comput*. 2010;11(2):141-50.
20. Hallal P, Gomez L, Parra D, Lobelo F, Mosquera J, Florindo A, et al. Lições aprendidas depois de 10 anos de uso do IPAQ no Brasil e Colômbia. *J Phys Act Health*. 2010;7(2):S259-S64.
21. Abeso. Diretrizes brasileiras de obesidade – Associação brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica. 2009:1-83.

22. Ferreira MG, Valente JG, Gonçalves-Silva RMV, Sichieri R. Accuracy of waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of dyslipidemia in a cross-sectional study among blood donors in Cuiabá, Mato Grosso State, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(2):307-14.
23. Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes brasileiras de hipertensão. *Arq. Bras. Cardiol*. 2010;95(1): 1-51.
24. Gamelin FX, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 heart rate monitor to measure R-R intervals at rest. *J Exerc Sci Fit*. 2006;38:5887-93.
25. Godoy MF, Takakura IT, Correa PR. 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.
26. Souza E. Caracterização de sistemas dinâmicos através de gráficos de recorrência. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Dissertação. 2008.
27. Selig FA, Tonolli ER, Silva EVCM, Godoy MF. Variabilidade da frequência cardíaca em neonatos prematuros e de termo. *Arq Bras Cardiol*. 2011;96(6):443-9.
28. Kunz VC, Souza RB, Takahashi ACM, Catai AM, Silva E. The relationship between cardiac autonomic function and clinical and angiographic characteristics in patients with coronary artery disease. *Braz J Phys Ther*. 2011;15(6):503-10.
29. Baptista MA. Gráficos de recorrência e de poincaré na análise da quantidade de internações por diferentes grupos nosológicos, ocorridas ao longo de uma década, em um hospital de ensino [Tese para título de Doutor]. São José do Rio Preto: Faculdade de Medicina Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde. 2011.
30. Peng CK, Havlin S, Hausdorff JM, Mietus JE, Stanley HE, Goldberger AL. Fractal mechanisms and heart rate dynamics: Long-range correlations and their breakdown with disease. *J Electrocardiol*. 1995;28:59-65.
31. Higgins J. Nonlinear systems in medicine. *Yale J Biol Med*. 2002;75:247-60.
32. Hotta N, Otsuka K, Murakami S, Yamanaka G, Kubo Y, Matsuoka O, et al. Fractal analysis of heart rate variability and mortality in elderly community-dwelling people: Longitudinal investigation for the longevity and aging in Hokkaido county (LILAC) study. *Biomed Pharmacother*. 2005;59:S45-S8.

33. Mogensen UM, Jensen T, Kober L, Kelbaek H, Mathiesen AS, Dixen U, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy and subclinical cardiovascular disease in normoalbuminuric type 1 diabetic patients. *Diabetes*. 2012;61(7):1822-30.
34. Xhyheri B, Manfrini O, Mazzolini M, Pizzi C, Bugiardini R. Heart rate variability today. *Prog Cardiovasc Dis*. 2012;55(3):321-31.
35. Rodrigues TC, Ehrlich J, Hunter CM, Kinney GL, Rewers M, Snell-Bergeon JK. Reduced heart rate variability predicts progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes and controls without diabetes. *Diabetes Technol Ther*. 2010;12(12):963-9.
36. Maser RE, Lenhard MJ. Obesity is not a confounding factor for performing autonomic function tests in individuals with diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2002;4(2):113-7.
37. Soydan N, Bretzel RG, Fischer B, Wagenlehner F, Pilatz A, Linn T. Reduced capacity of heart rate regulation in response to mild hypoglycemia induced by glibenclamide and physical exercise in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2013(0).
38. Matei D, Popescu CD, Ignat B, Matei R. Autonomic dysfunction in type 2 diabetes mellitus with and without vascular dementia. *J Neurol Sci*. 2013;325:6-9.

Tabela 01 – Valores médios, seguidos dos seus respectivos desvios padrão, de características físicas e clínicas dos voluntários dos grupos estudados.

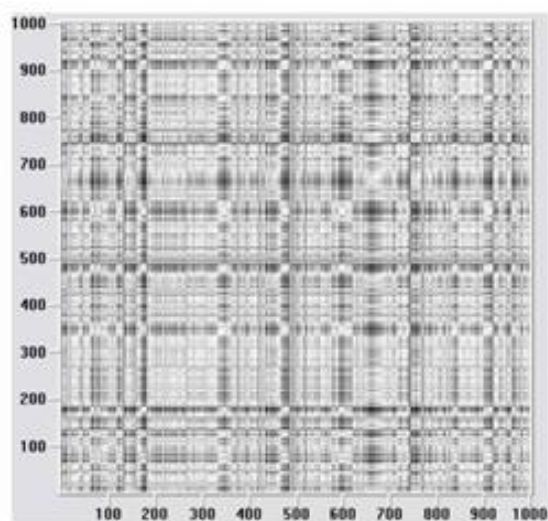
	DM1 (N = 20)	Controle (N = 23)	p Valor
Idade (anos)	22,50 ± 4,09 [18 – 30]	22,21 ± 2,69 [18 – 30]	0,7882
Altura (m)	1,69 ± 0,10 [1,54 – 1,93]	1,70 ± 0,11 [1,51 – 1,93]	0,8636
Peso (Kg)	74,57 ± 13,53 [59,40 – 110,20]	68,34 ± 16,06 [44,40 – 100,00]	0,1927
IMC (kg/m²)	26,06 ± 5,32 [18,90 – 42,50]	23,33 ± 3,86 [17,80 – 31,90]	0,0560
RCQ	0,78 ± 0,05 [0,67 – 0,87]	0,79 ± 0,07 [0,65 – 0,93]	0,4586
FC (bpm)	81,20 ± 9,47 [67 – 97]	75,30 ± 10,96 [60 – 76]	0,0684
PAS (mmHg)	108,50 ± 10,40 [90,00 – 130,00]	111,91 ± 12,74 [90,00 – 140,00]	0,3462
PAD(mmHg)	68,00 ± 8,94 [50,00 – 80,00]	73,04 ± 9,26 [60,00 – 100,00]	0,0777
AF semanal (min)	566,35 ± 686,31 [0,00 – 3080,00]	623,91 ± 552,01 [65,00 – 2040,00]	0,4078

Média ± desvio padrão [mínimo - máximo]. DM1 = diabetes *mellitus* tipo 1; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; IMC = índice de massa corpórea; RCQ = relação circunferência da cintura/quadril; AF = atividades física; m = metros; Kg = quilogramas; Bpm = batimentos por minuto; mmHg = milímetros de mercúrio; Min = minuto.

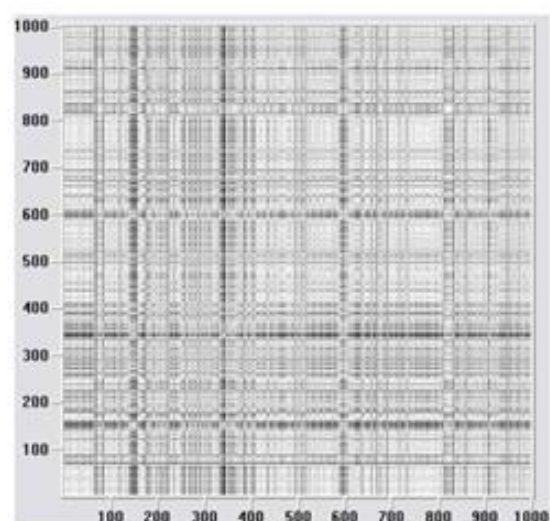
Tabela 02 – Valores médios e medianos, seguidos dos seus respectivos desvios padrão, dos índices DET, REC e ES derivados do PR dos grupos estudados.

	DM1	Controle	p Valor
DET (%)	96,14 (96,43) $\pm$ 1,56 [95,41 – 96,88]	97,13 (96,88) $\pm$ 0,92 [96,73 – 97,53]	0,0145
REC (%)	19,65 (17,68) $\pm$ 5,44 [17,10 – 22,20]	23,56 (23,21) $\pm$ 4,68 [21,53 – 25,58]	0,0153
ES (bits)	4,06 (4,00) $\pm$ 0,32 [3,92 – 4,20]	4,31 (4,21) $\pm$ 0,29 [4,18 – 4,44]	0,0057

Média (mediana) $\pm$ desvio padrão [IC 95%]. DM1 = diabetes *mellitus* tipo 1; PR = plot de recorrência; DET = determinismo; REC = Taxa de recorrência; ES = Entropia de Shannon.



A - Saudável



B – Diabético

Figura 01: A - *Plot* de recorrência de jovem saudável (REC: 26,35 e DET: 97,64);

B – *Plot* de recorrência de jovem diabético (REC: 17,69 e DET: 96,14).

Tabela 03 – Valores de REC, DET e ES dos grupos estudados e dos obtidos pelos modelos matemáticos das séries temporais: aleatória, caótica, periódica e linear.

	REC	DET	ES
Aleatório	6,20	87,10	2,88
Diabéticos	19,65	96,14	4,06
Controle	23,56	97,13	4,31
Linear	41,40	99,90	7,31

DET = determinismo; REC = Taxa de recorrência; ES = Entropia de Shannon.

Tabela 04 – Valores médios e medianos, seguidos dos respectivos desvios padrão, dos índices de VFC obtidos nos domínios do tempo e frequência dos grupos estudados.

	DM1	Controle	p Valor
RMSSD (ms)	35,36 (33,50) ± 17,63 [37,11 – 43,62]	51,14 (47,90) ± 22,20 [41,54 – 60,75]	0,0145
SDNN (ms)	40,41 (36,60) ± 16,25 [32,80 – 48,01]	66,39 (66,70) ± 24,06 [55,98 – 76,80]	0,0002
LF (ms²)	608,50 (381,00) ± 577,05 [338,43 – 878,57]	1.196,50 (1063,00) ± 819,34 [842,19 – 1550,9]	0,0039
HF (ms²)	599,20 (541,00) ± 530,85 [350,76 – 847,64]	1.115,80 (995,00) ± 870,01 [739,54 – 1492,0]	0,0228
LF (un)	52,06 (50,85) ± 13,94 [45,53 – 58,59]	53,93 (52,60) ± 13,77 [47,98 – 59,89]	0,6605
HF (un)	47,93 (49,15) ± 13,94 [41,40 – 54,46]	46,06 (47,40) ± 13,77 [40,10 – 52,01]	0,6605
LF/HF	1,34 (1,03) ± 1,01 [0,87 – 1,82]	1,43 (1,11) ± 1,04 [0,97 – 1,88]	0,3874

Média (mediana) ± desvio padrão [IC 95%]. DM1 = diabetes mellitus tipo 1; VFC = variabilidade da frequência cardíaca; LF = baixa frequência; HF = alta frequência; LF/HF = relação entre a baixa e alta frequência; RMSSD = raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre iRR adjacentes; SDNN = desvio padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo.

Os resultados sugerem que indivíduos jovens com diagnóstico de DM1 apresentam:

a) Redução tanto com componente simpático quanto parassimpático do SNA, o que foi observado por índices extraídos por meio de métodos geométricos e índices nos domínios do tempo e da frequência. Além disso, foi possível verificar também correlações entre os índices geométricos e os obtidos nos domínios do tempo e da frequência.

b) Comportamento tendencioso a aleatoriedade do SNA em relação aos indivíduos jovens saudáveis, o qual foi associado a reduções tanto na atividade simpática quanto parassimpática do SNA.

1. Nakata B, Ishikawa T, Amano R, Kimura K, Hirakawa K. Impact of preoperative diabetes mellitus on clinical outcome after pancreatectomy. *Int J Surg*. 2013; 1-5.
2. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. 1999: 1-59.
3. Chillaróna J, Flores-Le-Roux J, Godaya A, Benaiges D, Carrera M, Puiga J, et al. Síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 1: prevalencia y factores relacionados. *Rev Esp Cardiol*. 2010; 63(4): 423-9.
4. De Berardis G, D'Ettore A, Graziano G, Lucisano G, Pellegrini F, Cammarota S, et al. The burden of hospitalization related to diabetes mellitus: A population-based study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22(7): 605-12.
5. Rodrigues TC, Pecis M, Canani LH, Schreiner L, Kramer C, Biavatti K, et al. Caracterização de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 do sul do Brasil: complicações crônicas e fatores associados. *Rev Assoc Med Bras*. 2010; 56(1): 67-73.
6. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation*. 2007; 115(3): 387-97.
7. Giorda CB. The role of the care model in modifying prognosis in diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013; 23(1): 11-6.
8. Rocha C, Madeira L, Sá K, Lopes L, Albuquerque D, Diniz L, et al. Diabetes mellitus tipo 1 na ausência de neuropatia autonômica não altera a taxa de sudorese no exercício. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2009; 15: 23-6.
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. Ferreira L, Souza N, Bernardo A, Vitor A, Valenti V, Vanderlei L. Variabilidade da frequência cardíaca como recurso em fisioterapia: análise de periódicos nacionais. *Fisioter Mov*. 2013; 26(1): 25-36.
11. Xhyheri B, Manfrini O, Mazzolini M, Pizzi C, Bugiardini R. Heart rate variability today. *Prog Cardiovasc Dis*. 2012; 55(3): 321-31.
12. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*. 1996; 93(5): 1043-65.
13. Godoy MF, Takakura IT, Correa PR. 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 Saude*. 2005; 12(4): 167-71.

14. Vitor ALR, Souza NM, Lorenconi R, Pastre CM, Abreu LC, Valenti VE, et al. Nonlinear methods of heart rate variability analysis in diabetes. *HealthMed*. 2012; 6(8): 2647-53.

15. 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.

16. 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.

17. Seyd A, Joseph P, Jacob J. Automated diagnosis of diabetes using heart rate variability signals. *J Med Syst*. 2012; 36(3): 1935-41.

18. Traon AP, Fontaine S, Tap G, Guidolin B, Senard JL, Hanaire H. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res*. 2010; 20(3): 153-60.

19. Lucini D, Zuccotti G, Malacarne M, Scaramuzza A, Riboni S, Palombo C, et al. Early progression of the autonomic dysfunction observed in pediatric type 1 diabetes mellitus. *Hypertension*. 2009; 54(5): 987-94.

20. Häggglund H, Uusitalo A, Peltonen JE, Koponen AS, Aho J, Tiinanen S, et al. Cardiovascular autonomic nervous system function and aerobic capacity in type 1 diabetes. *Front Physiol*. 2012; 3: 356.

21. Trunkvalterova Z, Javorka M, Tonhajzerova I, Javorkova J, Lazarova Z, Javorka K, et al. Reduced short-term complexity of heart rate and blood pressure dynamics in patients with diabetes mellitus type 1: multiscale entropy analysis. *Physiol Meas*. 2008; 29(7): 817.

22. Carvalho TD, Pastre MC, 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.

23. Hsu C-H, Tsai M-Y, Huang G-S, Lin T-C, Chen K-P, Ho S-T, et al. Poincaré plot indexes of heart rate variability detect dynamic autonomic modulation during general anesthesia induction. *Acta Anaesthesiol Taiwan*. 2012; 50(1): 12-8.

24. Contreras P, Canetti R, Migliaro E. Correlations between frequency-domain HRV indices and lagged Poincaré plot width in healthy and diabetic subjects. *Physiol Meas*. 2007; 28(1): 85-94.

25. Hoshi R, Pastre C, Vanderlei L, Godoy M. Poincaré plot indexes of heart rate variability: Relationships with other nonlinear variables. *Auton Neurosci*. 2013; 177(2): 271-4.
26. Tulppo MP, Makikallio TH, Seppanen T, Airaksinen JKE, Huikuri HV. Heart rate dynamics during accentuated sympathovagal interaction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1998; 274(3): H810-H6.
27. Marwan N, Kurths J. Nonlinear analysis of bivariate data with cross recurrence plots. *Phys Lett A*. 2002; 302(5-6): 299-307.
28. Mohebbi M, Ghassemian H. Prediction of paroxysmal atrial fibrillation using recurrence plot-based features of the RR-interval signal. *Physiol Meas*. 2011; 32(8): 1147-62.
29. Souza E. Caracterização de sistemas dinâmicos através de gráficos de recorrência. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2008; Dissertação.
30. Ferreira MT, Messias M, Vanderlei LCM, Pastre CM. Análise comparativa de séries temporais da variabilidade da frequência cardíaca de indivíduos saudáveis com indivíduos que apresentam insuficiência renal crônica. *Tend Mat Apl Comput*. 2010; 11(2): 141-50.
31. Pop-Busui R, Evans GW, Gerstein HC, Fonseca V, Fleg JL, Hoogwerf BJ, et al. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the action to control cardiovascular risk in diabetes (ACCORD) trial. *Diabetes Care*. 2010; 33(7): 1578-84.

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

COVER LETTER, ARTICLE TYPES

COVER LETTER

Cover letters must state that all authors have seen and approved the study submitted. Provide a statement that no part of the submitted work has been published or is under consideration for publication elsewhere (except in the form of abstract). Provide a statement of financial or other relationships that might lead to a conflict of interest. In case of clinical trials, starting July 1st 2009, provide registration number and date.

TYPES OF MANUSCRIPT

Original Articles should report original clinical studies or research not previously published or being considered for publication elsewhere. The text should not exceed 3000 words, including list of authors and their affiliations, corresponding author, acknowledgements and figure legends, with an abstract of maximum 250 words, a list of no more than 30 references, and maximum 5 figures/tables (see below for more details on the layout).

Systematic Reviews are exhaustive, critical assessments of evidence from different data sources in relation to a given subject in the areas of diagnosis, prevention and treatment of clinical disorders or public health issues relevant to the NMCD readership. A systematic search of the relevant data sources should be carried out and the items collected should be carefully evaluated for inclusion based on a-priori defined inclusion/exclusion criteria. A description and an analytical graphic representation of the process should be provided. The specific features of the participants' or patients' populations of the studies included in the review should be described as well as the measures of exposure and outcome with the indication of the corresponding data sources. A structured abstract is required (like for Short reviews). The text must not exceed 3000 words including the acknowledgments, with no more than 4 tables and/or figures and maximum 70 references.

Meta-analyses should follow the same guidelines as for systematic reviews. They are expected to provide exhaustive information and statistical assessment of pooled estimates of pre-defined outcomes, study heterogeneity and quality, possible publication bias, meta-regression and subgroup analyses when appropriate. Depending on the type of study, Authors are invited to submit PRISMA flow diagrams or MOOSE checklists. Both systematic reviews and meta-analyses will be dealt with ordinarily as original articles as far as the editorial process is concerned.

Viewpoints and short review articles, including institutional reviews of recent developments, are generally upon invitation but authors interested in submitting a proposal are welcome to contact the editors. These articles also

undergo peer review. Their length should not exceed 3000 words and should have an abstract of up to 250 words. A limit of 50 references is recommended.

Letters to the Editor should be no longer than 500 words and may refer to material previously published in the Journal or report original research findings. These contributions appear in the index of the print copy but are generally published only in the online version of the Journal.

Guidelines on Clinical Trials Registration

1. Beginning July 1, 2009, NMCD will no longer consider articles dealing with clinical trials that were not registered. The letter accompanying manuscript submission must state trial registration date and number.
2. Registration must be done on a publicly available database, such as www.clinicaltrials.gov or any other registry meeting WHO and ICTRP criteria (please refer to <http://www.who.int/ictcp/en/> or <http://www.icmje.org/>). Further information about these sites can be obtained through <http://prsinformo.clinicaltrials.gov> and <http://www.controlled-trials.com>.

BEFORE YOU BEGIN

AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 5

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/ethicalguidelines>.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a conflict of interest form can be found at: http://elsevier6.custhelp.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923/.

Submission declaration

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 including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

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.

Copyright

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>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. 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>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

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. Please see <http://www.elsevier.com/funding>. AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 6

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>.

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.

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.

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION***Language***

The text should be written in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Please use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor 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 wordprocessor'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 wordprocessor.

FORMAT

Essential Title page Information Title. Should be concise (no more than 120 characters), informative and focused on the innovative contents of the study. As titles are often used in information-retrieval systems, abbreviations and formulae are to be avoided.

Author names and affiliations. **Provide last name followed by the initial(s) of the first name.** 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. The indication of the individual authors' affiliations must be informative but concise.

Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.** AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 7

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.

Clinical Trials. In case of clinical trials, starting July 1st 2009, registration number and date. *Word counts* for abstract and text, and number of references, figures and tables.

Abstract An abstract (maximum 250 words) should be typed double spaced on a separate page. The abstract for original articles should be structured under the headings (1) Background and Aims, (2) Methods and Results, (3) Conclusion, (f)registration number for clinical trials. The abstract of review and viewpoint articles should be structured under the headings (1) Aims, (2) Data Synthesis, (3) Conclusions.

Text

The following subheads should be included in all research articles: Introduction, Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Appendices, Tables, Figure Legends. The Methods section should include a statement that the experimental protocols and the process for obtaining informed consent (in human studies) were approved by the appropriate institutional review committee. For studies on animals, the Methods section should include the species, strain, and supplier/source. For studies on humans, the Methods section should include

a Study Population subheading, under which demographics of study population are defined. Acronyms should be spelled out in full (in the abstract or text) the first time they are cited. If more than 5 acronyms are used, they should be listed on the title page after the keywords. Avoid jargon. Measurement units should be reported as standard SI units with traditional units in brackets. Suppliers of specific instruments or drugs should be given, including the company name and city. All drugs should be referred to by their generic names.

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 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.

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): AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 8 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 which 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.

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.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue. AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 9

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 and issue/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:

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to: List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; NLM Catalog (Journals referenced in the NCBI Databases): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>; CAS (Chemical Abstracts Service): via <http://www.cas.org/content/references/corejournals>.

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, highresolution 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>.

Online Submission

Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases uses an online submission and review system. Authors can upload their article via the Elsevier Editorial System at <http://ees.elsevier.com/nmcd>. By accessing the website Authors will be guided stepwise through the uploading of the various files. Editable file formats are necessary. We accept most word-processing formats, but Word, WordPerfect or LaTeX is preferred. Figure files (TIFF, EPS, JPEG) should be uploaded separately. Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety. Save your files using the default extension of the program used. The system generates an Adobe Acrobat PDF version of the article which is used for the reviewing process. Authors, Reviewers and Editors send and receive all correspondence by e-mail and no paper correspondence is necessary. For assistance contact the Author Support at authorsupport@elsevier.com. The instructions also apply to authors of papers appearing in supplements or special issues.

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: AUTHOR INFORMATION PACK 30 Jul 2013 www.elsevier.com/locate/nmcd 10

- 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>.

Guide for Authors

- The primary purpose of *Journal of Diabetes and its Complications* is to act as a source of information, usable by those caring for patients with diabetes mellitus who are thereby at risk for development of those complications which all too often appear with time. While our primary aim is to assist the practitioner in his/her care of such patients, and to afford access to information that may allow the prevention of such complications, it is the Editors' wish to function as a forum for that information which, while still experimental, may shed light upon current thinking of those active in the fields appropriate to the aims of *Journal of Diabetes and its Complications*.

In addition to general articles on clinical aspects of diabetes mellitus, *Journal of Diabetes and its Complications* also presents articles on basic research in all areas of diabetes and its related syndromes. Topics covered relevant to the diabetic patient will include diagnosis, pathogenesis, and clinical management of the following: diabetic retinopathy, neuropathy and nephropathy; peripheral vascular disease and coronary heart disease; gastrointestinal disorders, renal failure and impotence; and hypertension and hyperlipidemia. *Journal of Diabetes and its Complications* will also publish papers on the general pathogenesis and prevention of diabetes.

Criteria for initial considerations for papers submitted will be originality, statistical probability of all data, and applicability to the aims of the Journal as a whole. Additional weight will be afforded to those submissions that are concise and comprehensible. All potentially acceptable manuscripts will be subjected to the process of peer review. To aid with the peer-review process, at least five suggested reviewers whose expertise falls within the scope of the submitted manuscript must be provided. For each suggested reviewer include full names, addresses (physical and email), phone and fax numbers.

Editor-in-Chief

Vivian Fonseca MD, Professor of Medicine and Pharmacology, Tullis Tulane Alumni Chair in Diabetes, Chief, Section of Endocrinology, Tulane University Health Sciences Center, 1430 Tulane Avenue - SL 53. New Orleans, LA 70112 USA.

Manuscript Submission

Manuscripts should be submitted online at <http://ees.elsevier.com/jdc> and the instructions on the site should be followed closely. Authors may submit manuscripts and track their progress to final decision. Reviewers can download manuscripts and submit their reports to the Editors.

The Editorial Office can be emailed at: JDiabComplic@elsevier.com

Journal Principles

All manuscripts submitted to *Journal of Diabetes and its Complications* 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 *Journal of Diabetes and its Complications* is understood to imply that it has not previously been published and that it is not being considered for publication elsewhere.

Authorship

The Corresponding Author must submit a completed Author Consent Form 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.

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.

Ethics

Work on human beings that is submitted to the journal should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki "Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects", adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964 (and its successive amendments). The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed. Studies involving experiments with animals must state that their care was in accordance with institution guidelines.

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.

Clinical Trials

All randomised controlled trials submitted to *Journal of Diabetes and its Complications* 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/>). ICJME-approved registries currently include the following: 'ClinicalTrials.gov'; 'www.ISRCTN.org'; 'www.actr.org.au'; 'www.umin.ac.jp'; and 'www.trialregister.nl'. Please include the unique trial number and registry name on manuscript submission.

Conflict of Interest Statement

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work, all within three years of beginning the work submitted. If there are no conflicts of interest, authors should state that there are none. This statement will be included in the published article.

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 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.

NEW SUBMISSIONS:

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 your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Simplified Submission service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References:

There are no strict requirements on reference formatting. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Author(s) name(s), journal title / book title, article title, year of publication, volume and issue / book chapter and the pagination must be present. The reference style required by the journal will be applied to the published version by Elsevier.

Formatting

requirements:

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections. It is not necessary to format your manuscript in double column layout, even if the journal has a double column layout.

The Abstract, of no more than 200 words, should be written with particular care. In the first sentence state what has been done. Special technical features of the methods should then be noted. The results should be summarized, and the most important data and supporting statistical correlations should be included. In the final sentence, the authors should emphasize the importance they attach to their observations. Key Words should be provided in the manuscript; normally 3-5 should be included.

The Introduction should be brief and set out the purposes for which the study has been performed.

The Materials and Methods should be sufficiently detailed so that readers and reviewers can understand precisely what has been done without studying the references directly. The description may be abbreviated when well-accepted techniques are used.

The Results should be presented precisely and concisely. Keep discussion of their importance to a minimum in this section of the manuscript.

The Discussion should relate directly to the study being reported with clear conclusions plus a perspective on possible future research. Do not include a general review of the topic.

REVISED SUBMISSIONS:

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. 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>). 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.

Manuscript Style and Format

Headlines and subheadlines should be employed liberally in the Methods, Results, and Discussion sections. Use short paragraphs whenever possible. Clarity of expression, good syntax and the avoidance of jargon is appreciated by the editors and readers. Abbreviations should be explained in the text.

The Title Page should include authors' names, highest earned degrees, academic addresses, address for correspondence, and grant support. Authorship should be assumed only by those workers who have contributed materially to the work and its report. Colleagues who have otherwise assisted or collaborated should be recognized in the Acknowledgment section, as should sources of funding. The title should be informative and concise. Avoid use of extraneous words such as "study," "investigation," etc. If data from the manuscript have been presented at a meeting, list the full name, date and location of the meeting and reference any previously published abstracts in the bibliography.

Figures must be suitable for high-quality reproduction. Lettering should be complete, of professional quality, and of a size appropriate to that of the illustration or drawing, with the necessary reduction in size taken into account. If, together with your accepted article, you submit usable color figures, Elsevier will ensure that these figures appear free-of-charge in color in the electronic version of your accepted article, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. Color illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your

accepted article. Please go to <http://ees.elsevier.com/jdc> and click on the Artwork Guidelines.

Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, 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 ensure that data is provided 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.

The Language of the journal is English. Upon request, Elsevier will direct authors to an agent who can check and improve the English of their paper (before submission). Please contact authorsupport@elsevier.com for further information.

Publisher Services

Proofs will be sent to the authors for careful checking. Changes or additions to the edited manuscript cannot be allowed at this stage. Corrected proofs should be returned to the publisher within stated deadlines.

Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication. Subsequent corrections will not be possible, so please ensure your first sending is complete.

Fast-track Publication. The journal aims for prompt publication of all accepted papers. Submissions containing new and particularly important data may be fast-tracked for peer review and publication; this is a limited facility and is strictly at the discretion of Editors.

Page Charges will not be made.

Offprints/Reprints. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

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/authorshome.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 subsidised, will have the corresponding articles made free to non-subscribers on ScienceDirect <http://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/authorshome.authors/wellcometrustauthors>

Further information for authors can be found

at <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors>