



**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO HUMANO E
TECNOLOGIAS**

**TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO E MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS E
DIABÉTICOS.**

MARIANA CRISTINA DA SILVA

**JANEIRO-2019
RIO CLARO**



**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO HUMANO E
TECNOLOGIAS**

**TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO E MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS E
DIABÉTICOS.**

MARIANA CRISTINA DA SILVA

Orientador: Profº Drº Robison José Quitério

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Desenvolvimento
Humano e Tecnologias.

RIO CLARO- SP
2019

S586t Silva, Mariana Cristina da
Tempo de aleitamento materno e modulação autonômica da frequência cardíaca de crianças e adolescentes obesos e diabéticos / Mariana Cristina da Silva. -- Rio Claro, 2019
99 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Robison José Quitério
Coorientador: Eduardo Federigui Baisi Chagas

1. Modulação autonômica da Frequência Cardíaca. 2. Aleitamento materno. 3. Obesidade infantil. 4. Diabetes tipo 1. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Modulação autonômica da frequência cardíaca de crianças e adolescentes obesos e diabéticos

AUTORA: MARIANA CRISTINA DA SILVA

ORIENTADOR: ROBISON JOSÉ QUITÉRIO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em DESENVOLVIMENTO HUMANO E TECNOLOGIAS, área: Tecnologias nas Dinâmicas Corporais pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ROBISON JOSÉ QUITÉRIO

Departamento de Fisioterapia e Terapia Ocupacional / UNESP - Faculdade de Filosofia e Ciências de Marília - SP



Prof. Dr. PAULO ROGÉRIO CORRÊA

Hospital de Base / FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto / SP



Profa. Dra. FERNANDA REGINA DE MORAES

Departamento de Ciências da Saúde / UNIUBE - Universidade de Uberaba / MG

Rio Claro, 10 de janeiro de 2019

Título alterado para: Tempo de aleitamento materno e modulação autonômica da frequência cardíaca de crianças e adolescentes obesos e diabéticos

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais amados, Paulo e Kely, que são o meu alicerce, que sempre acreditaram em mim, me apoiaram e proveram condições para que eu chegasse até aqui! Ensinaram-me a ter força e a entender que nossa fé não deve estar findada nas coisas que Deus pode fazer e que devemos ama-lo pelo que Ele é e não pelo tamanho de nossa recompensa ou dificuldades! Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado e fortificado durante mais essa jornada de minha vida.

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais Paulo e Kely e minha irmã Ana Caroline por terem me apoiado, suportado momentos de estresse e orientado nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos meus amigos do grupo de pesquisa LIBEM, que sempre me consolaram em momentos de desespero, ampararam e caminharam ao meu lado sendo exemplos de competência e superação, é sempre bom sabermos que não somos os únicos e que por isso não estamos sozinhos. Em especial gostaria de agradecer a Fernanda e o Eduardo, as duas pessoas que foram meus padrinhos e pais na pesquisa, me ajudando desde a teoria, coleta até a estatística, além de serem exemplos e determinação e seres humanos, muito obrigada!

Agradeço ao Glauco por toda ajuda durante esses dois anos, sem ele não teria conseguido completar as coletas de dados e avaliações. Sou grata também a Pauline, que foi minha parceira desde o primeiro dia de faculdade e me acompanhou até o final do mestrado, iniciamos a pesquisa juntas, entregamos o TCC juntas, entramos no mestrado, qualificamos e não poderia ser diferente, defenderemos juntas! Agradeço pelo apoio e que nossa caminhada possa permanecer, segundo a vontade de Deus, sempre juntas, apoiando uma a outra!

Agradeço a minha amiga Angélica, companheira de pesquisa, de trabalho e da vida! Você é um exemplo pra mim, obrigada por me ajudar na jornada acadêmica e no hospital, amiga que venham sempre muitos plantões juntas, e isso não apenas na UTI!

Obrigada a todos os meus professores e todas as pessoas que contribuíram de maneira irrevogável com minha formação acadêmica e pessoal, não citarei nomes para não correr o risco de esquecer alguém.

Agradeço em especial ao meu orientador Robison por quem tenho grande admiração e respeito. Obrigada por me acolher e me ensinar a dar os primeiros passos na trajetória da vida científica, pelas oportunidades, pela confiança nesses cinco anos de pesquisa e pelos desafios, eles foram de fundamental importância para meu crescimento e amadurecimentos não apenas acadêmico, mas principalmente pessoal. Com certeza nunca me esquecerei do senhor!

Agradeço aos meus amigos Maycon, Marcelo, Felipe, Caio, Leisi e todos os colegas de trabalho que me ajudaram em tudo, em trabalhos formais como formatação, coletas, recrutamento de voluntários, mas sobre tudo foram grandes alicerces, compartilhando de lágrimas e alegrias, foram muitos abraços terapêuticos!

Agradeço ao Luis Fernando, meu amigo, não tenho palavras para expressar o quanto sou grata por ter me ajudado nesses dois anos, sempre disposto a formatar, ler, corrigir erros, mesmo nem sabendo do que se tratava e principalmente me dizendo para não desistir. Tenho certeza que aprendeu muito sobre variabilidade da frequência cardíaca, sobre estatística, tabulações, análise simbólica, mas também me ensinou muito que uma amizade verdadeira não se baseia em trocas, e que o amor ao próximo é um dos sentimentos mais bonitos e preciosos a se cultivar!!

Agradeço por fim a todos que de alguma forma contribuíram para a realização de meu trabalho.

“A esperança tem duas filhas lindas, a indignação e a coragem; a indignação nos ensina a não aceitar as coisas como estão; a coragem, a mudá-las”

Santo Agostinho

Resumo: Dentre os fatores de risco mais incidentes na população infanto-juvenil estão a obesidade e a diabetes tipo 1, que trazem uma séria de consequências a saúde dentre elas postula-se que geram alterações da modulação autonômica da frequência cardíaca. A organização mundial da saúde defende que a amamentação exclusiva até pelo menos 6 meses de idade é um fator protetor contra essas comorbidades. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em crianças e adolescentes obesos e diabéticos, bem como a influência do sobrepeso e composição corporal nessas possíveis alterações, e se a amamentação adequada além de proteger contra algumas doenças-poderia ter um efeito benéfico também na modulação autonômica da frequência do coração. Para isso foram avaliadas 72 crianças e adolescentes de 8 a 17 anos, divididos em 3 grupos (Eutróficos saudáveis, diabéticos tipo 1 e obesos), realizada uma avaliação de composição corporal, medidas hemodinâmicas e questionário para investigação do tempo de aleitamento exclusivo e o encerramento da amamentação. Foram submetidos a análise da VFC por 20 min em decúbito dorsal por um cardiófrequencímetro e analisados do iRR por métodos lineares (domínio do tempo e da frequência) e não lineares (depuração de alta frequência, análise simbólica e entropia de Shannon). Foi observado que os diabéticos nessa faixa etária não apresentaram ainda alterações da VFC, enquanto que a obesidade já provocou uma diminuição da modulação autonômica cardíaca global e parassimpática e aumento da modulação simpática, sendo que a distribuição da adiposidade, como a obesidade central, mostrou-se ainda mais prejudicial em todos os componentes autonômicos do que o próprio IMC e composição de gordura corporal. Sobre o aleitamento materno, a amamentação exclusiva por mais tempo correlacionou de forma positiva com uma melhor VFC.

Palavras chaves: Sistema nervoso autônomo; Diabetes; Obesidade Infantil; Aleitamento Materno.

Abstract: Among the risk factors most incidental in the child and adolescent population are obesity and type 1 Diabetes, which bring a serious health consequences among them postulated to generate alterations in the autonomic modulation of heart rate. The World Health Organization argues that exclusive breastfeeding until at least 6 months of age is a protective factor against these comorbidities. Thus, the objective of this study was to investigate heart rate variability (HRV) in obese and diabetic children and adolescents, as well as the influence of overweight and body composition on these possible alterations and whether adequate breastfeeding besides protecting against some diseases could have a beneficial effect also in the autonomic modulation of heart rate. For that, 72 children and adolescents from 8 to 17 years old, divided into 3 groups (healthy Eutrophic, type 1 diabetics and obese), were evaluated for body composition, hemodynamic measures and questionnaire to investigate the exclusive breastfeeding time and the closure of breastfeeding. They were submitted to HRV analysis for 20 min in the dorsal decubitus position by a cardiofrequency meter and analyzed by the linear methods (time domain and frequency) and nonlinear methods (high frequency debugging, symbolic analysis and Shannon entropy). It was observed that diabetics in this age group did not yet present HRV changes, whereas obesity has already caused a decrease in global and parasympathetic autonomic cardiac modulation and increased sympathetic modulation, and the distribution of adiposity, such as central obesity, is even more damaging in all autonomic components than the BMI itself and body fat composition. Regarding breastfeeding, exclusive breastfeeding for a longer time correlated positively with a better HRV.

Keywords: Autonomic nervous system; Diabetes; Child obesity; Breastfeeding.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Fórmulas para cálculo da densidade corporal de crianças e adolescentes de 9 a 16 anos.	38
Quadro 2 – Fórmulas para cálculo da densidade corporal de crianças e adolescentes de 9 a 16 anos.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Índices de Variabilidade da Frequência Cardíaca lineares e não lineares entre os grupos.	51
Tabela 2 – Comparação entre grupos a respeito do tempo exclusivo e total de aleitamento materno.	61
Tabela 3 – Associação entre o tempo de aleitamento exclusivo (TEA) e total (TAT) de amamentação com os índices lineares da VFC.	62
Tabela 4 – Medidas antropométricas e de composição corporal dos grupos estudados.	76
Tabela 5 – Resultado da análise de Correlação dos índices da VFC lineares e não lineares com as medidas antropométricas e de composição corporal para a amostra estudada.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Percentual
AF	Alta frequência
BF	Baixa frequência
bpm	Batimentos por Minuto
C.A.O.I.M.	Centro de Atendimento a Obesidade Infantil de Marília
CC	Circunferência da Cintura
cm	Centímetro
CQ	Circunferência de Quadril
DFA	Depuração de alta frequência
DM 1	Diabetes mellitus tipo 1
DP	Desvio Padrão
FC	Frequência Cardíaca
GO	Grupo obeso
GE	Grupo eutrófico
GD	Grupo Diabético
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
Hz	Hertz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Índice de Conicidade
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IMC	Índice de Massa Corpórea
iRR	Intervalos RR
kg	Quilograma
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
m	Metro

mm	Milímetro
ms	Milissegundo
NN50	Número de intervalos R-R adjacentes maiores de 50s
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão Arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão Arterial diastólica
pNN50	Porcentagem dos intervalos R-R com diferença de duração maior que 50s
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
RCQ	Relação Cintura / Quadril
RMSSD	Desvio Padrão da Frequência Cardíaca (Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, expressa em ms)
RRtri	Número total de intervalos R-R divididos pela frequência modal
s	Segundo
SBC	Sociedade Brasileira de cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SD1	Desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$,
SD2	Desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RR$
SE	Entropia de Shannon
SDNN	Desvio padrão dos intervalos R-R
SNA	Sistema nervoso autonômico
SUS	Sistema único de Saúde
TAE	Tempo de Aleitamento exclusivo
TCL	Termo de Consentimento Livre
TEA	Tempo de encerramento da amamentação

TINN	Medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo do histograma
u.n	Unidades Normalizadas
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
WHO	World Health Organization
Δ	Variação
α	Alfa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	26
2. REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1. Obesidade infanto-juvenil	27
2.2. Diabetes mellitus tipo 1	30
2.3. Modulação autonômica da frequência cardíaca.....	32
3. JUSTIFICATIVA	34
4. OBJETIVOS	35
4.1. Geral	35
4.2. Específicos	35
5. MÉTODOS.....	35
5.1. Amostra.....	36
5.2. Procedimentos gerais.....	37
5.3. Avaliação do tempo de aleitamento materno	37
5.4. Medidas antropométricas e da composição corporal	38
5.5. Registros dos intervalos RR e análise da modulação autonômica da frequência cardíaca	39
6. ANÁLISE DOS DADOS.....	42
7. ARTIGOS	42
7.1. Artigo I: Modulação autonômica da frequência cardíaca em crianças e adolescentes obesos e diabéticos.	43
7.1.1.Introdução	44
7.1.2.Objetivo	45
7.1.3.Métodos.....	45
7.1.4.Análise dos dados	50

7.1.5.Resultados	50
7.1.6.Discussão	52
7.1.7.Conclusão	53
7.2. Artigo II: Diabetes tipo 1, obesidade infantojuvenil, Tempo de aleitamento materno, e modulação autonômica da frequência cardíaca.	54
7.2.1.Introdução	54
7.2.2.Objetivo	55
7.2.3.Métodos.....	56
7.2.4.Análise dos dados	60
7.2.5.Resultados	61
7.2.6.Discussão	63
7.2.7.Conclusão	66
7.3. Artigo III: Perfil antropométrico, composição corporal e variabilidade da frequência cardíaca em crianças e adolescentes obesos e diabéticos tipo 1.	67
7.3.1.Introdução	67
7.3.2.Objetivo	69
7.3.3.Metodologia.....	69
7.3.4.Análise dos dados	76
7.3.5.Resultados	76
7.3.6.Discussão	78
7.3.7.Conclusão	81
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
REFERÊNCIAS	83
APÊNDICE I: FICHA DE AVALIAÇÃO AMAMENTAÇÃO MATERNA.....	91
APÊNDICE II: TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	92
APÊNDICE III: TERMO DE ASSENTIMENTO.....	96

1. INTRODUÇÃO

Postula-se que os fatores de risco para doenças cardiovasculares, como o excesso de gordura corporal, Diabetes e hiperglicemia, estão associados às disfunções na modulação autonômica cardíaca. Essas doenças têm acometido cada vez mais cedo a população e estão associadas à comorbidades e risco de morte súbita (GRASSI et al, 2009; THAYER et al., 2010).

Dentre os fatores de risco cardiovasculares mais incidentes na população infanto-juvenil, estão a obesidade e a diabetes tipo 1 (DM 1).

A obesidade é causada pela interação de diversos fatores, tornando-se cada vez mais um grave problema de saúde pública, pois, está relacionada com uma variedade de adaptações ou alterações na estrutura e função cardíaca (REUTER et al., 2013).

Enquanto que o DM 1 é a segunda doença crônica mais prevalente na infância, caracterizada pela destruição das células beta que levam a uma deficiência de insulina. Essa condição pode vir associada a consequências que acometem vários órgãos e sistemas do organismo, associado a altos níveis de mortalidade e alterações micro e macrovasculares, podendo ser fator de risco principalmente para doenças cardiovasculares (SBC, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) refere que a amamentação materna exclusiva, até pelo menos seis meses de vida, é um fator protetor contra doenças metabólicas, obesidade infantil e risco ou mortalidade cardiovascular. O aleitamento exclusivo sem adição de água, suco, chá, fórmulas substitutas do leite materno, outros líquidos ou alimentos, até seis meses de idade, oferece muitas vantagens, pois o leite materno contém todos os nutrientes, fatores de crescimento e componentes imunológicos necessários à completa saúde infantil (WHO, 2004).

Vários fatores bioativos estão presentes no leite humano como hormônios e fatores de crescimento que vão atuar sobre o crescimento, a diferenciação e a maturação funcional de órgãos específicos, afetando vários aspectos do desenvolvimento (WAGNER, 2002). As primeiras experiências nutricionais do indivíduo podem influenciar sua suscetibilidade para doenças crônicas na idade adulta, isso tem recebido a denominação de *imprinting* metabólico. O termo *imprinting* metabólico descreve um fenômeno através do qual uma experiência nutricional precoce, atuando durante um período crítico e específico do

desenvolvimento, acarreta em uma janela de oportunidade, que por sua vez conduziria um efeito duradouro, persistente ao longo da vida, predispondo a determinadas doenças (WATERLAND; GARZA, 1999; BALABAN; SILVA, 2004).

No que diz respeito ao tempo de aleitamento materno e a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em crianças obesas e diabéticas tipo 1, existem poucos estudos na literatura que se propuseram a fazer essa associação. No entanto, Moraes (2016) através de seus estudos encontrou uma correlação significativa entre tempo de amamentação materna e os índices da VFC lineares e não lineares em crianças obesas, sugerindo que quanto menor o período de amamentação materna à que a criança é exposta, menor seria a VFC.

Outra questão importante diz respeito ao acompanhamento do crescimento, sendo parte essencial do exame físico pediátrico. Todas as crianças e adolescentes devem ter periodicidade no acompanhamento de peso e estatura com comparação de referências sempre indicadas (SBD, 2016).

A velocidade de crescimento normal é um ótimo índice de saúde global, enquanto déficits de crescimento indicam controle inadequado ou doenças associadas, que devem ser rastreadas, principalmente quando há a presença do diabetes (SBD, 2016), por esse motivo, até mais do que o adulto, nessa faixa etária é extremamente necessário o acompanhamento de doenças e comorbidades que possam advir com esse desenvolvimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. OBESIDADE INFANTO-JUVENIL

O aumento da prevalência da obesidade é historicamente associado a um desequilíbrio entre consumo e gasto energético, contudo, atualmente sua etiologia é considerada multifatorial, englobando uma série de fatores, tais como: predisposição genética e histórico familiar de obesidade, etnia de alto risco e baixo nível socioeconômico, retardo no crescimento intrauterino com rápido ganho de peso pós-parto, excessivo ganho de peso materno, exposição intrauterina à diabetes gestacional, pequeno período de exposição à amamentação materna, dietas inadequadas na infância e estilo de vida sedentário (FREEMARK, 2014).

De acordo com relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgado em julho de 2014, o número de crianças com obesidade no mundo pode chegar a 75 milhões em 2025. Atualmente, são 44 milhões.

O Brasil, segundo os últimos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF – 2008/2009), realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), tem cerca de 15% de crianças e adolescentes com obesidade e 30% com excesso de peso, números que triplicaram nos últimos 30 anos. (BRASIL, 2010; CÁRDENASCÁRDENAS et al., 2015; WANG; LOBSTEIN, 2006; WHO, 2013).

Estima-se que 61% dos jovens com excesso de peso tem pelo menos um fator de risco adicional para doença cardíaca (DIETZ, 1998; FREEDMAN, 1999; STRAUSS, 2000). Isto porque o tecido adiposo não é um passivo local de estoque de energia. A principal função dos adipócitos é armazenar energia na forma de triglicerídeos durante o consumo excessivo de alimentos, e liberar energia em períodos de jejum, além da produção de numerosos hormônios e citocinas que possuem um importante papel na patogênese e desenvolvimento de complicações da obesidade, tanto em adultos, quanto em crianças (ARSLAN; ERDUR; AYDIN, 2010; WILBORN et al., 2005). Por isso a obesidade é considerada uma doença multifatorial complexa, que se tornou um grave problema de saúde pública, inclusive na população infanto-juvenil (ENES; SLATER, 2013).

O aleitamento materno insuficiente é apontado como importante fator de risco para o desenvolvimento de obesidade infantil. Essa hipótese não é recente, contudo, devido aos resultados ainda controversos, permanece um tema atual e relevante, principalmente diante do atual quadro de incidência da obesidade (BALABAN; SILVA, 2004).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) refere que a amamentação materna exclusiva, até pelo menos seis meses de vida, é um fator protetor contra obesidade infantil (WHO, 2004).

O tempo de amamentação está associado inversamente com a obesidade infantil. Com base na literatura científica, verificou-se que os resultados a partir de três meses de amamentação são positivos, entretanto, quando esse período for estendido para 13 a 25 semanas, a redução na obesidade atinge 38% aos nove anos de idade, e a amamentação acima de 26 semanas foi associada a uma redução de 51% (MCCRORY; LAYTE, 2012). Esses achados persistem mesmo

após o ajuste para a idade, sexo e peso ao nascer (NOVOTNY et al., 2007; TEWLLS; NEWHOOK, 2010; MCCRORY; LAYTE, 2012).

A obesidade está relacionada com uma variedade de adaptações ou alterações na estrutura e função cardíaca (REUTHER et al., 2013), além de se associar com aumento da morbimortalidade e favorecer o desenvolvimento de outros resultados adversos, tanto a curto quanto longo prazo.

Há relatos de que a hiperatividade simpática observada no obeso exercerá papel importante no aumento da resistência à insulina, hipertensão, taquicardia, complicações em órgãos-alvos e morte súbita (LOPES, 2006) consequência da ativação de alguns mediadores liberados pelo tecido adiposo, os quais influenciam a homeostase corporal (REUTHER et al., 2013).

Indivíduos obesos estão mais susceptíveis a desenvolver algum grau de resistência à insulina, que é fator de risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2 e de doenças cardiovasculares (DESPRES; LEMIEUX, 2006; REAVEN, 2005), e por consequência, podendo ocorrer degeneração dos ramos simpático e parassimpático, implicando em redução da VFC (EWING, 1980).

Além disso, uma maior atividade lipolítica apresentada pelo tecido adiposo intra-abdominal eleva o nível de ácidos graxos livres, o qual pode induzir a hiperinsulinemia, resistência à insulina e a dislipidemias (WARNOTTE et al., 1994; PRENTKI, 1992; SOUZA; ARANTES; COSTA, 2008).

Há poucos indícios de que alterações isoladas no perfil lipídico, como elevações nos níveis de colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), assim como a redução nos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) se relacionem com alterações na modulação autonômica cardíaca, entretanto, quando há associação com outros fatores como a obesidade, a probabilidade de redução da VFC aumenta (KIMURA et al., 2006).

Já em relação à hipertensão, o próprio desenvolvimento da doença está associado a modificações precoces do sistema nervoso autônomo (SNA), com fortes evidências de diminuição da modulação vagal (THAYER et al., 2010).

Alguns estudos evidenciaram que a simultaneidade de dois ou mais fatores de risco para doenças cardiovasculares tem impacto maior na modulação cardíaca autonômica se comparado a casos de morbidades isoladas, no entanto essa hipótese é pouco explorada nessa população (THAYER et al., 2010).

O tempo reduzido de aleitamento materno, a obesidade e as alterações do sistema nervoso autônomo podem predispor às doenças cardiocirculatórias e metabólicas.

2.2. DIABETES MELLITUS TIPO 1

Diabetes mellitus (DM) é caracterizado por um grupo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum à hiperglicemia, resultante de defeituosa ação e/ou secreção da insulina (MEDEIROS et al., 2003; SBD, 2016).

Pela sua natureza crônica e a gravidade das complicações associadas, é considerada uma doença onerosa, não apenas para a pessoa e família, mas também para o sistema único de saúde (SUS). No entanto, esses custos não são restritos apenas a quesitos econômicos, mas também a impactos como dor, ansiedade, perda da qualidade de vida, consequências muito mais difíceis de quantificar (SBD, 2016).

A classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde e pelas diretrizes brasileiras de diabetes incluem quatro classes clínicas: Diabetes tipo 1 (DM 1), Diabetes tipo 2 (DM 2), outros tipos específicos de diabetes e diabetes gestacional (SBD, 2016).

A DM 1 é a segunda doença crônica mais prevalente na infância, menos prevalente apenas que a asma, caracterizada pela destruição das células beta que levam a uma deficiência de insulina, sendo subdividido em tipo 1 A e 1 B. (SBD, 2016).

A DM 1A corresponde a cerca de 5 a 10 % dos casos de DM, sendo resultado da destruição autoimune de células betapancreáticas com consequente deficiência da insulina. Os marcadores de autoimunidade são os autoanticorpos anti-ilhota ou antígenos específicos da ilhota e incluem os anticorpos anti-insulina, antidescarboxilase do ácido glutâmico (GAD 65), antitirosina-fosfatases (1A2 e 1A2B) e antitransportador de zinco (Znt). A fisiopatologia pode estar associada a fatores genéticos e ambientais, sendo que a condição genética envolve genes relacionados ao sistema do antígeno leucocitário humano (HLA) classe II. Dentre os fatores ambientais potenciais para o desenvolvimento da doença em indivíduos geneticamente predispostos estão certas infecções virais, deficiência de vitamina D e fatores nutricionais como a introdução precoce do leite bovino ou amamentação insuficiente (SBD, 2016). Já a DM 1B ou idiopática, não possui uma etiologia

conhecida, correspondendo a minoria dos casos de DM, onde não se associam a marcadores autoimunes contra a células beta e nem com haplótipos do sistema HLA (SBD, 2016).

Uma epidemia de Diabetes está em curso. Segundo dados, a incidência de DM 1 apresenta uma variação demográfica, sendo que no Brasil, as taxas já alcançam cerca de 7,6 mil indivíduos com idade menor a 15 anos, e sua incidência em população infantil com menos de 5 anos tem aumentado consideravelmente. No início do século XXI atribui-se 5,2 % das causas de óbito ao diabetes, sendo que particularmente as complicações cardiovasculares e cerebrovasculares foram apontadas como as principais causas desses óbitos, tornando-se essa doença a quinta causa de morte no Brasil (SBD, 2016).

O DM 1 é responsável por 90% dos casos de diabetes na infância; no entanto, apenas 50% dos casos são diagnosticados antes dos 15 anos (SBD, 2016). Dados epidemiológicos publicados no “Atlas de Diabetes 2013”, da *International Diabetes Federation* (IDF), estimam uma prevalência de cerca de 500 mil crianças menores de 15 anos com DM 1 no mundo. Dentre os países com maior número de casos novos por ano, estão EUA (13 mil), Índia (10.900) e Brasil (5 mil) (SBD, 2016).

Essa condição pode vir associada a consequências sérias que acometem vários órgão e sistemas do organismo, associado a altos níveis de mortalidade e alterações micro e macro vasculares, podendo ser fator de risco principalmente para doenças cardiovasculares (ALVES et al., 2012).

Por esse motivo a prevenção é uma tarefa útil e importante para evitar ou minimizar danos, tendo impacto em reduzir e retardar tanto a necessidade de atenção à saúde como de se tratar as complicações da doença.

No que se refere a DM 1, a prevenção primária não tem uma base racional que possa se aplicar a toda a população, porém as teorias mais aceitáveis se baseiam no aleitamento materno e em se evitar a administração do leite de vaca nos primeiros 3 meses de vida, no entanto, são teorias que requerem mais estudos para confirmação e embasamento (SBD, 2016).

No que se referem à etiologia da DM 1, alguns estudos sugerem que a existência de fatores ambientais pode atuar na manifestação dos genes que causarão a destruição autoimune das células pancreáticas. Dentre esses fatores ambientais acredita-se que o uso do leite de vaca, altamente alérgico e a ausência

da amamentação podem estar relacionados com os processos autoimunes mencionados (PEREIRA; ALFENAS; ARAÚJO, 2014).

Borch-Johnsen *et al.*, em 1984, foram os primeiros a observar que a amamentação pareceu ter um efeito protetor contra o DM 1, prevenindo ou retardando o aparecimento desta doença. Propôs que a presença de antimicrobianos e agentes anti-inflamatórios, bem como substâncias que promovam a maturação do sistema imunológico no leite humano, exercem efeito protetor. (BORCH-JOHNSEN *et al.*, 1984).

Acredita-se que a albumina do soro bovino é um dos fatores responsáveis pelo desencadeamento do processo autoimune envolvido na fisiopatologia da DM 1, sendo que a amamentação no seio materno teria propriedades anti-infecciosas evitando uma exposição precoce da criança a agentes etiológicos contidos nos substitutivos do leite materno (MEDEIROS *et al.*, 2003; PEREIRA, ALFENAS, ARAÚJO, 2014). Essa preposição de que fatores ambientais poderiam influenciar na fisiopatologia da doença, pode representar uma grande vantagem, oferecendo embasamento para prevenção do surgimento do DM 1 além de possível redução substancial dos efeitos deletérios naqueles que já são portadores da doença (MEDEIROS *et al.*, 2003), no entanto, resultados conflitantes ainda são encontrados a esse respeito.

Segundo as recomendações recentes da *American Heart Association* (AHA), indivíduos diabéticos tipo 1 são um grupo de alto risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares de forma precoce, por esse motivo é recomendado um controle rigoroso de fatores de risco como a obesidade, pressão arterial, níveis glicêmicos, de colesterol e triglicerídeos. Recomendando níveis de LDL colesterol inferiores a 100 mg/dl, associados a IMC < 90%, pressão arterial inferior a 90% do valor recomendado para idade e sexo e controle glicêmico com HbA1c menor que 7%. Caso esses objetivos não sejam alcançados, recomenda-se o uso de medicações hipolipemiantes (SBD, 2016).

2.3. MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

O SNA desempenha um papel importante na regulação dos processos fisiológicos do organismo humano tanto em condições normais quanto patológicas. Dentre as técnicas utilizadas para sua avaliação, a VFC tem sido útil como uma

medida simples e não-invasiva dos impulsos autonômicos, representando um dos mais importantes marcadores quantitativos do balanço autonômico (MAJERCAK, 2002; VANDERLEI et al., 2009).

Atualmente divide-se a análise da VFC em duas classes metodológicas: os métodos lineares e não lineares. Os métodos lineares são pioneiros e englobam os que compõem os domínios do tempo e da frequência. Já os métodos não lineares, envolvem métodos baseados na Teoria do Caos e na análise de complexidade dos sistemas dinâmicos. A análise da dinâmica da frequência cardíaca por métodos baseados na teoria do Caos, ou seja, pela teoria de sistemas não-lineares, vem ganhando crescente interesse (GODOY; TAKAKURA; CORREA, 2005).

A análise simbólica, descrita por Porta et al. (2001), vem sendo utilizada em função de algumas características dos mecanismos de regulação cardiovascular apresentarem comportamento não-linear e que, portanto, não são identificados através dos métodos lineares. Além disso, os resultados da análise simbólica permitem inferências similares para aplicabilidade prática da análise da VFC (PORTA et al., 2009; 2007).

A análise simbólica pode distinguir em uma série de intervalos RR, as sequências de batimentos cardíacos, denominados padrões, e relacioná-los à modulação simpática e parassimpática. Já a Entropia de Shannon associada à análise simbólica, que por definição demonstra o grau de complexidade de uma informação, fornece medidas da distribuição desses padrões (GUZZETTI et al., 2005; PORTA et al., 2001).

Devido às graves repercussões cardiocirculatórias causadas pela obesidade, recentemente tem sido investigado sua relação com as alterações na função do sistema nervoso autônomo (SNA) (RABBIA et al., 2003; RABBONE et al., 2009; MOLFINO et al., 2009), inclusive em crianças. O SNA contribui na coordenação do equilíbrio energético corporal e assim é associado à fisiopatologia da obesidade. Estudos recentes a esse respeito ainda se mostram controversos.

As complicações crônicas do DM 1 podem ocorrer como resultado de lesões progressivas de vários órgãos e sistemas, dentre eles o sistema nervoso autônomo cardíaco, acarretando no que se chama de neuropatia autonômica cardiovascular, podendo ser importante fator de risco para doença arterial coronariana, doença cardiovascular e acidente vascular cerebral (MEDEIROS et al., 2003).

Indivíduos diabéticos apresentam risco aumentado de 3 a 4 vezes de sofrer evento cardiovascular e o dobro do risco de morrer deste evento quando comparados à população geral (MEDEIROS et al., 2003).

A neuropatia autonômica cardiovascular é uma das formas comum de disfunção autonômica encontrada em pacientes com DM, provocando anormalidades no controle da frequência cardíaca, e na dinâmica vascular. As disfunções autonômicas podem ser avaliadas por diversas técnicas, no entanto um método não invasivo que vem sendo usado por ser de fácil aplicabilidade é a VFC, que pode facilitar a detecção precoce dessas disfunções e possível intervenção nesse grupo (MASER; LENHARD, 2005)

A hiperglicemia persistente associada a outros fatores de risco cardiovascular determinam alterações nas células neurais (SBD, 2016). Essas alterações decorrem da degeneração das fibras dos sistemas simpático e parassimpático (CAMBRI et al., 2008), e as principais manifestações são taquicardia de repouso, hipotensão ortostática grave, síncope, intolerância a exercício físico, redução da VFC, com posterior perda da habilidade de ajustes fisiológicos (FREITAS; JUNIOR; FOSS, 2008).

No que diz respeito ao tempo de aleitamento materno e a VFC em crianças e adolescentes diabéticos e obesos como anteriormente mencionados existem poucos estudos que se propuseram a realizar tal investigação, no entanto a hipótese seria que o tempo de amamentação de pelo menos seis meses, como recomendado pela organização mundial da saúde, exerceria também um papel importante no controle autonômico da frequência cardíaca e por consequência uma maior VFC.

3. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a incidência e prevalência da obesidade, da DM 1, de fatores de risco para doenças cardiovasculares, bem como as alterações que podem desencadear no sistema nervoso autônomo, estudos que se propõem a investigar a relação do tempo de aleitamento materno e o desenvolvimento dessas doenças são de grande importância para a literatura, proporcionando maior embasamento para a elaboração de programas de prevenção e de tratamento das possíveis adversidades que possam surgir com o curso das patologias. Além disso, estes estudos fornecem maior estímulo a amamentação, pois se trata de uma estratégia útil para a

prevenção além de outros benefícios que proporciona, independentemente da idade da criança, da renda familiar, do estado nutricional e da escolaridade dos pais.

Outra questão que a pesquisa se compromete a investigar diz respeito às graves repercussões causadas pela Diabetes e Obesidade sobre o sistema autonômico de crianças e adolescentes, sendo assim, é importante a avaliação da VFC nessa população para detecção precoce de possíveis alterações, principalmente a partir de uma metodologia simples e acessível, permitindo deste modo a intervenção para minimizar morbidades e mortalidades por doenças cardíacas, visto que estudos que se propõem a fazer essa associação ainda são escassos.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAL

O objetivo geral do estudo é investigar se existe associação entre o tempo de aleitamento materno e a modulação autonômica da frequência cardíaca de repouso de crianças e adolescentes obesos e diabéticos tipo 1.

4.2. ESPECÍFICOS

A pesquisa aqui discurrida tem como objetivos específicos investigar:

- Modulação simpática e parassimpática em crianças e adolescentes com Obesidade e Diabetes Tipo 1.
- Se existe associação entre o tempo de aleitamento materno e a etiologia da Diabetes tipo 1 e Obesidade infantil;
- E a relação do excesso de gordura corporal e alterações de medidas antropométricas na VFC.

5. MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual Paulista (Campus Marília, SP), de acordo com a Resolução 466/2012, sendo aprovado sob o processo nº: 1.685.041/ 2016.

Os pais ou responsáveis assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e os adolescentes com idade igual ou superior a 12 anos assinaram um termo de assentimento, segundo a resolução 466/2012 (Apêndices II e III).

5.1.AMOSTRA

O tamanho da amostra foi determinado considerando os dados do estudo piloto para a variável de análise linear da variabilidade da frequência cardíaca do domínio do tempo, que corresponde a modulação parassimpática, o índice RMSSD (ms). Considerando um erro do tipo I (alfa) de 5% (0,05), um poder de estudo de 80%, uma diferença média de 18,3 e um desvio-padrão dos resíduos de 19,2, o tamanho da amostra foi estimada em 23 elementos amostrais por grupo. Os cálculos do tamanho da amostra foram realizados no *software Primer of Statistics* versão 7.0 (GLANTZ, S.A, 2014).

Foram avaliadas crianças e adolescentes de oito a 17 anos de ambos os sexos, que compuseram três grupos:

1) Voluntários com o diagnóstico clínico médico de *diabetes mellitus* tipo 1A (autoimune) ou tipo 1B (idiopático) (American Diabetes Association, 2015), insulino dependentes, otimizada medicação por acompanhamento médico de endocrinologista especializada. Não foram incluídos aqueles com: diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 2 e outros tipos específicos. Todos provenientes de um ambulatório especializado em distúrbios endócrinos e diabetes infanto-juvenil da cidade de Marília- SP.

2) Obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97), classificados a partir do Índice de Massa Corpórea (WHO, 2007) de acordo com a classificação proposta por Cole et al. (2000), validada e específica para crianças e adolescentes, de acordo com sexo e idade, e que inclui dados demográficos brasileiros. Todas as crianças e adolescentes classificados como obesos fazem parte do centro de obesidade infantil de Marília- SP (C.A.O.I.M.).

3) Eutróficos não diabéticos, saudáveis, (percentil de IMC igual ou menor que 85), estudantes de escolas públicas no município de Marília- SP ou demanda espontânea.

Como critérios de não inclusão foram aqueles que apresentaram doenças cardíacas, respiratórias e neurológicas; anemia; marca-passo; tabagistas; que

consumam 30g/dia ou mais de álcool; grávidas; irregularidade menstrual (obtida informações por anamnese) e ainda aqueles que não conseguiram realizar os protocolos experimentais e cujos registros de iRR apresentaram mais de 5% de erros, ou seja, somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo.

Foram triados 110 voluntários, destes avaliados 72, que passaram por familiarização, uma etapa de anamnese e um segundo dia de coleta de dados antropométricos, Pressão arterial e a VFC.

5.2. PROCEDIMENTOS GERAIS

Os experimentos foram realizados no período da tarde, das 13hs às 17hs, para padronizar as influências das variações circadianas sobre o organismo (BILAN et al., 2005). Os voluntários usaram roupas confortáveis e na véspera e no dia dos testes não ingeriram bebidas alcoólicas e/ou estimulantes (chá, café, outros), não realizaram atividades físicas extenuantes e fizeram uma refeição leve pelo menos 2 horas antes dos testes. No dia da avaliação, as condições relacionadas ao estado de saúde do voluntário foram observadas, para verificar a ocorrência de uma noite de sono regular e para confirmar se as variáveis FC e Pressão arterial (PA) estavam dentro dos limites de normalidade.

Para reduzir a ansiedade e expectativa por parte dos voluntários, foram feitos procedimentos de familiarização dos mesmos com o protocolo de teste, com o grupo técnico de pesquisadores e com equipamentos.

Os experimentos foram realizados em uma sala climatizada, sendo a temperatura e a umidade relativa do ar mantida a 22-23°C e 50-60%, respectivamente.

5.3. AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO

Foi realizada uma anamnese para coleta de dados pessoais, investigação de doenças associadas, medicamentos de uso contínuo além da aplicação de um questionário (Apêndice I) para avaliação do tempo de aleitamento materno exclusivo.

5.4. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E DA COMPOSIÇÃO CORPORAL

A massa corporal foi medida utilizando-se de uma balança antropométrica (Welmy, São Paulo, Brasil) com os participantes descalços, vestindo apenas roupas leves (camisetas e bermudas). Para a verificação da estatura foi utilizado um estadiômetro e os participantes estavam descalços e com a cabeça em posição ortostática. A partir desses dados foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) através da fórmula: massa corporal (kg)/altura² (m) (WHO, 1998). A classificação dos valores de IMC obtidos foi realizada de acordo com Cole et al. (2000), considerados eutróficos (percentil de IMC igual ou menor que 85) e obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97).

O IMC é um bom indicador, mas não totalmente correlacionado com a gordura corporal, pois não distingue massa gorda da magra e não reflete necessariamente a distribuição da gordura corporal. Para determinar o percentual da massa gorda e massa magra foi utilizado o método por bioimpedância (Biodynamics 450, Shoreline, USA); forma portátil disponível para avaliação clínica que tem sido considerada suficientemente válida e segura em condições constantes (ABESO, 2009).

A medida da circunferência da cintura foi realizada com o indivíduo em pé com abdômen relaxado e os braços descontraídos ao lado do corpo. Foi utilizada uma fita métrica com precisão de 1mm que foi colocada horizontalmente sobre a pele, posicionada na metade da distância entre as últimas costelas e a crista ilíaca (TAYLOR et al., 2000). O quadril foi medido na região de maior circunferência. Foi calculada relação cintura/quadril (RCQ) e adotados como valores de referência 0,86 a 0,93 para os meninos e 0,79 a 0,91 para as meninas, de acordo com o *Centers for Disease Control and Prevention* (2012), acima desses valores será considerado como obesidade abdominal.

Para o cálculo do Índice de Conicidade, inicialmente será calculada a densidade corporal de cada indivíduo, como proposto por McArdle (1992) demonstrado no quadro 1.

Quadro 1 – Fórmulas para cálculo da densidade corporal de crianças e adolescentes de 9 a 16 anos.

9 a 12 anos
Homens: $DC = 1,108 - 0,027 (\log_{10} TR) - 0,038 (\log_{10} SB)$

Mulheres: $DC = 1,088 - 0,014 (\log_{10} TR) - 0,036 (\log_{10} SB)$
13 a 16 anos
Homens: $DC = 1,130 - 0,055 (\log_{10} TR) - 0,026 (\log_{10} SB)$
Mulheres: $DC = 1,114 - 0,031 (\log_{10} TR) - 0,041 (\log_{10} SB)$

Legenda: DC: densidade corporal; TR: dobra cutânea tricipital; SB: dobra cutânea subescapular.

Fonte: (MCARDLE, 1992).

A seguir será calculado o índice de conicidade de cada criança a partir da seguinte fórmula:

Índice C= circunferência da cintura (m) / raiz ($\sqrt{}$) 12,5664/densidade individual x raiz ($\sqrt{}$) peso (kg)/estatura (m).

Serão utilizados como referência os seguintes valores de corte pra o índice de conicidade: corpo com representação bicôncava < 1,0; corpo com representação cilíndrica = 1,0; corpo com representação bicônica > 1,0. Espera-se que os eutróficos tenham IC menor que 1,0, e obesos tenham igual ou maior que 1,0 (MUELLER et al., 1996). Não foram encontradas formulas que abrangessem a faixa etária do estudos (oito a 17 anos) e a utilizada para adultos não conseguiria contemplar a amostra em sua plenitude, por esse motivo optou-se pelas recomendações de Mueller, 1996.

5.5.REGISTROS DOS INTERVALOS RR E ANÁLISE DA MODULAÇÃO AUTÔNOMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

O registro da FC e dos intervalos R-R foram realizados por meio do cardiófrequencímetro (Polar RS810CX, Kempele, Finlândia), previamente validado (GAMELIN, BERTHOIN, BOSQUET, 2006).

Após colocação do cardiófrequencímetro, as crianças e adolescentes foram posicionados em decúbito dorsal em uma maca, e instruídos a manter-se em repouso, acordadas, em silêncio. Foi aguardado um tempo médio de 5 minutos ($\pm$ 2min) para estabilização da FC, e os registros ocorreram durante 20 (vinte) minutos durante respiração espontânea.

Os dados foram transmitidos para um computador utilizando-se o *software Polar Precision Performance* (versão 3.02.007) e convertidos em arquivos de texto

dos quais foram analisados *somente* as séries com mais de 95% de batimentos sinusais e foram selecionados 256 pontos mais estáveis, usada apenas filtragem digital do programada polar, quando necessário, até 5 % de erro (*Software Kubios HRV, versão 2.0, University of Kuopio, Finland.*

No domínio do tempo foram feitos os seguintes cálculos estatísticos: média e desvio padrão dos valores instantâneos de frequência cardíaca (FC e DPFC) em batimentos por minuto (bpm); média e desvio padrão dos intervalos R-R (iRR e SDNN) em milissegundos (ms); raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos (RMSSD), expresso em ms; e a porcentagem e valor absoluto dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms (pNN50, NN50). Os dois últimos índices são representativos da modulação parassimpática (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009).

Os índices geométricos, RRtri e o TINN, os quais convertem os intervalos RR em padrões geométricos e permitem analisar a VFC por meio das propriedades geométricas ou gráficas do padrão resultante, foram calculados a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais, que contém no eixo x o comprimento dos intervalos RR, e no eixo y, a frequência com que eles ocorreram. A união dos pontos das colunas do histograma forma uma figura semelhante a um triângulo do qual são extraídos esses índices. O RRtri foi obtido dividindo-se o número total de intervalos RR utilizados para construção do histograma pela frequência modal dos mesmos. O TINN consiste na medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo. O RRtri e o TINN expressam a variabilidade global dos intervalos RR (VANDERLEI et al., 2009).

O domínio da frequência relaciona-se com a análise da densidade espectral, que estuda como a potência (variância) se distribui em função da frequência (TASK FORCE, 1996)

Para a análise no domínio da frequência foram aplicados o método de interpolação *splines* cúbicas com frequência de 4 Hz e calculada a densidade de potência espectral do trecho mais estável através da Transformada Rápida de Fourier (FFT) que decompõe o sinal nas seguintes bandas: alta frequência (AF – 0,15 a 0,4Hz) que corresponde a modulação respiratória e do nervo vago (parassimpático) sobre o coração; baixa frequência (BF – 0,04 a 0,15Hz) que

representa modulação simpática e parassimpática, porém com o predomínio da simpática; e a razão BF/AF que representa o balanço simpátovagal, todos os dados apresentados em valores absolutos (ms²) (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009).

O *plot de Poincaré*, que é um mapa de pontos em coordenadas cartesianas, onde cada ponto é representado, no eixo horizontal X (abscissa), pelo intervalo RR normal precedente e, no eixo vertical Y (ordenada), pelo intervalo RR seguinte. O desvio padrão dos pontos perpendiculares e ao longo da linha de identidade dão origem aos índices SD1 e SD2, respectivamente. O índice SD1 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$, está relacionado com variabilidade em curto prazo, é influenciado pela arritmia sinusal respiratória e representa a atividade parassimpática. O SD2 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RRm$, onde RRm é a média dos intervalos RR, com variabilidade a longo prazo e reflete a variabilidade global. A relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (RAJENDRA et al., 2006; BRENNAN; PALANISWAMI; KAMEN, 2001).

Os índices *alfa* um (α_1) e dois (α_2) das Flutuações Depuradas de Tendências (DFA) quantificam a presença ou ausência de propriedades de correlação fractal em séries temporais não estacionárias (ACHARYA et al., 2004a; MANSIER et al., 1996). O índice α_1 , de curto prazo, se correlaciona bem com os índices LF/HF e SD1/SD2, e o α_2 , de longo prazo, correlacionado com as bandas espectrais LF e VLF (HUIKURI et al., 2000). De acordo com a literatura, baixos coeficientes α_1 e altos coeficientes α_2 indicam anormalidades no sistema dinâmico que descrevem a VFC (PERFETTO et al., 2006).

Ainda na análise não linear, os dados foram submetidos à análise simbólica e complexidade pela Entropia de Shannon que foram realizadas por meio do programa de rotinas de análise de Porta (PORTA et al, 2001).

A técnica descrita por Porta et al. (2001), baseia-se na transformação da série de intervalos RR (em ms) em números inteiros, os quais são identificados por símbolos. Os símbolos apresentados na série temporal são agrupados de 3 em 3 formando os padrões simbólicos, que são avaliados quanto à taxa de ocorrência. Da interpretação da sequência de três batimentos, distingue-se a modulação cardíaca simpática e parassimpática, o padrão 0V reflete a modulação simpática, o padrão 1V

corresponde tanto a modulação simpática quanto parassimpática, e os padrões 2VS e 2VD referem-se à modulação parassimpática.

Já a Entropia de Shannon (SE), relacionada à análise simbólica, fornece quantitativamente a complexidade da distribuição dos padrões simbólicos. Quanto maior a SE, maior a distribuição dos padrões, sendo maior a complexidade, transportando o máximo de informações. Contrariamente, a SE baixa significa que alguns padrões são mais comuns, enquanto outros estão ausentes ou são poucos frequentes havendo menor complexidade (PORTA et al., 2001).

6. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram organizados sob a forma de estatística descritiva, com valores de média e desvio padrão (DP). A distribuição de normalidade foi verificada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. A homogeneidade das variâncias foi analisada pelo teste de Levene. Para comparação das variáveis quantitativas dependentes entre os grupos foram realizado o teste de *Anova-one-way* (Post-hoc de Bonferroni), *Welch* (post-hoc de games-howell) ou *Kruskal-Wallis* (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni) para as variáveis que apresentaram efeito significativo de acordo com a distribuição de normalidade e homogeneidade. Para as análises de correlações entre o tempo de aleitamento materno e os índices da VFC e medidas antropométricas e hemodinâmicas foram utilizados os testes de Pearson (Segundo a normalidade), e considerados os seguintes valores de coeficientes: 0 a 0,25 correlação fraca; 0,25 a 0,50 correlação razoável; 0,50 a 0,75 correlação moderada; >0,75 correlação forte (DAWSON, TRAPP, 2001). O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados no *software IBM SPSS Statistics versão 19.0*.

7. ARTIGOS

A partir da metodologia proposta e aplicada, os resultados serão apresentados em forma de três artigos científicos com respectivas discussões e conclusões para melhor compreensão e explanação.

7.1. ARTIGO I: MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS E DIABÉTICOS.

RESUMO: A obesidade infantil e a Diabetes tipo 1 são patologias consideradas fatores de risco para a saúde cardiovascular mais incidentes na população infanto-juvenil, dentre as consequências postula-se que geram alterações da modulação autonômica da frequência cardíaca. Uma das técnicas utilizadas para a avaliação dessas alterações é a variabilidade da frequência cardíaca. Acredita-se que ocorra uma diminuição da atividade parassimpática e global e aumento da simpática, no entanto, os resultados ainda são controversos nessa população. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em crianças e adolescentes obesos e diabéticos. Para isso foram avaliadas 72 crianças e adolescentes de 8 a 17 anos, divididos em 3 grupos (Eutróficos saudáveis, diabéticos tipo 1 e obesos) que foram submetidos a análise da VFC por 20 min em decúbito dorsal por um cardiofrequencímetro e analisados os iRR por métodos lineares (domínios do tempo e da frequência) e não lineares (depuração de alta frequência, análise simbólica e entropia de Shannon). Foi observado que os diabéticos nessa faixa etária não apresentaram ainda alterações da VFC, enquanto que a obesidade já provocou uma diminuição da modulação autonômica cardíaca global e parassimpática e aumento da modulação simpática, porém essas alterações foram apenas identificadas por métodos de análise lineares da VFC, os índices não lineares só encontrou uma diferença entre obesos e diabéticos para o índice 1V, nesse estudo.

Palavras chave: Sistema nervoso autônomo; Diabetes; Obesidade Infantil.

7.1.1. Introdução

O sistema nervoso autônomo (SNA) desempenha um papel importante na regulação dos processos fisiológicos do organismo humano, tanto em condições normais, quanto patológicas. Uma medida simples, não invasiva e considerada um dos mais importantes marcadores quantitativos do balanço autonômico, são os índices de a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (MAJERCAK, 2002; VANDERLEI et al., 2009). Quanto menor a VFC, pior o prognóstico do sistema cardiovascular, maiores chances de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e até mesmo risco de morte (PUMPRLA et al., 2002; GRASSI et al, 2009; THAYER et al, 2010).

Há poucos anos atrás a preocupação com fatores de risco para doenças cardiovasculares era uma preocupação prevalente com população adulta. Entretanto, atualmente, estendeu-se de modo alarmante, também com a população infanto-juvenil (DANIELS, 2006).

Dentre os fatores de risco mais prevalentes entre os jovens, tem sido identificado a obesidade e o diabetes tipo 1 (DM 1).

Em relação à obesidade, a literatura refere que os mediadores liberados pelo tecido adiposo, influenciam a homeostase corporal e provocam alterações no controle autonômico cardíaco (LOPES, 2006; REUTHER et al., 2013).

Entretanto, os dados referentes ao nível de acometimento dos ramos simpáticos e parassimpáticos são controversos. Alguns estudiosos relatam que ocorre aumento da atividade simpática até certo limiar, a partir do qual observa-se apenas diminuição na atividade parassimpática (RABBIA et al., 2003). Essas adaptações estariam associadas à disfunção dos mecanismos de controle barorreflexo da Frequência Cardíaca (FC) (BRUNETTO et al., 2005). Por outro lado, outras investigações, verificaram diminuição na modulação de ambos os eferentes autonômicos (VANDERLEI et al., 2010) ou somente aumento simpático (ADACHI T et al, 2011) ou hipoatividade vagal (LATCHMAN et al., 2011).

A DM 1 é caracterizada pela destruição das células beta que levam a uma deficiência de insulina (SBC, 2016) e se manifesta já na infância e adolescência.

As complicações crônicas do DM 1 podem ocorrer como resultado de lesões progressivas (SBC, 2016), dentre elas o acometimento do sistema nervoso autônomo cardíaco, acarretando no que se chama de neuropatia autonômica

cardiovascular (MEDEIROS et al., 2003), forma mais comum de acometimento nesses pacientes. Indivíduos diabéticos apresentam risco aumentado de três a quatro vezes de sofrer evento cardiovascular e o dobro do risco de morrer deste evento quando comparados à população geral (MEDEIROS et al., 2003).

As disfunções autonômicas podem ser avaliadas por diversas técnicas, no entanto um método que vem sendo usado com bastante sucesso é a VFC (MASER; LENHARD, 2005)

Para análise da VFC são usados cálculos lineares e não lineares. Os primeiros englobam análises nos domínios do tempo e da frequência. Já os segundos, envolvem análises baseadas na Teoria do Caos, na complexidade dos sistemas dinâmicos (GODOY; TAKAKURA; CORREA, 2005). Dentre os métodos não lineares, a análise simbólica vem ganhando expressivo interesse (PORTA et al. 2009; 2007; 2001).

Por esse motivo é de extrema importância investigar às graves repercussões causadas pela Diabetes e Obesidade sobre o sistema autonômico de crianças e adolescentes, além de suas implicações na vida adulta, sendo assim, é importante a avaliação da VFC nessa população para detecção precoce de possíveis alterações, principalmente a partir de uma metodologia reprodutível e acessível, permitindo deste modo a intervenção para minimizar morbidades e mortalidades por doenças cardíacas, visto que estudos que se propõem a fazer essa associação ainda são escassos.

7.1.2. Objetivo

O objetivo do estudo é investigar a Modulação simpática e parassimpática em crianças e adolescentes com Obesidade e Diabetes Tipo 1.

7.1.3. Métodos

O projeto foi aprovado pelo ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (UNESP- Campus Marília, SP- nº: 1.685.041/ 2016).

Os pais ou responsáveis assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e os adolescentes com idade igual ou superior a 12 anos assinaram um termo de assentimento, segundo a resolução 466/2012.

Amostra

O tamanho da amostra foi determinado considerando os dados do estudo piloto para a variável de análise linear da variabilidade da frequência cardíaca do domínio do tempo, que corresponde a modulação parassimpática, o índice RMSSD (ms). Considerando um erro do tipo I (alfa) de 5% (0,05), um poder de estudo de 80%, uma diferença média de 18,3 e um desvio-padrão dos resíduos de 19,2, o tamanho da amostra foi estimada em 23 elementos amostrais por grupo. Os cálculos do tamanho da amostra foram realizados no *software Primer of Statistics* versão 7.0 (GLANTZ, S.A, 2014.)

Foram avaliadas crianças e adolescentes de 8 a 17 anos de ambos os sexos, que compuseram três grupos:

1) Voluntários com o diagnóstico clínico médico de diabetes mellitus tipo 1A (autoimune) ou tipo 1B (idiopático) (*American Diabetes Association*, 2015), todos insulino dependentes com dose otimizada de acordo com acompanhamento médico. Não foram incluídos aqueles com: diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 e outros tipos específicos. Todos provenientes de um ambulatório especializado em distúrbios endócrinos e diabetes infanto-juvenil da cidade de Marília- SP.

2) Obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97), classificados a partir do Índice de Massa Corpórea (WHO, 2007) de acordo com a classificação proposta por Cole et al. (2000) que faziam parte do centro de obesidade infantil de Marília- SP (CAOIM).

3) Eutróficos não diabéticos (percentil de IMC igual ou menor que 85), estudantes de escolas públicas no município de Marília- SP ou demanda espontânea.

Como critérios de não inclusão foram aqueles que apresentaram doenças cardíacas, respiratórias e neurológicas; anemia; marca-passo; tabagistas; que consumam 30g/dia ou mais de álcool; grávidas; irregularidade menstrual, diabéticos classificados como obesos e ainda aqueles que não conseguiram realizar os protocolos experimentais e cujos registros de iRR apresentarem mais de 5% de erros, ou seja, somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo.

7.1.3.1. Procedimentos gerais

No primeiro dia, para reduzir a ansiedade e expectativa por parte dos voluntários, foram feitos procedimentos de familiarização dos mesmos com o protocolo de teste, com o grupo técnico de pesquisadores e com equipamentos. Também foi realizada uma anamnese para coleta de dados pessoais, investigação de doenças associadas e medicamentos de uso contínuo.

No segundo dia foi realizada a avaliação antropométrica, hemodinâmica e a coleta dos intervalos RR em repouso. Os experimentos foram realizados no mesmo período do dia, para padronizar as influências das variações circadianas sobre o organismo (BILAN et al., 2005). Os voluntários usaram roupas confortáveis e na véspera e no dia dos testes não ingeriram bebidas alcoólicas e/ou estimulantes (chá, café, outros), não realizaram atividades físicas extenuantes e fizeram uma refeição leve pelo menos 2 horas antes dos testes. No dia da avaliação, as condições relacionadas ao estado de saúde do voluntário foram observadas, para verificar a ocorrência de uma noite de sono regular e para confirmar se as variáveis FC e Pressão arterial (PA) estavam dentro dos limites de normalidade.

A Avaliação foi realizada em uma sala climatizada, sendo a temperatura e a umidade relativa do ar mantida a 22-23°C e 50-60%, respectivamente.

7.1.3.2. Medidas antropométricas

A massa corporal foi medida utilizando-se de uma balança antropométrica (Welmy, São Paulo, Brasil) com os participantes descalços, vestindo apenas roupas leves (camisetas e bermudas). Para a verificação da estatura foi utilizado um estadiômetro e os participantes estavam descalços e com a cabeça em posição ortostática. A partir desses dados foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) através da fórmula: massa corporal (kg)/altura² (m) (WHO, 1998). A classificação dos valores de IMC obtidos foi realizada de acordo com Cole et al. (2000), considerados eutróficos (percentil de IMC igual ou menor que 85) e obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97).

7.1.3.3. Registros dos intervalos RR e análise da modulação autonômica da frequência cardíaca

O registro da FC e dos intervalos R-R foram realizados por meio do cardiófrecuencímetro (Polar RS810CX, Kempele, Finlândia), previamente validado (GAMELIN, BERTHOIN, BOSQUET, 2006).

Após colocação do cardiófrecuencímetro, as crianças e adolescentes foram posicionados em decúbito dorsal em uma maca, e instruídos a manter-se em repouso, acordadas, em silêncio. Foi aguardado um tempo médio de 5 minutos ($\pm$ 2min) para estabilização da FC, e os registros ocorreram durante 20 (vinte) minutos durante respiração espontânea.

Os dados foram transmitidos para um computador utilizando-se o software *Polar Precision Performance* (versão 3.02.007) onde foi realizada a filtragem do programa e convertidos em arquivos de texto que foram analisados somente as séries com mais de 95% de batimentos sinusais e selecionados 256 pontos mais estáveis (Software Kubios HRV, versão 2.0, University of Kuopio, Finland).

No domínio do tempo foram feitos os seguintes cálculos estatísticos: média e desvio padrão dos valores instantâneos de frequência cardíaca (FC e DPFC) em batimentos por minuto (bpm); média e desvio padrão dos intervalos R-R (iRR e SDNN) em milissegundos (ms); raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos (RMSSD), expresso em ms; e a porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms (pNN50). Os dois últimos índices são representativos da modulação parassimpática (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009).

Para a análise no domínio da frequência foram aplicados o método de interpolação *splines* cúbicas com frequência de 4 Hz e calculada a densidade de potência espectral do trecho mais estável através da Transformada Rápida de Fourier (FFT) que decompõem o sinal nas seguintes bandas: alta frequência (HF – 0,15 a 0,4Hz) que corresponde a modulação respiratória e do nervo vago (parassimpático) sobre o coração; baixa frequência (LF – 0,04 a 0,15Hz) que representa modulação simpática e parassimpática, porém com o predomínio da simpática; e a razão LF/HF que representa o balanço simpatovagal (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009). Os dados de LF e HF

estão apresentados em unidade normalizadas (un) e valores absolutos (ms²) respectivamente. Os dados normalizados foram calculados dividindo-se a densidade espectral de potência de uma dada banda (i.e. AF) pela potência total, subtraindo a banda de muito baixa frequência e multiplicando por 100 (MALLIANI, 1999).

Para os índices provenientes do plot de Poincaré, foram utilizados o SD1 e SD2. O índice SD1 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$, está relacionado com variabilidade em curto prazo e representa a atividade parassimpática. O SD2 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RR_m$, onde RR_m é a média dos intervalos RR, com variabilidade a longo prazo e reflete a variabilidade global. A relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (RAJENDRA et al., 2006; BRENNAN; PALANISWAMI; KAMEN, 2001).

Os índices *alfa* um (α_1) e dois (α_2) das Flutuações Depuradas de Tendências (DFA) quantificam a presença ou ausência de propriedades de correlação fractal em séries temporais não estacionárias (ACHARYA et al., 2004a; MANSIER et al., 1996). O índice α_1 , de curto prazo, se correlaciona bem com os índices LF/HF e SD1/SD2, e o α_2 , de longo prazo, correlacionado com as bandas espectrais LF e VLF (HUIKURI et al., 2000).

Ainda na análise não linear, os dados foram submetidos à análise simbólica e complexidade pela Entropia de Shannon que foram realizadas por meio do programa de rotinas de análise de Porta (PORTA et al, 2001).

As séries de intervalos RR (em ms) foram transformados em números inteiros, os quais são identificados por símbolos. Os símbolos apresentados na série temporal foram agrupados de 3 em 3 formando os padrões simbólicos, que foram avaliados quanto à taxa de ocorrência pelo programa. Da interpretação da sequência de três batimentos, o padrão 0V reflete a modulação simpática, o padrão 1V corresponde tanto a modulação simpática quanto parassimpática, e os padrões 2VS e 2VD referem-se à modulação parassimpática.

Já a Entropia de Shannon (SE), relacionada à análise simbólica, fornece quantitativamente a complexidade da distribuição dos padrões simbólicos. Quanto maior a SE, maior a distribuição dos padrões, sendo maior a complexidade, transportando o máximo de informações (PORTA et al., 2001).

7.1.4. Análise dos dados

Os dados foram organizados sob a forma de estatística descritiva, com valores de média e desvio padrão (DP). A distribuição de normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A homogeneidade das variâncias foi analisada pelo teste de Levene. Para comparação das variáveis quantitativas dependentes entre os grupos foram realizado o teste de Anova-one-way (Post-hoc de Bonferroni), Welch (post-hoc de games-howell) ou Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni) para as variáveis que apresentaram efeito significativo de acordo com a distribuição de normalidade e homogeneidade. O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados no software IBM SPSS Statistics versão 19.0.

7.1.5. Resultados

Foram triados 110 crianças e adolescentes. Houve perda amostral de 38 voluntários por não se encaixarem nos critérios do estudo ou por não comparecimento. As 72 crianças e adolescentes incluídos nesse estudo foram divididos em três grupos com 24 elementos amostrais cada: Grupo eutrófico e saudável ($9,7 \pm 2,0$ anos); Grupo diabético tipo 1 ($12,01 \pm 3,14$ anos); Grupo obeso ($9,8 \pm 1,46$ anos).

Na tabela 1 são apresentados os índices lineares e não-lineares de VFC dos grupos.

Tabela 1 – Índices de Variabilidade da Frequência Cardíaca lineares e não lineares comparados entre os grupos.

	Grupos						
	Eutróficos (n=24)		DM (n=24)		Obeso (n=24)		p-valor
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
FC (bpm)	86,22	9,97	82,11 [#]	12,98	92,65	9,08	0,005*
iRR (ms)	709,85 [#]	95,44	754,2 [#]	135,32	655,75	65,62	0,016***
SDNN (ms)	49,22 [#]	14,05	45,3	18,23	36,75	13,74	0,021*
RMSSD (ms)	43,01 [#]	17,36	43,61 [#]	26,57	29	13,41	0,015***
pNN50 (%)	23,33 [#]	17,27	21,95	22,34	10,58	11,7	0,011***
LF (u.n)	51,44	14,83	51,1	18,21	54,79	11,97	0,651
HF (ms ²)	788,12 [#]	555	851,38	954,8	440,13	333,47	0,05***
LF/HF	1,39	1,27	1,44	1,18	1,37	0,65	0,972
SD1 (ms)	30,47 [#]	12,3	30,9 [#]	18,83	20,55	9,51	0,015***
SD2 (ms)	61,97 [#]	17,89	55,18	20,41	47,55	17,46	0,030*
SD1/SD2	0,49	0,68	0,55	0,92	0,43	0,54	0,70
α 1	1,05	0,23	0,95	0,28	1,06	0,21	0,203
α 2	0,74	0,21	0,75	0,19	0,72	0,13	0,771
SE	3,82	0,3	3,72	0,44	3,64	0,35	0,243
OV (%)	15,62	7,14	17,14	13,07	18,24	9,94	0,672
1V (%)	47,26	6,34	43,86 [#]	7,07	49,5	3,51	0,005*
2VS (%)	14,98	5,88	14,85	6,45	15,49	6,52	0,931
2VD (%)	22,15	11,24	24,15	13,53	16,77	5,99	0,109

*p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste de Anova-one-way (post-hoc de bonferroni);

**p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste de Welch (post-hoc de games-howell);

***p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni); [†] p≤0,05 diferença significativa em relação ao grupo DIABÉTICO pelo teste Post-Hoc; [#] p≤0,05 diferença significativa em relação ao grupo OBESO pelo teste Post-Hoc; bpm: Batimento por minuto; ms: milissegundos; %: Percentual; ms² : milissegundos ao quadrado; u.n: unidades normalizadas; DP: desvio padrão; Dm: diabéticos.

7.1.6. Discussão

Os principais achados desse estudo, sobre controle neural do coração de crianças e adolescentes, foram que, comparados aos eutróficos, o grupo diabéticos apresentou modulação autonômica cardíaca similar. Já o grupo obesos apresentou prejuízos em alguns índices globais (SDNN, SD2) e parassimpáticos (pNN50, RMSSD, SD1e HF).

A hiperglicemia diabética pode causar alterações nas fibras amielínicas dos sistemas nervoso simpático e parassimpático, o que se denomina neuropatia autonômica cardíaca (NAC). A etiologia dessa doença envolve processos complexos e a sua evolução é muito variável, dependente do tempo da doença e dos mecanismos de instalação (FOSS; FREITAS, 2008).

As principais e primeiras manifestações em geral são a taquicardia de repouso, que posteriormente pode retornar ao normal, e a diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (FOSS; FREITAS, 2008).

Entretanto, no presente estudo, não confirmamos esses achados, provavelmente devido ao tempo da instalação da doença, visto que essas manifestações são progressivas.

O grupo obeso aqui estudado apresentou alterações no sistema nervoso autônomo (SNA), quando comparado aos eutróficos. Tem sido referido que o desequilíbrio do SNA representa um mecanismo para o desenvolvimento da obesidade e das comorbidades (ÇOLAK et al. 2000; YAKINCI et al., 2000; KUNIYOSHI et al., 2003; LANGSBERG, 1996; RIBEIRO et al., 2001; SCHERRER, 1994; TUCK, 1992).

O tecido adiposo não é um passivo local de armazenamento, o sistema regulatório de armazenamento de energia envolve interações e reações complexas, e o SNA é um importante contribuinte nesse processo de regulação (PETERSON, 1998). Além disso, existem alguns hormônios e citocinas envolvidos no processo e fisiopatologia da obesidade que podem contribuir para o aumento da atividade simpática e incoordenação da VFC como a insulina, leptina, citocinas pro inflamatórias, estresse oxidativo e catecolaminas, esse processo foi observado em adultos, no entanto há a hipótese de que se replique também já na infância e adolescência (FREITAS et al., 2014). Sugere-se que com o aumento da adiposidade ocorra uma diminuição da atividade parassimpática, aumento da simpática com

queda da VFC e por consequência dos índices representativos da modulação global, o que corrobora com o estudo (PASCHOAL; TREVISAN; SCODELER 2009; VANDERLEI et al., 2009).

Na análise de depurações de alta frequência não houve diferença entre os grupos.

Para a análise simbólica, observa-se uma diferença apenas no índice 1V, representativo da modulação simpática e parassimpática, com predomínio simpático, que foi menor no GD em comparação ao GO, o que leva a afirmar que houve uma diferença de sensibilidade quanto aos índices lineares e não lineares, talvez porque os segundos envolvem uma dinâmica mais complexa que não foi detectada pelo “N” estabelecido.

Portanto, o presente estudo se ocupou em investigar duas das doenças mais prevalentes na população infanto-juvenil, a obesidade e a DM1. Verificou-se que a obesidade apresenta alterações mais severas e precoces no controle neurocardíaco. Tais achados demandam maiores preocupações e cuidados, pois tais alterações, não ocorrem apenas na vida adulta (MEDEIROS et al., 2003; VANDERLEI et al., 2010; LATCHMAN et al., 2011; BRUNETTO et al., 2005).

Além disso, métodos diagnósticos de situações, muitas vezes subclínicas, são de fundamental importância, principalmente sendo de baixo custo e fácil aplicação.

7.1.7. Conclusão

Crianças e adolescentes com diabetes mellitus do tipo 1, na faixa etária de 8 a 17 anos de idade, não apresentaram ainda alterações significativas no controle neural cardíaco de repouso. Entretanto, a obesidade nessa faixa etária, deprime a modulação autonômica cardíaca parassimpática e global e aumenta a modulação simpática. Portanto, a obesidade é mais prejudicial a esse sistema que o DM1.

Na análise dos índices não lineares, foi identificada apenas uma diferença estatística na comparação do grupo obeso com o grupo diabético para o índice 1V, no entanto, para o grupo obeso, em valores absolutos, os resultados seguiram a mesma tendência dos índices lineares.

7.2.ARTIGO II: DIABETES TIPO 1, OBESIDADE INFANTOJUVENIL, TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO, E MODULAÇÃO AUTÔNOMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.

RESUMO: A organização mundial da saúde defende que a amamentação exclusiva até pelo menos 6 meses de idade é um fator protetor contra comorbidades, dentre elas a obesidade infantil e a diabetes tipo 1. A hipótese do estudo é que a amamentação adequada possua também um efeito de proteção ao sistema nervoso autônomo cardíaco com melhor balanço simpato-vagal e maior variabilidade da frequência cardíaca. Por esse motivo, o objetivo deste estudo foi investigar se existe associação entre o tempo de aleitamento materno total e exclusivo e a modulação autonômica da frequência do coração. Para isso foram avaliadas 72 crianças e adolescentes de 8 a 17 anos, divididos em 3 grupos (Eutróficos saudáveis, diabéticos tipo 1 e obesos), submetidos um questionário para investigação do tempo de aleitamento exclusivo (TAE) e o encerramento da amamentação (TTA). Foram submetidos a análise da VFC por 20 min em decúbito dorsal por um cardiófrecuencímetro e analisados os iRR por métodos lineares (domínio do tempo e da frequência) e não lineares (depuração de alta frequência, análise simbólica e entropia de Shannon) e correlacionado esses índices com o TAE e TTA. Foi observado que o grupo obeso obteve um menor tempo de aleitamento exclusivo em comparação com os demais grupos e que quatro crianças diabéticas não foram amamentadas. A amamentação exclusiva por mais tempo se correlacionou de forma positiva com uma melhor VFC global e parassimpática, o que representa mais uma das vantagens de uma nutrição materna adequada.

Palavras chaves: Sistema nervoso autônomo; Diabetes; Obesidade Infantil; Aleitamento Materno.

7.2.1. Introdução

A Organização Mundial da Saúde (OMS) refere que a amamentação materna exclusiva, até pelo menos seis meses de vida, é um fator protetor contra doenças metabólicas, obesidade infantil e risco ou mortalidade cardiovascular. Quando realizado de modo exclusivo, sem adição de líquidos e fórmulas substitutas, contém

todos os nutrientes, fatores de crescimento, hormônios e componentes imunológicos necessários à completa saúde infantil, proporcionando a diferenciação e maturação funcional de órgãos específicos (WHO, 2004; WAGNER, 2002).

Por outro lado, as primeiras experiências nutricionais do indivíduo podem influenciar sua suscetibilidade para doenças crônicas na idade adulta, isso tem sido denominado de *imprinting* metabólico (WATERLAND; GARZA, 1999; BALABAN; SILVA, 2004).

Um dos riscos associados ao aleitamento materno insuficiente é o desenvolvimento de obesidade infantil. Essa hipótese não é recente, contudo, permanece um tema atual e relevante, principalmente devido ao aumento da prevalência da obesidade (BALABAN; SILVA, 2004).

Já no que se refere ao Diabetes, sabe-se que o tipo 1 está associado a fatores ambientais e genéticos, relacionados ao sistema do antígeno leucocitário humano (HLA) classe II. Incluem nos fatores ambientais a introdução precoce do leite bovino ou amamentação insuficiente (SBD, 2016).

Existe uma literatura considerável a respeito da modulação autonômica da frequência cardíaca de crianças e adolescentes diabéticos e obesos. Entretanto, não foram encontrados artigos tratando do tempo de aleitamento e variabilidade da frequência cardíaca (VFC), nessas populações.

No entanto, sugere-se que quanto menor o período de amamentação materna à que a criança é exposta, menor seria a VFC (MORAES, 2016), e por esse motivo, a hipótese desse estudo é que o tempo de amamentação está associado positivamente a modulação autonômica da frequência cardíaca.

O conhecimento sobre o efeito do tempo de aleitamento sobre o sistema nervoso autônomo cardíaco produzirão evidências uteis para a prática clínica e programas de prevenção junto as populações de diabéticos e obesos infantis, cuja incidência e prevalência vem aumentando de forma alarmante nos últimos anos (TEWLLS; NEWHOOK, 2010; ARMSTRONG; REILLY, 2002).

7.2.2. Objetivo

O objetivo do estudo é investigar se existe associação entre o tempo exclusivo e total de aleitamento materno e a modulação autonômica da frequência cardíaca de repouso de crianças e adolescentes.

7.2.3. Métodos

O projeto foi aprovado pelo ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual Paulista (Campus Marília, SP), com nº: 1.685.041/ 2016.

Os pais ou responsáveis assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e os adolescentes com idade igual ou superior a 12 anos assinaram um termo de assentimento.

7.2.3.1. Amostra

O tamanho da amostra foi determinado considerando os dados do estudo piloto para a variável de análise linear da variabilidade da frequência cardíaca do domínio do tempo, que corresponde a modulação parassimpática, o índice RMSSD (ms). Considerando um erro do tipo I (alfa) de 5% (0,05), um poder de estudo de 80%, uma diferença média de 18,3 e um desvio-padrão dos resíduos de 19,2, o tamanho da amostra foi estimada em 23 elementos amostrais por grupo. Os cálculos do tamanho da amostra foram realizados no *software Primer of Statistics* versão 7.0 (GLANTZ, S.A, 2014)

Foram avaliadas 72 crianças e adolescentes de 8 a 17 anos de ambos os sexos, que compuseram três grupos de 24 voluntários:

- 1) Voluntários com o diagnóstico clínico médico de *diabetes mellitus* tipo (American Diabetes Association, 2015), todos insulino dependentes com dose otimizada de acordo com acompanhamento médico. Não foram incluídos aqueles com: diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 2 e outros tipos específicos. Todos provenientes de um ambulatório especializado em distúrbios endócrinos e diabetes infanto-juvenil da cidade de Marília- SP, e classificados através do IMC (WHO, 2007) como eutróficos.
- 2) Obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97), classificados a partir do Índice de Massa Corpórea (WHO, 2007). Todas as crianças e adolescentes classificados como obesos fazem parte do centro de obesidade infantil de Marília- SP (C.A.O.I.M.).

3) Eutróficos não diabéticos (percentil de IMC igual ou menor que 85), estudantes de escolas públicas no município de Marília- SP ou demanda espontânea.

Como critérios de não inclusão foram aqueles que apresentaram doenças cardíacas, respiratórias e neurológicas; anemia; marca-passo; tabagistas; que consumam 30g/dia ou mais de álcool; grávidas; irregularidade menstrual, diabéticos classificados como obesos e ainda aqueles que não conseguiram realizar os protocolos experimentais e cujos registros de iRR apresentarem mais de 5% de erros, ou seja, somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo.

7.2.3.2. Procedimentos gerais

No primeiro dia para reduzir a ansiedade e expectativa por parte dos voluntários, foram feitos procedimentos de familiarização dos mesmos com o protocolo de teste, com o grupo técnico de pesquisadores e com equipamentos. Também foi realizada uma anamnese para coleta de dados pessoais, investigação de doenças associadas, medicamentos de uso contínuo além da aplicação de um questionário (APÊNDICE I) para avaliação do tempo de aleitamento materno exclusivo e tempo de encerramento da amamentação.

No segundo dia foi realizada a avaliação antropométrica, hemodinâmica e a coleta dos intervalos RR em repouso. Os experimentos foram realizados no mesmo período do dia, para padronizar as influências das variações circadianas sobre o organismo (BILAN et al., 2005). Os voluntários usaram roupas confortáveis e na véspera e no dia dos testes não ingeriram bebidas alcoólicas e/ou estimulantes (chá, café, outros), não realizaram atividades físicas extenuantes e fizeram uma refeição leve pelo menos 2 horas antes dos testes. No dia da avaliação, as condições relacionadas ao estado de saúde do voluntário foram observadas, para verificar a ocorrência de uma noite de sono regular e para confirmar se as variáveis FC e Pressão arterial (PA) estarão dentro dos limites de normalidade.

A Avaliação foi realizada em uma sala climatizada, sendo a temperatura e a umidade relativa do ar mantida a 22-23°C e 50-60%, respectivamente.

7.2.3.3. Medidas antropométricas

A massa corporal foi medida utilizando-se de uma balança antropométrica (Welmy, São Paulo, Brasil) com os participantes descalços, vestindo apenas roupas leves (camisetas e bermudas). Para a verificação da estatura foi utilizado um estadiômetro e os participantes estavam descalços e com a cabeça em posição ortostática. A partir desses dados foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) através da fórmula: massa corporal (kg)/altura² (m) (WHO, 1998). A classificação dos valores de IMC obtidos foi realizada de acordo com Cole et al. (2000), considerados eutróficos (percentil de IMC igual ou menor que 85) e obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97).

7.2.3.4. Registros dos intervalos RR e análise da modulação autonômica da frequência cardíaca

O registro da FC e dos intervalos R-R foram realizados por meio do cardiófrequencímetro (Polar RS810CX, Kempele, Finlândia), previamente validado (GAMELIN, BERTHOIN, BOSQUET, 2006).

Após colocação do cardiófrequencímetro, as crianças e adolescentes foram posicionados em decúbito dorsal em uma maca, e instruídas a manter-se em repouso, acordadas, em silêncio. Foi aguardado um tempo médio de 5 minutos ($\pm$ 2min) para estabilização da FC, e os registros ocorreram durante 20 (vinte) minutos durante respiração espontânea.

Os dados foram transmitidos para um computador utilizando-se o *software Polar Precision Performance* (versão 3.02.007) onde foi realizada a filtragem do programa e convertidos em arquivos de texto que foram analisados *somente* as séries com mais de 95% de batimentos sinusais e selecionados 256 pontos mais estáveis (*Software Kubios HRV, versão 2.0, University of Kuopio, Finland*).

No domínio do tempo foram feitos os seguintes cálculos estatísticos: média e desvio padrão dos valores instantâneos de frequência cardíaca (FC e DPFC) em batimentos por minuto (bpm); média e desvio padrão dos intervalos R-R (iRR e SDNN) em milissegundos (ms); raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos (RMSSD), expresso em ms; e a porcentagem e valor absoluto dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms (pNN50, NN50). Os dois últimos índices são

representativos da modulação parassimpática (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009).

Os índices geométricos, RRtri e o TINN, foram calculados a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais, que contém no eixo x o comprimento dos intervalos RR, e no eixo y, a frequência com que eles ocorreram. O RRtri foi obtido dividindo-se o número total de intervalos RR utilizados para construção do histograma pela frequência modal dos mesmos. O TINN consiste na medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo. O RRtri e o TINN expressam a variabilidade global dos intervalos RR (VANDERLEI et al., 2009).

Para a análise no domínio da frequência foram aplicados o método de interpolação *splines* cúbicas com frequência de 4 Hz e calculada a densidade de potência espectral do trecho mais estável através da Transformada Rápida de Fourier (FFT) que decompõem o sinal nas seguintes bandas: alta frequência (AF – 0,15 a 0,4Hz) que corresponde a modulação respiratória e do nervo vago (parassimpático) sobre o coração; baixa frequência (BF – 0,04 a 0,15Hz) que representa modulação simpática e parassimpática, porém com o predomínio da simpática; e a razão BF/AF que representa o balanço simpatovagal (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009). Os dados de BF e AF estão apresentados em valores absolutos (ms²) e unidade normalizadas (un). Os dados normalizados foram calculados dividindo-se a densidade espectral de potência de uma dada banda (i.e. AF) pela potência total, subtraindo a banda de muito baixa frequência e multiplicando por 100 (MALLIANI, 1999).

O *plot de Poincaré* é um mapa de pontos em coordenadas cartesianas, O desvio padrão dos pontos perpendiculares e ao longo da linha de identidade dão origem aos índices SD1 e SD2, respectivamente. O índice SD1 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$, está relacionado com variabilidade em curto prazo, é influenciado pela arritmia sinusal respiratória e representa a atividade parassimpática. O SD2 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RRm$, onde RRm é a média dos intervalos RR, com variabilidade a longo prazo e reflete a variabilidade global. A relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (RAJENDRA et al., 2006; BRENNAN; PALANISWAMI; KAMEN, 2001).

Os índices *alfa* um (α_1) e dois (α_2) das Flutuações Depuradas de Tendências (DFA) quantificam a presença ou ausência de propriedades de correlação fractal em séries temporais não estacionárias (ACHARYA et al., 2004a; MANSIER et al., 1996). O índice α_1 , de curto prazo, se correlaciona bem com os índices LF/HF e SD1/SD2, e o α_2 , de longo prazo, correlacionado com as bandas espectrais LF e VLF (HUIKURI et al., 2000). De acordo com a literatura, baixos coeficientes α_1 e altos coeficientes α_2 indicam anormalidades no sistema dinâmico que descrevem a VFC (PERFETTO et al., 2006).

Ainda na análise não linear, os dados foram submetidos à análise simbólica e complexidade pela Entropia de Shannon que foram realizadas por meio do programa de rotinas de análise de Porta (Porta et al, 2001).

Foram obtidos o padrão 0V reflete a modulação simpática, o padrão 1V corresponde tanto a modulação simpática quanto parassimpática, e os padrões 2VS e 2VD referem-se à modulação parassimpática.

Já a Entropia de Shannon (SE), relacionada à análise simbólica, fornece quantitativamente a complexidade da distribuição dos padrões simbólicos. Quanto maior a SE, maior a distribuição dos padrões, sendo maior a complexidade, transportando o máximo de informações (PORTA et al., 2001).

7.2.4. Análise dos dados

Os dados foram organizados sob a forma de estatística descritiva, com valores de média e desvio padrão (DP). A distribuição de normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A homogeneidade das variâncias foi analisada pelo teste de Levene. Para comparação das variáveis quantitativas dependentes entre os grupos foram realizado o teste de Anova-one-way (Post-hoc de Bonferroni), Welch (post-hoc de games-howell) ou Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni) para as variáveis que apresentaram efeito significativo de acordo com a distribuição de normalidade e homogeneidade. Para as análises de correlações entre o tempo de aleitamento materno e os índices da VFC foram utilizados os testes de Pearson (Segundo a normalidade), e considerados os seguintes valores de coeficientes: 0 a 0,25 correlação fraca; 0,25 a 0,50 correlação razoável; 0,50 a 0,75 correlação moderada; >0,75 correlação forte (DAWSON,

TRAPP, 2001). O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados no software IBM SPSS Statistics versão 19.0.

7.2.5. Resultados

A seguir estão apresentados o tempo exclusivo de amamentação (TEA) e o tempo total de amamentação (TTA) dos grupos Eutrofos (idade: 9,7 anos); Diabéticos (idade: 12,0 anos) e Obesos (idade: 10,0 anos), bem como a análise de correlação desses dados com os índices lineares e não lineares da VFC.

No grupo diabético a média de tempo de descoberta da patologia é de 6,6 anos com desvio padrão de 4,4 anos, sendo que a média de idade da criança quando descoberto a DMI se encontra em 6,4 anos com desvio padrão de 3,0 anos.

Dentre o total de crianças e adolescentes avaliados apenas 4 não receberam aleitamento materno (6%), sendo os quatro pertencentes ao grupo diabético (17% do grupo). Quanto ao tempo de aleitamento exclusivo e tempo total por grupo e as devidas comparações segue na tabela abaixo, tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre grupos a respeito do tempo exclusivo e total de aleitamento materno.

	Grupos						
	Eutrófico (n = 24)		Diabético (n = 20)		Obeso (n = 24)		p-valor
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
TEA (meses)	4,83	1,17	4,08	2,54	4,29	1,71	0,501
TTA (meses)	9,95 [#]	1,97	11,17 [#]	11,52	6,04	3,17	0,001***

Notas: TEA: tempo exclusivo de aleitamento materno; TTA: tempo total de aleitamento materno
 *** $p \leq 0,05$ diferença significativa entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni); # $p \leq 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo OBESO pelo teste Post-Hoc; DM: Diabéticos Melitus; DP: Desvio Padrão.

Por fim na tabela 3 estão representados os índices da VFC lineares e não lineares e as correções com o Tempo exclusivo e total de amamentação materna.

Tabela 3 – Associação entre o tempo de aleitamento exclusivo (TEA) e total (TAT) de amamentação com os índices lineares da VFC.

	TEA	TTA
Média FC (bpm)	0,06	-0,014
Média iRR (ms)	-0,045	0,043
SDNN (ms)	0,251*	0,169
NN50 (ms)	0,232*	0,176
RMSSD (ms)	0,197	0,152
pNN50 (%)	0,256*	0,173
RR_TRIAN	0,249*	0,164
TINN	0,279*	0,088
LF (ms ²)	0,172	0,068
LF (Un)	-0,128	-0,116
HF (ms ²)	0,12	0,11
HF (Un)	0,135	0,12
LF/HF	-0,156	-0,134
SD1 (ms)	0,197	0,152
SD2 (ms)	0,261*	0,159
SD1/SD2 (ms)	0,055	0,08
Alfa 1	-0,001	-0,033
Alfa 2	-0,087	-0,062
SE	-0,1	-0,006
0V	0,09	-0,044
1V	-0,044	-0,218
2VS	-0,031	-0,038
2VD	-0,041	0,186

Nota: *= correlação significativa; TEA: Tempo exclusivo de aleitamento materno; TTA: Tempo total amamentação materna; FC: Frequência cardíaca; bpm: Batimento por minuto; ms: milissegundos; SDNN: Desvio padrão dos intervalos iRR; RMSSD: desvio padrão da frequência cardíaca; raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos; NN50: média dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms; pNN50: porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms; HF: alta frequência, Un: Unidades normalizadas; LF: Baixa frequência; SD1: desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$; SD2: desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RRm$, onde RRm é a média dos intervalos RR; RRtri divisão do total de intervalos RR utilizados para construção do histograma pela frequência modal dos mesmos; TINN= medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo; SE: Entropia de Shannon.

7.2.6. Discussão

O tempo exclusivo de amamentação foi similar e menor que seis meses nos três grupos estudados, o que leva a reflexão que apesar de todos os embasamentos científicos provando a superioridade da amamentação sobre as formulas infantis, o aleitamento materno, principalmente o exclusivo, no Brasil ainda está aquém do recomendado, essa afirmação já foi defendida pela OMS (2014). Já o tempo total de aleitamento materno foi menor no grupo obeso, comparado aos outros dois grupos. Quatro crianças diabéticas não receberam aleitamento materno.

Segundo os estudos Balaban *et al.* (2004) crianças amamentadas por 4 meses ou menos tem a tendência ao sobrepeso em comparação aquelas que recebem o leite materno exclusivo por quatro meses ou mais. É possível também que haja uma relação dose/resposta com a duração do aleitamento materno, ou seja, quanto maior o tempo em que o indivíduo foi amamentado (TTA), menor será a chance de ele vir a apresentar sobrepeso/ obesidade (BRASIL, 2015), essas afirmações corroboram em partes com o estudo, apesar de em números absolutos a média do TAE do grupo obeso ter sido superior a 4 meses, ele ainda se apresentou menor do que o grupo controle e o TTA foi menor no grupo obeso em comparação aos outros dois grupos estudados.

A exposição precoce ao leite de vaca é considerada um importante determinante do Diabetes mellitus Tipo I, principalmente quando se faz antes dos três meses, podendo aumentar o risco de seu aparecimento em 50%. Estima-se que 30% dos casos poderiam ser prevenidos se 90% das crianças até três meses não recebessem leite de vaca (GERSTEIN, 1994). Essas informações corroboram com os resultados encontrados, mesmo que a média de aleitamento exclusivo do grupo diabético tenha sido de 4,08 meses, ainda foi o grupo que apresentou o menor TAE, em comparação ao controle e o único onde 4 crianças não foram amamentadas. Uma outra vantagem defendida da amamentação bem realizada é que não só o indivíduo que é amamentado adquire proteção contra diabetes, mas também a mulher que amamenta. Foi descrita uma redução de 15% na incidência de diabetes tipo 2 para cada ano de lactação (STUEBE, 2005). Atribui-se essa proteção a uma melhor homeostase da glicose em mulheres que amamentam (BRASIL,2015).

Em relação a VFC, verificou-se correlações significativas com o TEA. Os índices lineares do domínio do tempo SDNN e SD2 tiveram uma correlação razoável

e positiva com o TAE. Da mesma forma os índices geométricos da VFC, onde foi encontrado uma correlação significativa fraca com o rr TRIN e forte com o TINN, ambas positivas. Todos esses índices correspondem a modulação global o que sugere que quanto maior o TEA maior será a variabilidade global.

Sobre a modulação autonômica parassimpática temos uma correlação significativa também positiva com o TAE e os índices pNN50 e NN50, correlação moderada e fraca respectivamente. Com esse achado podemos sugerir que quanto maior o tempo exclusivo de aleitamento materno maior seria a modulação parassimpática, apenas dessa correlação não ser considerada forte.

Não foram encontradas correlações significativas entre os índices da VFC e o tempo total de aleitamento, sugerindo que o tempo de amamentação não interfere na melhora da modulação autonômica da frequência cardíaca, talvez porque com o incremento de outros alimentos e formulas, o efeito protetor do leite materno associado as influencias nutricionais dos outros alimentos, defendidas pela teoria do *imprinting* metabólico, são dissipadas e por isso difíceis de serem separadas e identificadas em relação a VFC, tornando-se um fator mais abrangente e multifatorial.

Segundo a teoria do *imprinting* metabólico, uma das mais atuais e aceitas sobre a influência da alimentação precoce na vida e desenvolvimento do bebê, as primeiras experiências nutricionais podem influenciar não apenas na maturação de órgãos e sistemas, mas também no desenvolvimento de doenças na infância e vida adulta, como a obesidade infantil e o DM1 (WHO, 2004; WAGNER, 2002; WATERLAND; GARZA, 1999; BALABAN; SILVA, 2004).

No que se refere a obesidade, o aleitamento, segundo essa teoria, poderia ser fator de prevenção, desde que seja realizado de forma exclusiva até 6 meses de vida e complementar até no máximo 2 anos. No entanto, tem que se levar em consideração a multifatorialidade envolvida no processo dessa doença e as variáveis de confusão associadas a sua etiologia (BALABAN, 2004). O aleitamento materno parece exercer um papel positivo, mesmo quando os resultados são corrigidos pela idade, sexo e peso corporal ao nascer NOVOTNY et al., 2007; TEWLLS; NEWHOOK, 2010; MCCRORY; LAYTE, 2012), o que tende a corroborar com a pesquisa.

Já em relação ao DM 1, Borch-Johnsen et al., em 1984, foram os primeiros a observar que a amamentação pareceu ter um efeito protetor contra essa doença (BORCH-JOHNSSEN et al., 1984; PEREIRA; ALFENAS; ARAÚJO, 2014).

As teorias mais aceitas sugerem o aleitamento materno e que seja evitado a ingestão do leite de vaca nos três primeiros meses de vida. No entanto, são teorias que requerem mais estudos para confirmação e embasamento (SBD, 2016). O leite de vaca, altamente alérgico, associado a ausência de aleitamento materno, podem atuar na manifestação dos genes que causarão a destruição autoimune das células pancreáticas (PEREIRA; ALFENAS; ARAÚJO, 2014). Acredita-se que a albumina do soro bovino é um dos fatores responsáveis pelo desencadeamento do processo autoimune envolvido na fisiopatologia da DM 1, (MEDEIROS et al., 2003; PEREIRA, ALFENAS, ARAÚJO, 2014).

Está mais esclarecido que a obesidade e a diabetes geram alterações no SNA, mas a principal proposta do presente estudo é investigar se além do fator de proteção contra essas doenças metabólicas, como já está mais esclarecido na literatura, se o aleitamento materno poderia também ser um fator de proteção para o sistema nervoso autônomo cardíaco. Foi investigada a correlação entre o tempo exclusivo e total de amamentação materno com os índices da variabilidade da frequência cardíaca lineares e não lineares.

Ao que se apresenta parece que essa associação possa existir. Não foram encontrados artigos na literatura para contrapor esses achados. Apenas uma tese de doutorado, onde a autora realiza a comparação entre os índices preditivos de obesidade global e central, e os índices da VFC lineares e não lineares, com o tempo de aleitamento materno em crianças obesas e eutróficas. O autor encontrou uma correlação positiva, porém fraca, entre o tempo de amamentação com os índices da VFC, sugerindo que quanto maior for esse tempo maior será a VFC global (MORAES, 2016).

Tentolouris, Argyrakopoulou e Katsilambros (2008) publicaram um estudo sobre as perturbações na função autonômica associadas à síndrome metabólica, da qual a obesidade é um importante componente. Os autores explicaram que há uma relação patogênica entre síndrome metabólica e ativação do sistema nervoso simpático. O estresse crônico é associado ao desenvolvimento inicial da síndrome metabólica e esse efeito é provavelmente mediado através da ação do estresse sobre o tronco cerebral, o que induz a ativação do sistema nervoso simpático.

Somando-se a isso, a síndrome metabólica também induz a ativação do sistema nervoso simpático por outros mecanismos. Vrijkotte et al. (2015) avaliaram a associação entre ativação nervosa autonômica e perfil metabólico em crianças de 5 e 6 anos. Os resultados confirmaram uma associação entre balanço autonômico e perfil metabólico onde uma redução na modulação parassimpática foi associada com adiposidade central e elevação na pressão arterial sistólica, indicativos de risco metabólico aumentado já em fase precoce da vida.

A DM e a obesidade tornaram-se uma epidemia global, não só no aspecto econômico mas psicossocial. No entanto, a compreensão de suas etiologias e consequências, inclusive no sistema nervoso autonômico cardíaco e prevenção ainda são escassas na literatura quando se refere a população infanto-juvenil, isso porque os estudos ainda são controversos, limitados e em baixo número o que dificulta dados representativos e comparáveis. (SBD, 2016; ANCOVA et al; IDF, 2013; WANG e LOBSTEIN, 2006)

Além disso, segundo a *American Heart Association* (AHA), indivíduos diabéticos tipo 1 são um grupo de alto risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares de forma precoce, por esse motivo é recomendado um controle rigoroso de fatores de risco como a obesidade, pressão arterial, níveis glicêmicos, de colesterol e triglicerídeos. Conforme a puberdade progride, há alterações fisiológicas e hormonais que podem predispor a algumas complicações como a puberdade precoce, alterações da dinâmica do sistema nervoso autonômico cardíaco, aumento fisiológico da resistência insulínica, indicando a necessidade de ajustes nas doses de insulina, além de maior vigilância devido à dificuldade esperada no controle (SBD, 2016), mais uma afirmação que reintegra a necessidade de um controle de crescimento e desenvolvimento deste grupo, pois pode haver alterações hormonais importantes que os predispõem a outras comorbidades metabólicas como a obesidade.

7.2.7. Conclusão

Os dados indicam que há influência positiva do tempo exclusivo de aleitamento materno sobre a variabilidade global e a modulação parassimpática da frequência cardíaca. O mesmo não ocorrendo com a modulação simpática e a complexidade da VFC.

Já o tempo total de aleitamento materno não influenciou componente algum da modulação neural do coração.

7.3.ARTIGO III: PERFIL ANTROPOMÉTRICO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS E DIABÉTICOS TIPO 1.

RESUMO: A obesidade tornou-se uma epidemia mundial, considerada um importante fator de risco para doenças cardiovasculares, provocando alteração da estrutura e função cardíaca. Esse cenário hoje não preocupa apenas a população adulta, mas se estende também para a infanto-juvenil. Acredita-se que dentre as consequências trazidas pelo excesso de peso estão as alterações da modulação autonômica cardíaca, que ocorrem não apenas com o acúmulo de gordura corporal mas também pela distribuição dessa adiposidade. Na infância e adolescência, além da obesidade, se faz incidente a diabetes tipo 1, que provoca distúrbios metabólicos, e que torna um grupo de riscos para a obesidade e problemas cardiovasculares, se fazendo necessário o controle rigoroso do desenvolvimento e crescimento nessa população. Por isso o objetivo do presente estudo foi investigar a associação entre os índices preditivos de obesidade global e abdominal com os índices lineares e não lineares da VFC em crianças e adolescentes obesos e diabéticos tipo 1. Encontrou-se que a distribuição da adiposidade foi ainda mais prejudicial do que a obesidade global para alterações da dinâmica autonômica da frequência cardíaca, com menores valores de VFC global e parassimpática e aumento da atividade simpática, reiterando a necessidade de vigília não apenas da massa corporal total, mas também da distribuição da gordura em crianças e adolescentes, ainda mais naqueles que já são do grupo de risco, como os diabéticos tipo 1.

Palavras chaves: Obesidade Infantil; Obesidade abdominal; Sistema nervoso autônomo; Diabetes.

7.3.1. Introdução

As mudanças de estilo de vida da população moderna têm contribuído para o grande aumento da prevalência de obesidade (GRANT, 2011; FREEMARK, 2014), o

que se tornou uma preocupação eminente de saúde pública, demandando várias pesquisas (GRANT, 2011; FREEMARK, 2014), já que se trata de um fator de risco para doenças cardiocirculatórias e várias outras comorbidades (RABBIA et al., 2003; DANIELS, 2006; RABBONE et al., 2009; MOLFINO et al., 2009; GRANT, 2011).

O que era uma preocupação com a população adulta, tem aumentado de modo assustador na população infanto-juvenil. A vulnerabilidade do organismo nessa faixa etária, em processo de crescimento e desenvolvimento, associada ao maior tempo de exposição a doença, já que estão ocorrendo cada mais precocemente, constitui um problema de saúde (DANIELS, 2006), com graves consequências para o indivíduo, sociais e econômicos.

O processo da obesidade envolve uma série de reações inflamatórias com liberação de hormônios e citocinas que podem gerar alteração glicolíticas, de liberação de insulina, aumento no perfil lipídico, hipertensão e alterações na dinâmica autonômica do controle da frequência cardíaca (ARSLAN; ERDUR; AYDIN, 2010; WILBORN et al., 2005.). Em virtude da importância do sistema nervoso autônomo (SNA) na fisiopatologia da obesidade e desenvolvimento de outras doenças, pesquisas são necessárias, para trazer evidências para pontos ainda não esclarecidos (RABBIA et al., 2003; RABBONE et al., 2009; MOLFINO et al., 2009).

Há evidências de que a adiposidade central ou abdominal esteja relacionada a progressão para eventos coronarianos, independente de outros fatores e até mesmo do IMC (STOMFAI et al., 2011). Com relatos de que é ainda mais prejudicial do que a quantidade de gordura total, porque se relaciona a alterações de ácidos graxos, e depósito de gordura em outros órgãos, podendo também conduzir a alteração da dinâmica autonômica cardíaca (SILVA, 2012).

Um outro grupo que possui fator de risco para o desenvolvimento da obesidade, e que é muito incidente nessa mesma faixa etária, são os diabéticos tipo 1. A fisiopatologia da doença já envolve alterações metabólicas e glicêmicas que predisponem a hipercolesterolemia, hipoatividade metabólica que pode gerar aumento da massa corporal e percentual e distribuição de gordura, sendo que esse grupo deve estar em constante vigilância desses fatores (SBD, 2016).

A associação do excesso de peso com o diabetes pode alterar o controle autonômico da frequência cardíaca, agravar a hiperglicemia, dificultar o controle de insulina e predispor mais facilmente o indivíduo a riscos cardíacos e morte súbita (SBD, 2016). Portanto, pesquisas clínicas com crianças e adolescentes são

imprescindíveis para fornecer evidências para programas de prevenção e o tratamento dessas doenças.

Por esse motivo a hipótese do estudo é que a obesidade e a distribuição de gordura corporal podem desencadear uma alteração do balanço simpato-vagal, com diminuição da VFC, aumento da atividade simpática e queda da parassimpática, sendo que todos esses acontecimentos se agravam nas crianças e adolescentes diabéticos tipo 1.

7.3.2. Objetivo

Esse estudo se propõe a investigar se existe associação da obesidade global (IMC e percentual de gordura corporal) e abdominal (circunferência abdominal, relação cintura/quadril e índice de conicidade) com os índices lineares e não-lineares da modulação autonômica da frequência cardíaca de repouso de crianças e adolescentes obesos e diabéticos tipo 1.

7.3.3. Metodologia

O projeto foi aprovado pelo ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual Paulista (Campus Marília, SP), sendo aprovado sob o processo nº: 1.685.041/ 2016.

Os pais ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e as crianças e adolescentes com idade igual ou superior a 12 anos assinaram um termo de assentimento, segundo a resolução 466/2012.

7.3.3.1. Amostra

O tamanho da amostra foi determinado considerando os dados do estudo piloto para a variável de análise linear da variabilidade da frequência cardíaca do domínio do tempo, que corresponde a modulação parassimpática, o índice RMSSD (ms). Considerando um erro do tipo I (alfa) de 5% (0,05), um poder de estudo de 80%, uma diferença média de 18,3 e um desvio-padrão dos resíduos de 19,2, o tamanho da amostra foi estimada em 23 elementos amostrais por grupo. Os cálculos do tamanho da amostra foram realizados no *software Primer of Statistics* versão 7.0 (GLANTZ, S.A, 2014).

Foram avaliadas 72 crianças e adolescentes de oito a 17 anos de ambos os sexos, que compuseram três grupos com N amostral de 24 elementos:

- 1) Voluntários com o diagnóstico clínico médico de *diabetes mellitus* tipo 1 (*American Diabetes Association*, 2015). Não foram incluídos aqueles com: diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 2 e outros tipos específicos. Todos provenientes de um ambulatório especializado em distúrbios endócrinos e diabetes infanto-juvenil da cidade de Marília- SP, classificados segundo o IMC como eutróficos.
- 2) Obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97), classificados a partir do Índice de Massa Corpórea (WHO, 2007), participantes do centro de obesidade infantil de Marília- SP (C.A.O.I.M.).
- 3) Eutróficos não diabéticos (percentil de IMC igual ou menor que 85), estudantes de escolas públicas no município de Marília- SP ou demanda espontânea.

Como critérios de não inclusão foram aqueles que apresentaram doenças cardíacas, respiratórias e neurológicas; anemia; marca-passo; tabagistas; que consumam 30g/dia ou mais de álcool; grávidas; irregularidade menstrual, diabéticos obesos e ainda aqueles que não conseguiram realizar os protocolos experimentais e cujos registros de iRR apresentarem mais de 5% de erros, ou seja, somente séries com mais de 95% de batimentos sinusais foram incluídas no estudo.

7.3.3.2. Procedimentos gerais

Os experimentos foram realizados no mesmo período do dia, para padronizar as influências das variações circadianas sobre o organismo (BILAN et al., 2005). Os voluntários usaram roupas confortáveis e na véspera e no dia dos testes não ingeriram bebidas alcoólicas e/ou estimulantes (chá, café, outros), não realizaram atividades físicas extenuantes e fizeram uma refeição leve pelo menos 2 horas antes dos testes. No dia da avaliação, as condições relacionadas ao estado de saúde do voluntário foram observadas, para verificar a ocorrência de uma noite de sono regular e para confirmar se as variáveis FC e Pressão arterial (PA) estavam dentro dos limites de normalidade.

Para reduzir a ansiedade e expectativa por parte dos voluntários, foram feitos procedimentos de familiarização dos mesmos com o protocolo de teste, com o grupo técnico de pesquisadores e com equipamentos.

Os experimentos foram realizados em uma sala climatizada, sendo a temperatura e a umidade relativa do ar mantida a 22-23°C e 50-60%, respectivamente.

7.3.3.3. Diagnóstico da obesidade global e regional (abdominal)

A massa corporal foi medida utilizando-se de uma balança antropométrica (Welmy, São Paulo, Brasil) com os participantes descalços, vestindo apenas roupas leves (camisetas e bermudas). Para a verificação da estatura foi utilizado um estadiômetro e os participantes estavam descalços e com a cabeça em posição ortostática. A partir desses dados foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) através da fórmula: massa corporal (kg)/altura² (m) (WHO, 1998). A classificação dos valores de IMC obtidos foi realizada de acordo com Cole et al. (2000), considerados eutróficos (percentil de IMC igual ou menor que 85) e obesos (percentil de IMC igual ou maior a 97).

A medida da circunferência da cintura foi realizada com o indivíduo em pé com abdômen relaxado e os braços descontraídos ao lado do corpo. Foi utilizada uma fita métrica com precisão de 1mm que foi colocada horizontalmente sobre a pele, posicionada na metade da distância entre as últimas costelas e a crista ilíaca (TAYLOR et al 2000). O quadril foi medido na região de maior circunferência. Foi calculada relação cintura/quadril (RCQ) e adotados como valores de referência 0,86 a 0,93 para os meninos e 0,79 a 0,91 para as meninas, de acordo com o *Centers for Disease Control and Prevention* (2012), acima desses valores é considerado como obesidade abdominal.

Para o cálculo do Índice de Conicidade, inicialmente foi calculada a densidade corporal de cada criança, como proposto por McArdle (1992) demonstrado no quadro 2.

Quadro 2 – Fórmulas para cálculo da densidade corporal de crianças e adolescentes de 9 a 16 anos.

9 a 12 anos Homens: $DC = 1,108 - 0,027 (\log_{10} TR) - 0,038 (\log_{10} SB)$ Mulheres: $DC = 1,088 - 0,014 (\log_{10} TR) - 0,036 (\log_{10} SB)$
13 a 16 anos Homens: $DC = 1,130 - 0,055 (\log_{10} TR) - 0,026 (\log_{10} SB)$ Mulheres: $DC = 1,114 - 0,031 (\log_{10} TR) - 0,041 (\log_{10} SB)$

Fonte: (MCARDLE, 1992).

A seguir foi calculado o índice de conicidade de cada criança e adolescente a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Índice C} = \text{circunferência da cintura (m)} / \text{raiz } (\sqrt{12,5664/\text{densidade individual} \times \text{raiz } (\sqrt{\text{peso (kg)}/\text{estatura (m)}}))}$$

São usados como referência os seguintes valores de corte pra o índice de conicidade: corpo com representação bicôncava < 1,0; corpo com representação cilíndrica = 1,0; corpo com representação bicônica > 1,0. Espera-se que os eutróficos tenham IC menor que 1,0, e obesos tenham igual ou maior que 1,0 (MUELLER et al., 1996). Não foram encontradas formulas que abrangessem a faixa etária do estudos (oito a 17 anos) e a utilizada para adultos não conseguiria contemplar a amostra em sua plenitude, por esse motivo optou-se pelas recomendações de Mueller, 1996.

Para determinar o percentual da massa gorda e massa magra foi utilizado o método por bioimpedância (Biodynamics 450, Shoreline, USA) (ABESO, 2009) enquanto a classificação, utilizou-se a preposição de Freedman et al. (2009), de acordo com a idade e o sexo.

7.3.3.4. Registros dos intervalos RR e análise da Modulação Autonômica da Frequência Cardíaca

O registro da FC e dos intervalos R-R foram realizados por meio do cardiofrequencímetro (Polar RS810CX, Kempele, Finlândia), previamente validado (GAMELIN, BERTHOIN, BOSQUET, 2006).

Após colocação do cardiofrequencímetro, as crianças e adolescentes foram posicionados em decúbito dorsal em uma maca, e instruídas a manter-se em repouso, acordadas, em silêncio. Foi aguardado um tempo médio de 5 minutos ($\pm$ 2min) para estabilização da FC, e os registros ocorreram durante 20 (vinte) minutos durante respiração espontânea.

Os dados foram transmitidos para um computador utilizando-se o *software Polar Precision Performance* (versão 3.02.007), realizada a filtragem do programa até 5 % e convertidos em arquivos de texto que foram analisados *somente* as séries com mais de 95% de batimentos sinusais e foram selecionados 256 pontos mais estáveis (*Software Kubios HRV, versão 2.0, University of Kuopio, Finland*).

No domínio do tempo foram feitos os seguintes cálculos estatísticos: média e desvio padrão dos valores instantâneos de frequência cardíaca (FC e DPFC) em batimentos por minuto (bpm); média e desvio padrão dos intervalos R-R (iRR e SDNN) em milissegundos (ms); raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos (RMSSD), expresso em ms; e a porcentagem e valor absoluto dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms (pNN50, NN50). Os dois últimos índices são representativos da modulação parassimpática (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009).

Os índices geométricos, RRtri e o TINN foram calculados a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais, que contém no eixo x o comprimento dos intervalos RR, e no eixo y, a frequência com que eles ocorreram. A união dos pontos das colunas do histograma forma uma figura semelhante a um triângulo do qual são extraídos esses índices. O RRtri foi obtido dividindo-se o número total de intervalos RR utilizados para construção do histograma pela frequência modal dos mesmos. O TINN consiste na medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo. O RRtri e o TINN expressam a variabilidade global dos intervalos RR (VANDERLEI et al., 2009).

Para a análise no domínio da frequência foram aplicados o método de interpolação *splines* cúbicas com frequência de 4 Hz e calculada a densidade de

potência espectral do trecho mais estável através da Transformada Rápida de Fourier (FFT) que decompõem o sinal nas seguintes bandas: alta frequência (AF – 0,15 a 0,4Hz) que corresponde a modulação respiratória e do nervo vago (parassimpático) sobre o coração; baixa frequência (BF – 0,04 a 0,15Hz) que representa modulação simpática e parassimpática, porém com o predomínio da simpática; e a razão BF/AF que representa o balanço simpatovagal (TASK FORCE, 1996; RAJENDRA et al., 2006; VANDERLEI et al., 2009). Os dados de BF e AF estão apresentados em valores absolutos (ms²) e unidade normalizadas (un). Os dados normalizados foram calculados dividindo-se a densidade espectral de potência de uma dada banda (i.e. AF) pela potência total, subtraindo a banda de muito baixa frequência e multiplicando por 100 (MALLIANI, 1999).

O *plot de Poincaré* é um mapa de pontos em coordenadas cartesianas. O desvio padrão dos pontos perpendiculares e ao longo da linha de identidade dão origem aos índices SD1 e SD2, respectivamente. O índice SD1 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$, está relacionado com variabilidade em curto prazo, é influenciado pela arritmia sinusal respiratória e representa a atividade parassimpática. O SD2 mede o desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RR_m$, onde RR_m é a média dos intervalos RR, com variabilidade a longo prazo e reflete a variabilidade global. A relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR (RAJENDRA et al., 2006; BRENNAN; PALANISWAMI; KAMEN, 2001).

Os índices *alfa* um (α_1) e dois (α_2) das Flutuações Depuradas de Tendências (DFA) quantificam a presença ou ausência de propriedades de correlação fractal em séries temporais não estacionárias (ACHARYA et al., 2004a; MANSIER et al., 1996). O índice α_1 , de curto prazo, se correlaciona bem com os índices BF/AF e SD1/SD2, e o α_2 , de longo prazo, correlacionado com as bandas espectrais BFe VLF (HUIKURI et al., 2000). De acordo com a literatura, baixos coeficientes α_1 e altos coeficientes α_2 indicam anormalidades no sistema dinâmico que descrevem a VFC (PERFETTO et al., 2006).

Ainda na análise não linear, os dados foram submetidos à análise simbólica e complexidade pela Entropia de Shannon que foram realizadas por meio do programa de rotinas de análise de Porta e avaliados os padrões 1V corresponde tanto a modulação simpática quanto parassimpática, e os padrões 2VS e 2VD referem-se a

modulação parassimpática e a distribuição dessa entropia pela SE (PORTA et al, 2001).

7.3.4. Análise dos dados

Os dados foram organizados sob a forma de estatística descritiva, com valores de média e desvio padrão (DP). A distribuição de normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A homogeneidade das variâncias foi analisada pelo teste de Levene. Para comparação das variáveis quantitativas dependentes entre os grupos foram realizado o teste de Anova-one-way (Post-hoc de Bonferroni), Welch (post-hoc de games-howell) ou Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni) para as variáveis que apresentaram efeito significativo de acordo com a distribuição de normalidade e homogeneidade. Para as análises de correlações entre as medidas antropométricas e os índices da VFC foram utilizados os testes de Pearson (Segundo a normalidade), e considerados os seguintes valores de coeficientes: 0 a 0,25 correlação fraca; 0,25 a 0,50 correlação razoável; 0,50 a 0,75 correlação moderada; >0,75 correlação forte (DAWSON, TRAPP, 2001). O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados no *software IBM SPSS Statistics versão 19.0*.

7.3.5. Resultados

Os dados representativos das medidas antropométricas e de composição corporal de ambos os grupos estudados são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Medidas antropométricas e de composição corporal dos grupos estudados.

	Eutrófico (n=24)		Diabéticos (n = 24)		Obeso (n = 24)		p-valor
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
IMC (Kg/m ²)	16,64 [#] ϕ	1,81	21,06 [#]	4,16	27,19	4,99	0,001**
Massa Magra (%)	79,00 [#] ϕ	5,73	73,72 [#]	8,62	65,85	5,97	0,001***
Massa Gorda (%)	20,11 [#] ϕ	4,83	26,28 [#]	8,62	33,34	6,16	0,001***
CC (cm)	62,14 [#] ϕ	5,79	72,87 [#]	11,85	87,53	10,86	0,001**
RCQ	0,82 [#]	0,06	0,86	0,06	0,90	0,08	0,001*
IC	1,16 [#]	0,07	1,17 [#]	0,10	1,27	0,07	0,001*

Notas: *p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste de Anova-one-way (post-hoc de bonferroni); **p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste de Welch(post-hoc de games-howell); ***p≤0,05 diferença significativa entre os grupo pelo teste Kruskal-Wallis (post-hoc teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni); ϕ p≤0,05 diferença significativa em relação ao grupo DIABÉTICO pelo teste Post-Hoc; # p≤0,05 diferença significativa em relação

ao grupo OBESO pelo teste Post-Hoc; DP= Desvio padrão; Kg= Quilogramas; IMC= Índice da Massa corporal; RCQ= Relação cintura Quadril; IC= Índice de conicidade; %= Percentual.

Na tabela 5 estão os resultados da análise de correlação entre os índices da VFC lineares do domínio do tempo e da frequência e os índices do plot de poincaré com as medidas antropométricas centrais e abdominais e de composição corporal:

Tabela 5 – Resultado da análise de Correlação dos índices da VFC lineares e não lineares com as medidas antropométricas e de composição corporal para a amostra estudada.

Índices	IMC	% Massa magra	% Massa gorda	CC	RCQ	IC
iRR(ms)	-0,07	0,16	-0,14	-0,08	0,04	-0,21
SDNN(ms)	-0,25*	0,21	-0,23	-0,28*	-0,05	-0,23*
NN50 (ms)	-0,19	0,12	-0,13	-0,2	0,03	-0,24*
RMSSD (ms)	-0,19	0,12	-0,12	-0,2	0,03	-0,22
pNN50 %)	-0,16	0,09	-0,1	-0,17	0,05	-0,2
RRtri	-0,23	0,19	-0,19	-0,25*	0	-0,2
TINN	-0,2	0,21	-0,21	-0,24*	-0,05	-0,17
BF (ms ²)	-0,19	0,2	-0,19	-0,23*	-0,04	-0,15
AF (ms ²)	-0,16	0,03	-0,09	-0,16	0,08	-0,12
SD1 (ms)	-0,19	0,12	-0,12	-0,2	0,03	-0,22
SD2 (ms)	-0,25*	0,23*	-0,25*	-0,29*	-0,07	-0,21
SD1/SD2	-0,06	0,01	0	-0,05	0,04	-0,13
α 1	-0,07	0,06	-0,1	-0,08	-0,12	0,03
α 2	-0,06	0,19	-0,07	-0,09	-0,07	-0,12
SE	-0,18	0,03	-0,08	-0,15	-0,2	-0,06
0V	0,16	-0,03	0,06	0,11	0,26	0,01
1V	0,14	-0,06	0,04	0,12	-0,06	0,14
2VS	0	-0,08	-0,01	0,03	-0,11	0,04
2VD	-0,22	0,1	-0,67	-0,18	-0,15	-0,11

Nota: *= correlação significativa; FC: Frequência cardíaca; bpm: Batimento por minuto; ms: milissegundos; SDNN: Desvio padrão dos intervalos iRR; RMSSD: desvio padrão da frequência cardíaca; raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos normais sucessivos; NN50: média dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms; pNN50: porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms; HF: alta frequência, Un: Unidades normalizadas; LF: Baixa frequência; SD1: desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$; SD2: desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + RRm$, onde RRm é a média dos intervalos RR; $RRtri$ divisão do total de intervalos RR utilizados para construção do histograma pela frequência modal dos mesmos; TINN= medida da base de um triângulo, sendo o método da diferença dos mínimos quadrados utilizado para determinação do triângulo, α : Alfa; SE: Entropia de Shannon.

7.3.6. Discussão

O estudo indica como resultado principal que a obesidade, principalmente a abdominal, está relacionada a alterações da variabilidade da frequência cardíaca, quando analisada por métodos lineares, em crianças e adolescentes, proporcionando um aumento da atividade simpática, diminuição vagal e alteração do balanço simpato-vagal.

A obesidade global foi analisada por meio do IMC e percentual de gordura corporal. Já, para medir o nível de obesidade e abdominal foram usadas a circunferência abdominal, relação cintura/quadril e índice de conicidade.

O IMC foi utilizado nesse estudo para compor os grupos em obesos e não obesos (eutrófico e diabéticos), por ser de fácil aplicação e recomendado pela OMS (WHO, 2007). Entretanto, esse método não apresenta especificidade para distinguir a composição corporal, massa magra e gorda, bem como, bem como para identificação da distribuição regional dessa adiposidade. Incluímos, então, a análise da composição corporal pelo método da bioimpedância (FREEDMAN et al, 2009), que permite identificar o percentual de massa magra e gorda.

O grupo obeso apresentou valores maiores de IMC e % de massa gorda, e menor de massa magra, em relação aos outros dois grupos. As mesmas diferenças foram observadas para o grupo diabético em relação ao eutrófico. Nenhum diabético foi classificado como obeso.

Portanto, os diabéticos, apesar de apresentarem classificação como eutrófico, apresentam alterações na composição corporal, que, segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes, podem exacerbar a hiperglicemia, dificultar a ação da insulina e, conseqüentemente, aumentar os riscos cardíacos (SBD, 2016).

Estudos referem que as alterações inflamatórias e metabólicas, relacionadas a obesidade, alteram a dinâmica cardiovascular. Como consequência ocorre

aumento da atividade simpática, diminuição parassimpática e/ou do balanço simpato-vagal (WARNOTTE et al., 1994; PRENTKI, 1992; SOUZA; ARANTES; COSTA, 2008). Esses achados em relação ao SNA, não foram confirmados na presente pesquisa. Foi verificada correlação negativa e fraca do IMC com os índices SDNN e o SD2, ambos representativos da VFC global. Já o % de gordura correlacionou-se apenas com o SD2, também fracamente.

No que se refere a obesidade abdominal, existem evidências de que a mesma apresenta maior influência sobre o surgimento de doenças endócrinas e cardiocirculatórias que o grau de obesidade.

O acúmulo de gordura no compartimento visceral está associado deposição de gordura em regiões como fígado e intramuscular (SILVA, 2012), elevação de triglicérides, diminuição da concentração de colesterol de alta densidade (HDL-c), aumento da produção de glicemia, secreção de insulina e retenção de sódio. Esses fatores predispõem ao diabetes, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e alterações autonômicas (GOMES et al., 2010; SOARES-MIRANDA et al., 2011; REUTHER et al., 2013).

No presente estudo foram utilizadas três medidas de obesidade abdominal: circunferência da cintura, relação cintura/quadril e índice de conicidade. Sugere-se que esses índices são importantes como medidas indiretas de gordura visceral (MOTAMED et al., 2015) e bons preditores, para fatores de risco de doenças crônicas, independentemente grau de sobrepeso (HIGGIS et al., 2001).

O grupo obeso apresentou valores maiores nas três medidas, quando comparado aos outros dois grupos. O grupo de diabéticos apresentou resultados maiores que o grupo eutrófico. Apesar de todos os grupos apresentarem IC maior que 1, e valores de RCQ acima do esperado segundo a idade e sexo, o grupo obeso se afastou mais desse valor. Esse dado é preocupante, pois mesmo as crianças eutróficas, estão com valores acima do esperado, podendo indicar aumento de gordura visceral.

Esse acúmulo de gordura visceral também está associado a maior risco para eventos cardíacos, maior modulação simpática e menor parassimpática, independentemente da gordura corporal total (SOARES-MIRANDA et al., 2011).

No presente estudo foram encontradas correlação negativa da Circunferência da Cintura com os índices SDNN, RRTrin, TINN e BF. O índice RCQ se correlacionou com nenhum índice de VFC, divergindo de Yi et al. (2013), que

referem que esse índice antropométrico pode ser um dos melhores indicadores para a baixa VFC. O IC correlacionou-se, também de forma negativa, com os índices SDNN e NN50. Nenhum dos três índices antropométricos apresentou correlação com os índices não lineares de VFC.

Esses resultados corroboram os achados de outros autores (VANDERLEI et al., 2010) que referem que a quanto maior são as medidas antropométricas menor a VFC global.

Sobre os índices representativos da modulação parassimpática observou-se também uma correlação negativa entre o NN50 com o IC. Novamente as correlações representam uma maior interferência da distribuição da adiposidade com alterações autonômicas. Sendo que quanto maior esses índices preditivos menores seria a modulação vagal, o que em partes segue os estudos de LATCHMAN et al. (2011) que encontraram que com a obesidade há uma hipoatividade vagal.

Sobre a modulação simpática houve uma correlação significativa negativa na comparação com o índice espectral BF, representativo da modulação simpática e parassimpática com predomínio da simpática, com os índices de CC, também representativos da distribuição de gordura corporal, o que novamente reafirma a maior influência da distribuição da adiposidade com alterações da VFC e corrobora com os estudos de VANDERLEI et al. (2010); BRUNETTO et al. (2005); ADACHI T et al. (2011) que encontraram alterações em ambos os aferentes autonômicos, com princípio elevação da atividade simpática com posterior diminuição vagal.

Em crianças e adolescentes os estudos a esse respeito ainda são controversos e escassos. Um dos motivos é a dificuldade das coletas em virtude da ansiedade dos mesmos. Outro aspecto são as constantes mudanças fisiológicas que ocorrem nessa faixa etária. Entretanto a necessidade de estudo dessa população é eminente para que seja possível observar esses eventos e identificar e tratar alterações de forma precoce (RABBIA et al., 2003; VANDERLEI et al., 2010; LATCHMAN et al., 2011).

É de extrema importância clínica investigar de forma precoce as alterações autonômicas cardíacas que possam ser advindas da obesidade, se tornando sinal de alerta para o controle da gordura corporal e da distribuição dessa adiposidade em crianças e adolescentes, principalmente naqueles que já são diabéticos, afim de se refletir em atitudes de prevenção primária e secundária, bem como minimizar riscos de morbimortalidade.

7.3.7. Conclusão

Com os resultados encontrados conclui-se que no presente estudo, para a amostra selecionada, observou-se que a obesidade interfere na dinâmica autonômica cardíaca em crianças e adolescentes, com diminuição da VFC global, aumento da modulação simpática e retirada vagal através de métodos lineares. Ainda conclui-se que a distribuição da adiposidade, com aumento de gordura abdominal parece ter mais influencia nessas alterações do que o IMC, massa corporal total e até mesmo o percentual de gordura.

Com esses achados reitera-se a necessidade de um acompanhamento mais rigoroso, não apenas das alterações de massa corporal mas principalmente da distribuição dessa gordura nessa população afim de prevenir de forma precoce possíveis alterações cardíacas e eventos adversos de forma efetiva, precoce e eficiente, visto que se encontram no grupo de fatores de riscos cardiovasculares e que pela faixa etária as consequências podem ser piores e perduraram para a idade adulta.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando o exposto conclui-se que crianças e adolescentes na faixa etária de oito a 17 anos de idade, diabéticas tipo 1 ainda não apresentaram alterações significativas no controle neural cardíaco de repouso, no entanto jovens obesos na mesma faixa etária apresentam depressão da modulação autonômica cardíaca parassimpática e global e aumenta da modulação simpática. Portanto, a obesidade é mais prejudicial a esse sistema que o DM1 para a idade indicada.

Em relação ao tempo de aleitamento materno, o tempo de aleitamento exclusivo também ofereceu um efeito protetor ao sistema nervoso autônomo cardíaco por meio dos índices da VFC, com melhora da variabilidade global e parassimpática, apesar dessas correlações ainda serem de moderadas a fracas.

Esses achados refletem uma possibilidade do aleitamento como uma forma de prevenção primária e secundária, sendo mais uma vantagem, como uma estratégia de baixo custo, acessível e que deve ser empreendida como projetos de saúde pública para o desenvolvimento do neonato, prevenção de doenças metabólicas e cardiovasculares na infância e na vida adulta, e que teria além disso

um fator protetor também para o sistema nervoso autônomo cardíaco, com uma melhor VFC. No entanto, como são escassos ainda os estudos a esse respeito são necessários mais pesquisas para confirmação e melhor embasamento dessas afirmações.

Na comparação das medidas antropométricas globais e centrais com os índices da variabilidade observou-se que a obesidade já nessa faixa etária, interfere na dinâmica autonômica cardíaca com diminuição da VFC global, aumento da modulação simpática e hipoatividade vagal, porém a distribuição dessa adiposidade é ainda mais significativo nessas alterações do que a massa corporal total ou o percentual de gordura, reiterando a necessidade do controle de massa corporal e distribuição de gordura tanto quando já existe a obesidade quanto para as crianças diabéticas tipo 1, pois se encontram no grupo de risco para doenças cardiovasculares e que essas consequências podem pendurarem para a vida adulta.

Em relação a comparação dos índices lineares e não lineares da VFC, os índices não lineares não foram identificados muitas diferenças significantes, apesar dos valores absolutos seguirem as mesmas tendências dos lineares, talvez porque são índices mais complexos e que precisariam de um número amostral maior, o que foi uma limitação do estudo.

REFERÊNCIAS

A DOST et al. Blood pressure regulation determined by ambulatory blood pressure profiles in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: Impact on diabetic complications. *Pediatric Diabetes*, 2017.

ABESO. Diretrizes brasileiras da obesidade. Associação brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica. São Paulo, 3ª edição, 2009.

ADACHI T, SERT-KUNIYOSHI FH, CALVIN, AD, SINGH P, ROMERO-CORRAL A, VAN DER WALT C, DAVISON DE, BUKARTYK J, KONECNY T, PUSALAVIDYASAGAR S, SIERRA-JOHNSON J, S. V. K. Effect of weight gain on cardiac autonomic control during wakefulness and sleep. *Hypertension*, v. 57, n. 4, p. 723–730, 2011.

ALVES, R. L. et al. Modulação autonômica e capacidade funcional em indivíduos portadores de diabetes mellitus do tipo 1 e 2. v. 22, n. 3, p. 321–327, 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2015 (suppl 1):s8-16.

ANCONA MC, SCODELER NF, GUIDI RM, PASCHOAL MA. Variabilidade de frequência cardíaca em crianças eutróficas e obesas nas posições supina e bípede. *Rev Ciências Médicas*. 2009;18(2):69–79.

ARMSTRONG, J.; REILLY, J.J.; (Child Health Information Team). Breastfeeding and lowering the risk of childhood obesity. *Lancet*, v. 359: p. 2003–2004. 2002.

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. Hormones and Cytokines in Childhood Obesity. *Indian Pediatrics*. v. 47, n. 17, october 2010.

BALABAN, G.; SILVA, G. Efeito protetor do aleitamento materno contra a obesidade infantil. *Jornal de Pediatria*, v. 80, n. 1, p. 7–16, 2004.

BILAN A, WITCZAK A, PALUSINSKI R, MYSLINSKI W, HANZLIK J. Circadian rhythm of spectral indices of heart rate variability in healthy subjects. *J Electrocardiol*. 2005;38(3):239–43

BIRCH, S.L.; DUNCAN, M.J.; FRANKLIN C. Overweight and reduced heart rate variability in British children: An exploratory study. *Preventive Medicine*, v. 55, p. 430–432. 2012.

BORCH-JOHNSEN K, MANDRUP-POULSEN T, ZACHAU CHRISTIANSEN, B et al. Relationship between breast feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus: a hypothesis. *Lancet* 1984; 2: 1083-6.

BRASIL, Ministério da Saúde. Saúde da Criança: Aleitamento Materno e Alimentação Complementar. Cadernos de atenção básica. n.23, Brasília, (ano). Acesso em (data ex. 23 de outubro de 2018). Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_crianca_alimentacao_materno_cab23.pdf.

BRENNAN, M.; PALANISWAMI, M.; KAMEN, P. Do existing measures of Poincare plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability. *IEEE Trans Biomed Eng.*, v. 48, n 11, p. 1342–1347. 2001.

BRUNETTO, A. F. et al. Respostas autonômicas cardíacas à manobra de tilt em adolescentes obesos. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 51, n. 5, p. 256–260, 2005.

CAMBRI, L.T; OLIVEIRA, F.R.O, GEVAERD, M.S. Modulação autonômica cardíaca em repouso e controle metabólico em diabéticos tipo 2. *Revista HU*, v.34, p.115-121, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Anthropometric Reference Data for Children and Adults: United States, 2007–2010. U.S. Department of Health and Human Services. v. 11, n. 252, Oct. 2012.

CHIPKEVITCH, E. Avaliação clínica da maturação sexual na adolescência. *Jornal de Pediatria.*, v. 77, s.2, 2001.

CRUZ, T. et al. O Fígado e a Síndrome metabólica. In: GODOY-MATOS, A. F. de. *Síndrome Metabólica*. 1 ed. São Paulo: Atheneu, p. 259 – 276, 2005.

ÇOLAK, R. et al. Obesity and the Activity of the Autonomic Nervous System. *Turk J Med Sci.*, v. 30, p. 173–176. 2000.

COLE, T.J. et al. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*, v. 320, p. 1240-3, 2000.

DANIELS, S.R. The Consequences of Childhood Overweight and Obesity. *The Future of Children*. v. 16, n.1, 2006.

DAWSON B, TRAPP RG. Basic and clinical biostatistics [Internet]. Lange Medical BooksMcGraw-Hill;2001. Available from:
<https://books.google.com.br/books?id=VMNpAAAAMAAJ>

DEENEY, T.; CORKEYLL, Barbara E. Malonyl-CoA and long chain acyl-CoA esters as metabolic coupling factors in nutrient-induced insulin secretion. *Journal of Biological Chemistry*, v. 267, n. 9, p. 5802-5810, 1992

DESPRES JP, LEMIEUX I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.

DEWEY, K.G. Is breastfeeding protective against child obesity? *J Hum Lact.*, v. 19, p. 9-18. 2003.

DIETZ, W.H. Health Consequences of Obesity in Youth: Childhood Predictors of Adult Disease. *Pediatrics (Supplement)*, v. 101, p. 518–525. 1998. ISSN 0031 4005.

ENES, C. C.; SLATER, B. Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. *Revista brasileira de epidemiologia*. Vol 13, n.1, 2010

EWING DJ, CAMPBELL IW, CLARKE BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med.* Vol 193, pp 95-108, 1980.

FERRANTE FA.et al. Análise dos índices de variabilidade da frequência cardíaca em jovens obesos [Internet]. 2010. Available from: <http://hdl.handle.net/11449/119016>

FOSS-FREITAS M.C; JUNIOR W.M; FOSS M.C. Neuropatia Autonômica: Uma Complicação de Alto Risco no Diabetes Melito Tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008.

FREEDMAN, I.D.S. et al. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*, v. 103, p.1175-1182, 1999.

FREEDMAN, D. S. et al. Classification of body fatness by body mass index-for-age categories among children. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, v. 163, n. 9, p. 805–811, 2009.

FREEMARK, M. Predictors of Childhood Obesity and Pathogenesis of Comorbidities. *Pediatric Annals*, v. 43, n. 9, 2014.

FREITAS, I.M.G. et al. Disfunção autonômica cardíaca em crianças e adolescentes obesos normotensos. *Rev Paul Pediatr.*, v. 32, n. 2, p. 244-249. 2014.

FREITAS, M. C. F.; JUNIOR, W. M.; FOSS, M. C. Neuropatia autonômica: uma complicação de alto risco no diabetes melito tipo 1. *Endocrinologia, Arquivos Brasileiros De*, v. 52, n. 2, p. 398–406, 2008.

GAMELIN, F.X.; BERTHOIN, S.; BOSQUET, L. Validity of the Polar S810 heart rate monitor to measure R-R intervals at rest. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 38, n. 5, p. 887-893, 2006.

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*, v. 12, n. 4, p. 167-171, 2005.

GOMES F, et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. vol.94, n.2, pp. 273-279, 2010.

GRASSI, F. et al. Heart rate, sympathetic cardiovascular influences, and the metabolic syndrome. *Progress in Cardiovascular Diseases*. vol. 52, no. 1, pp. 31–37, 2009.

HIGGINS P.B et al. Defining Health-Related Obesity in Prepubertal Children. *Obesity research* Vol. 9 No. 4 April, 2001.

KIMURA T, et al. Body fat and blood lipids in postmenopausal women are related to retarding autonomic nervous system activity. *Eur J Appl Physiol*. Vol 97, no 5, pp 542-547, 2006.

KUNIYOSHI, F. H. et al. Abnormal neurovascular control during sympathoexcitation in obesity. *Obesity Research*, v. 11, p. 1411-1419, 2003.

LANGSBERG, L. Obesity and the insulin resistance syndrome. *Hypertension Research*, v. 19, p. S51-S55, 1996.

LATCHMAN, P. L. et al. Impaired autonomic function in normotensive obese children. *Clinical Autonomic Research*, v. 21, n. 5, p. 319–323, 2011.

LIRA FA DOS S, BRASILEIRO-SANTOS M DO S, BORBA VVL, COSTA MJC, DANTAS PROF, SANTOS A DA C. Influência da vitamina C na modulação autonômica cardíaca no repouso e durante o exercício isométrico em crianças obesas The influence of vitamin C on cardiac autonomic modulation at rest and during isometric exercise in obese children. *Rev Bras saúde Matern Infant*. 2012;12(3):259–67.

LOPES HF, E. B. M. Autonomic dysregulation and the metabolic syndrome: pathologic partners in an emerging global pandemic. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 87, n. 4, p. 538–547, 2006.

MALLIANI, A. The Pattern of Sympathovagal Balance Explored in the Frequency Domain. *News Physiol. Sci.*, v. 14, p. 111-117, 1999.

MAJERCAK, I. The use of heart rate variability in cardiology. *Bratisl Lek Listy*, v.103, n. 10, p. 368-77.

MALLIANI, A. The Pattern of Sympathovagal Balance Explored in the Frequency Domain. *News Physiol. Sci.*, v. 14, p. 111-117, 1999.

MASER, R. E.; LENHARD, M. J. REVIEW: Cardiovascular Autonomic Neuropathy Due to Diabetes Mellitus: Clinical Manifestations, Consequences, and Treatment. v. 90, n. 10, p. 5896–5903, 2005.

MCARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.I. *Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. 3. ed. Guanabara Koogan. 1992.

MCCRORY, C.; LAYTE R. Breastfeeding and risk of overweight and obesity at nineyears of age. *Social Science & Medicine*, v. 75, p. 323-330. 2012.

MEDEIROS, J. DOS S. et al. Estudo caso-controle sobre exposição precoce ao leite de vaca e ocorrência de Diabetes Mellitus tipo 1 em Campina Grande, Paraíba. v. 3, n. 3, p. 271–280, 2003.

MOLFINO, A, et al. A. Body mass index is related to autonomic nervous system activity as measured by heart rate variability. *Eur J Clin Nutr*, v. 63, n. 10, p. 1263-75, 2009.

MORAES, F.R. Obesidade infantil: fatores de risco perinatais, obesidade central, maturação sexual e análises linear e não linear da modulação autonômica da frequência cardíaca. Tese de Doutorado, Repositório da UNESP, PPG em DHT, Out de 2016. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/144971>.

MOTAMED, N. et al., Conicity Index and Waist-to-Hip Ratio Are Superior Obesity Indices in Predicting 10-Year Cardiovascular Risk Among Men and Women. *Clinical Cardiology*. v. 38, n. 9, p. 527–534, Sep 2015.

MUELLER, W.H. et al. Conicity: A New Index of Body Fat Distribution-What Does It Tell Us? *American Journal of Human Biology*. v. 8, p. 489-496, 1996.

NOVOTNY, R. et al. Breastfeeding Is Associated with Lower Body Mass Index among Children of the Commonwealth of the Northern Mariana Islands. *J Am Diet Assoc.*, v. 107, p. 1743-1746. 2007.

PASCHOAL, M.A.; TREVIZAN, P.F.; SCODELER, N.F. Heart Rate Variability, Blood Lipids and Physical Capacity of Obese and Non-Obese Children. *Arq Bras Cardiol*. v. 93, n. 3, p. 223-229. 2009.

PEREIRA, P. F.; ALFENAS, R. DE C. G.; ARAÚJO, R. M. A. Does breastfeeding influence the risk of developing diabetes mellitus in children? A review of current evidence. *Jornal de Pediatria*, v. 90, n. 1, p. 7–15, 2014.

PETERSON, H.R. et al. Body Fat and the Activity of the Autonomic Nervous System. *N Engl J Med.*, v. 28, n. 318(17), p. 1077-1083. Apr 1988.

PORTA, A. et al. Addressing the complexity of cardiovascular regulation. *Phil. Trans.Royal Soc. A.*, v. 367, p. 1215-1218. 2009.

PORTA, A. et al. Assessment of cardiac autonomic modulation during graded headup tilt by symbolic analysis of heart rate variability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, v. 293, n. 1, p. 702-708. 2007.

PORTA, A. et al. Entropy, entropy rate and pattern classification as tool to typify complexity of short-term heart period variability. *IEEE Trans Biomed Eng.*, v. 48, n.11, p. 1282-1291. 2001

PORTELA, D.S. et al. Maternal obesity, environmental factors, cesarean delivery and breastfeeding as determinants of overweight and obesity in children: results from a cohort. *BMC Pregnancy and Childbirth*, v. 15, n. 94. 2015.

PRENTKI, Mare; VISCHER, Solange; GLENNON, M. Clay; REGAZZI, Romano; RABBIA, F.S.B. et al. Assessment of cardiac autonomic modulation during adolescent obesity. *Obesity Research*, vol. 11, p. 541-48, 2003.

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol.*, v. 84, n. 1, p. 1-14. Jul 2002.

RABBONE, I et al. Early cardiovascular autonomic dysfunction, beta cell function and insulin resistance in obese adolescents. *Acta Bio Medica*, v. 80, p. 29-35, 2009.

RAJENDRA AU, PAUL JOSEPH K, KANNATHAL N, LIM CM, SURJ JS. Heart rate variability: a review. *Med Biol Eng Comput*. 2006;44(12):1031–51.

REAVEN G. All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals. *Diab Vasc Dis Res.* 2005;2(3):105-12.

REUTER, C. P et al. Prevalence of obesity and cardiovascular risk among children and adolescents in the municipality of Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul. *Sao Paulo Med J: São Paulo.* v. 131, n. 5, p. 323-30, 2013.

RIBEIRO MM, Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MUPB, Forjaz CLM, Barretto ACP, et al. Muscle sympathetic nerve activity and hemodynamic alterations in middle-aged obese women. *Brazilian J Med Biol Res.* 2001;34(4):475–8.

SCHERRER, U. et al. Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects. *Circulation*, v. 89, p. 2634-2640, 1994.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016). SBD,2016: [s.n.].

SILVA, D. M. Relação entre variabilidade da frequência cardíaca e a relação cintura/anca. Dissertação (Mestrado em Biocinética) - Faculdade de Ciências do Desporto e Educação Física da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.

SIMON, V.G.N.; SOUZA, J.M.P.; SOUZA S.B. Breastfeeding, complementary feeding, overweight and obesity in pre-school children. *Rev Saúde Pública*, v. 43, n.1, p. 1-9, 2008.

SOARES-MIRANDA, L.et al. Fat influences cardiac autonomic function in obese and overweight girls. *Pediatr Cardiol*, v. 32, p. 924–928, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.89, n.3, p. e24-e79. 2006.

SOUZA, Andréia C. T. O. S.; ARANTES, Bruna R.; COSTA, Patrícia D. A Obesidade como Fator de Risco para Doenças Cardiovasculares, *Revista de Educação, Meio Ambiente e Saúde*, v. 3, n. 1, p. 107-116, 2008.

STOMFAI, S. et al. Intra- and inter-observer reliability in anthropometric measurements in children. *Int J Obes, London. Suppl 1*, p. S45-51. Apr 2011.

STRAUSS, R.S. Childhood Obesity and Self-Esteem. *Pediatrics*. v. 105, n.1, Jan 2000.

TASK FORCE of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*. v. 93. p.1043-65. 1996.

TAYLOR, R. W.et al. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3–19 y. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 72, n. 2, p. 490-495, 2000.

TENTOLOURIS, N.; ARGYRAKOPOULOU, G.; KATSILAMBROS, N. Perturbed

Autonomic Nervous System Function in Metabolic Syndrome. *Neuromol Med*, v. 10, p. 169–178. 2008.

THAYER J. F. et al. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *International Journal of Cardiology*. Vol 141, pp. 122–131, 2010.

TUCK, M. L. Obesity, the symphathetic nervous system, and essential hypertension. Hypertension, v. 19, Suppl 1, p. 67-77, 1992.

TWELLS, L.; NEWHOOK, L.A. Can exclusive breastfeeding reduce the likelihood of childhood obesity in some regions of Canada? *Can J Public Health.*, v. 101, n. 1,p.36-39. 2010.

VANDERLEI, L.C.M. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. Rev Bras Cir Cardiovasc., v. 24, n. 2, p. 205-217. 2009.

VANDERLEI, L. C. M. et al. Geometric indexes of heart rate variability in obese and eutrophic children. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 95, n. 1, p. 35–40, 2010.

VRIJKOTTE, T.G.M. et al. Cardiac Autonomic Nervous System Activation and Metabolic Profile in Young Children: The ABCD Study. PLOS ONE, v. 10, n.9, p. 1-15, Sep 2015.

WAGNER, C. L. Amniotic fluid and human milk: a continuum of effect? J Pediatr Gastroenterol Nutr., v. 34, n. 5, p. 513, 2002.

WANG, Y.; LOBSTEIN T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *International Journal of Pediatric Obesity*, v. 1, n. 1, p. 11-25. 2006.

WARNOTTE, Catherin; GILON, Patrick; NENQUIN, Myriam; HENQUIN, JeanClaude.
Mechanisms of the stimulation of insulin release by saturated fatty acids: a study of
palmitate effects in mouse β -cells. *Diabetes*, v. 43, n. 5, p. 703-711, 1994.

WATERLAND, R.A.; GARZA C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J Clin Nutr.*, v. 69, p. 179–97. 1999.

WHO. Health Promotion Glossary. WHO/HPR/HEP/98.1 [Internet]. Geneva; 1998. Available from: http://www.who.int/healthpromotion/about/HPR_Glossary_1998.pdf

WILBORN, C. et al. Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*.. v. 2, n. 2, p. 4-31, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, Child Growth Standards, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Promoting proper feeding for infants and young children. Geneva. January, 2004. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/topics/infantfeeding/en/>. Acesso em: 22 ago. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. World Health Statistics 2013. Geneva. 2013.

YAKINCI, C. et al. Autonomic nervous system functions in obese children. *Brain Dev.*, v. 22, n. 3, p. 151-153. May 2000.

YI, S. H. et al. Differential Association of Adiposity Measures with Heart Rate Variability Measures in Koreans. *Yonsei Med J*, v. 54, n. 1, p. 55-61, 2013.

ZHAO, J.; GRANT, S.A.F. Genetics of Childhood Obesity. *Journal of Obesity*. p. 1-9, 2011.

APÊNDICE I: FICHA DE AVALIAÇÃO AMAMENTAÇÃO MATERNA**FICHA DE AVALIAÇÃO – PROJETO OBESIDADE INFANTIL****DADOS PESSOAIS**

Nome completo: _____ Data nascimento: _____
Local Nascimento: _____ UF: _____ Idade: _____ Sexo: _____
CPF: _____ RG: _____ UF: _____
Endereço: _____
Bairro: _____ Cidade: _____ UF: _____
Estudante: () sim () não Série/Período: _____ Instituição de Ensino: _____
Raça: () branca () negra () amarela () vermelha
Telefones: _____ E-mail: _____

AVALIAÇÃO FATORES DE RISCO

Criança recebeu amamentação materna? () Sim () Não

Se sim: até qual idade houve amamentação materna exclusiva: _____

Com que idade houve encerramento da amamentação materna: _____

APÊNDICE II: TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Marília

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - (TCLE) (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/12)

DIABETES TIPO I, OBESIDADE INFANTIL, TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO
E MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.

Eu, _____ autorizo meu (minha)
filho _____ (a)

_____ tendo sido
convidado a participar como voluntário do estudo “DIABETES TIPO I, OBESIDADE
INFANTIL, TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO E MODULAÇÃO AUTONÔMICA
DA FREQUÊNCIA CARDÍACA”, recebi do Sr. Professor Doutor Robison José
Quitério do Departamento de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade
Estadual Paulista – Campus Marília, responsável por sua execução, as seguintes
informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes
aspectos:

- O estudo se destina a investigar a modulação autonômica cardíaca de repouso e sua variabilidade (VFC) e associa-la ao tempo de aleitamento materno em crianças e adolescentes Obesos e diabéticos tipo 1.
- Levando em consideração o problema de saúde pública que tornou-se a obesidade infantil e a diabetes e suas consequências, este estudo é primordial e contribuirá para a elaboração de dados normativos nesse público e contribuirá para o planejamento das intervenções para melhorar a saúde cardiovascular, reduzir o excesso de peso em crianças e, conseqüentemente, as doenças cardiovasculares e os gastos públicos.

- Este estudo durará cerca de 12 meses, entretanto o projeto de pesquisa terá início em Janeiro de 2018 e se findará em Janeiro de 2019.
- O estudo será feito da seguinte maneira: Dia 1 = Triagem; Encaminhamento para exames laboratoriais); orientações por escrito e familiarização com os procedimentos e testes de função autonômica do segundo dia; Dia 2 = Anamnese; sinais vitais; Medidas antropométricas; avaliação da função autonômica durante o repouso.
- Meu filho (a) participará de todas as etapas citadas anteriormente no parágrafo acima.
- Não existem riscos possíveis à sua saúde física e mental descrita na literatura.
- Que a sua participação será acompanhada do seguinte modo: através de anamnese a cada intervenção, e também será acompanhado por um sistema digital de telemetria ((Polar RS800CX, Polar Electro Oy, Kempele, Finland) que, além do armazenamento dos dados permitirá a monitorização da frequência cardíaca dentre outras variáveis cardiovasculares.
- Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- Que, a qualquer momento, poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.
- Que as informações conseguidas através da participação de meu filho (a) não permitirão a identificação pessoal, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Que eu deverei ser ressarcido por todas as despesas que venha a ter com a participação nesse estudo, sendo-me garantida a existência de recursos, uma vez que o estudo não acarretará nenhuma despesa para o participante da pesquisa.
- Que serei indenizado por qualquer dano que venha a sofrer com a participação na pesquisa, podendo ser encaminhado para o comitê de ética e

pesquisa da universidade Estadual Paulista uma vez que este setor estará de pronto para lhe atender.

- Estou ciente que receberei uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios, concordo em autorizar meu filho (a) a dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Nas pesquisas com metodologias experimentais na área biomédica, envolvendo seres humanos, incluir:

V.4 – ...

- a) explicitar, quando pertinente, os métodos terapêuticos alternativos existentes;
- b) esclarecer, quando pertinente, sobre a possibilidade de inclusão do participante em grupo controle ou placebo, explicitando, claramente, o significado dessa possibilidade; e
- c) não exigir do participante da pesquisa, sob qualquer argumento, renúncia ao direito à indenização por dano. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido não deve conter ressalva que afaste essa responsabilidade ou que implique ao participante da pesquisa abrir mão de seus direitos, incluindo o direito de procurar obter indenização por danos eventuais.

Endereço do participante voluntário (a)

Domicílio:

Bloco: Nº:Complemento:

Bairro: CEP: Cidade: Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr.: Robison José Quitério

Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Endereço Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000

Bairro: Mirante, CEP: 17525-000, Cidade: Marília SP

Telefones p/contato: (14) 98134-2059

Endereço do responsável pela pesquisa:

Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Endereço Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000

Bairro: Mirante, CEP: 17525-000, Cidade: Marília SP

Telefones p/contato: (14) 98134-2059

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista – Campus de Marília

Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000 – Marília SP - Telefone: (14) 3402-1340

Marília, _____ de _____ de _____.

--	--

Assinatura d(o,a) voluntári(o,a)	Nome e Assinatura do responsável pelo estudo ASSINAR O MODELO, OBRIGATORIAMENTE
----------------------------------	--

APÊNDICE III: TERMO DE ASSENTIMENTO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
 Campus de Marília

TERMO DE ASSENTIMENTO

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/12)

**DIABETES TIPO I, OBESIDADE INFANTIL, TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO
E MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.**

Eu, _____ tendo sido convidado a participar como voluntário do estudo “DIABETES TIPO I, OBESIDADE INFANTIL, TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO E MODULAÇÃO AUTONÔMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.”, recebi do Sr. Professor Doutor Robison José Quitério do Departamento de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Estadual Paulista – Campus Marília, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- O estudo se destina a investigar a obesidade, diabetes tipo 1 e os fatores de risco para doenças do coração, as respostas da frequência cardíaca durante o repouso e a amamentação materna.
- Este estudo durará cerca de 12 meses, com início em janeiro de 2018 e termino em Janeiro de 2019.
- Todos os indivíduos serão encaminhados para exames de sangue (laboratoriais), realizado um entrevista com coleta de dados pessoais, medidas de massa corporal (peso), estatura (altura), circunferência da cintura e quadril e a composição corporal (massa magra, gordura, água do corpo), sinais vitais (pressão, frequência cardíaca, frequência respiratória) e analisada o controle neural do coração durante o repouso.
- Aceito participar de todas as etapas descritas acima, não apresentando riscos possíveis a minha saúde física e mental.

- Sempre que desejar serão fornecidas explicações sobre o estudo, e a qualquer momento poderei recusar a continuar participando do estudo, sem qualquer penalidade ou prejuízo.
- Que as informações conseguidas através de minha participação não permitirão a minha identificação pessoal, exceto para os responsáveis do estudo.
- Finalmente, tendo entendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios, ACEITO PARTICIPAR SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Nas pesquisas com metodologias experimentais na área biomédica, envolvendo seres humanos, incluir:

V.4 – ...

- a) explicitar, quando pertinente, os métodos terapêuticos alternativos existentes;
- b) esclarecer, quando pertinente, sobre a possibilidade de inclusão do participante em grupo controle ou placebo, explicitando, claramente, o significado dessa possibilidade; e
- c) não exigir do participante da pesquisa, sob qualquer argumento, renúncia ao direito à indenização por dano. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido não deve conter ressalva que afaste essa responsabilidade ou que implique ao participante da pesquisa abrir mão de seus direitos, incluindo o direito de procurar obter indenização por danos eventuais.

Endereço do participante voluntário (a)

Domicílio:

Bloco: Nº:Complemento:

Bairro: CEP: Cidade: Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr.: Robison José Quitério

Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Endereço Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000

Bairro: Mirante, CEP: 17525-000, Cidade: Marília SP

Telefones p/contato: (14) 98134-2059

Endereço do responsável pela pesquisa:

Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Endereço Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000

Bairro: Mirante, CEP: 17525-000, Cidade: Marília SP

Telefones p/contato: (14) 98134-2059

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista – Campus de Marília

Avenida Hygino Muzzi Filho, 737, Bairro Mirante, 17525-000 – Marília SP - Telefone:
(14) 3402-1340

Marília, _____ de _____ de _____.

--	--

Assinatura d(o,a) voluntári(o,a)	Nome e Assinatura do responsável pelo estudo ASSINAR O MODELO, OBRIGATORIAMENTE
----------------------------------	--