



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

ANÁLISE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS INDUZIDOS AO DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2

Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos

Recife

2016



ANÁLISE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS INDUZIDOS AO DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2

Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos

Orientador:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-Orientador:

Prof. Dr. Bruno Mendes Tenório

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

RECIFE
2016

Ficha catalográfica

S237a Santos, Ardilles Juan Carlos Alves dos
Análise da frequência cardíaca de ratos induzidos ao
diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 / Ardilles Juan Carlos Alves
dos Santos. – Recife, 2016.
84 f. : il.

Orientador: Romildo de Albuquerque Nogueira.
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2016.
Inclui referências e apêndice(s).

1. Diabetes Mellitus 2. Eletrocardiograma 3. Métodos
Matemáticos I. Nogueira, Romildo de Albuquerque,
orientador II. Título

CDD 636.089

ARDILLES JUAN CARLOS ALVES DOS SANTOS

**Análise da frequência cardíaca de ratos induzidos ao diabetes
mellitus tipo 1 e tipo 2**

Tese defendida e aprovada em 29 de fevereiro de 2016.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal – UFRPE
Presidente

Profa. Dra. Isvânia Maria Serafim da Silva Lopes
Departamento de Biofísica e Radiobiologia – UFPE

Profa. Dra. Jeine Emanuele Santos Silva
Departamento de Biofísica – UFRPE

Dr. Edbergue Ventura Lola Costa

Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal – UFRPE

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por permitir a realização de todas as conquistas em nossas vidas, sempre nos guiando pelos melhores caminhos.

Agradeço imensamente aos meus pais Adjane e Carlos, pelo incentivo em todos os momentos desta etapa, sempre mostrando a importância dos estudos em nossas vidas, e por acreditarem em minhas escolhas. Ao meu irmão Panait por todo o apoio dado nos momentos deste trabalho. A minha noiva Eva por toda ajuda dada na realização deste trabalho e por sua presença em todos os momentos, mesmo nos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira, pelo qual tenho grande admiração, por sua simplicidade e humildade, mostrando que o conhecimento é de todos, nos fornecendo a base necessária para o desenvolvimento desse conhecimento. Sempre acessível e presente em todos os momentos de necessidade na realização dessa missão.

Ao Prof. Dr. Bruno Mendes Tenório, pela co-orientação neste trabalho, pela paciência, pelas conversas e conselhos, pelo apoio dado em todas as etapas deste processo.

Aos colegas e amigos do LABTEC e CENAPESQ, especialmente a José Radamés por todo apoio dado, acompanhando parte do desenvolvimento deste trabalho. Aos colegas Daniella e Leandro pelo auxílio no início deste trabalho, me ensinando as etapas para os registros dos animais. A Gesilda por partilhar momentos de aprendizagem e de trabalho. E todos os demais membros do laboratório que sempre estiveram presentes em todas as etapas, torando o convívio nos laboratórios sempre agradáveis e prazerosos: Jeine, Emmanuel Marliete, Cláudio, Hannah, Renata, Edberghe, Thaís, Rubens, Victor, João e Camila. A Ismaela e Cintia, que mesmo não sendo do nosso laboratório fizeram parte deste trabalho, passando seus conhecimentos e experiências adquiridas ao longo do trabalho.

Aos professores e funcionários da Pós-Graduação em Biociência Animal, que sempre contribuíram na realização deste trabalho. A André e

Renata, responsáveis por cuidar biotério do DMFA, fornecendo um ambiente adequado para o desenvolvimento das pesquisas.

À todos parentes e amigos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida para realização deste trabalho.

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

-Fernando Pessoa

RESUMO

O Diabetes Mellitus (DM) é considerado um dos maiores problemas de saúde em todo o mundo, sendo este uma das principais causas de doenças que acometem o sistema cardiovascular em especial o coração, comprometendo desta forma a qualidade de vida dos seus portadores. Essa doença é enquadrada, principalmente, em duas categorias, Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1) conhecido como Diabetes Mellitus Dependente de Insulina (DMDI) e o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) conhecido como Diabetes Mellitus não Dependente de Insulina (DMNDI). Muitas pesquisas vêm tentando comprovar o real efeito do DM sobre a dinâmica cardíaca. A utilização de métodos matemáticos e computacionais para análise do Eletrocardiograma (ECG) de portadores de DM surge como uma nova ferramenta, cheia de possibilidades, trazendo novas perspectivas, para um diagnóstico e acompanhamento mais preciso dessas enfermidades cardíacas em decorrência do DM. No presente trabalho buscou-se verificar os efeitos do DM 1 e DM 2 sobre a atividade elétrica cardíaca de ratos induzidos ao DM 1 e DM 2 pela Streptozotocina (STZ), através da aplicação de métodos matemáticos, como a Análise de Flutuação Destendenciada (DFA) e a Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ). Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, sendo um animais do grupo controle (GC), animais induzidos ao DM 1 tratados com insulina (DM 1 I), animais induzidos ao DM 1 sem receber o tratamento com insulina (DM 1) e animais induzidos ao DM 2 (DM 2). Os animais dos grupos DM 1 e DM 2 apresentaram modificações nos padrões do ECG quando comparados ao GC e DM 1 I, mostrando que os métodos utilizados se mostraram sensíveis as variações no traçado do ECG desses grupos de animais. Foram também observadas diferenças entre os padrões dos grupos DM 1 e DM 2, mostrando que as técnicas são sensíveis mesmo as pequenas variações causadas nos diferentes tipos de diabetes.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus, Eletrocardiograma, Análise de Flutuação Destendenciada, Complexidade de Lempel-Ziv, Ratos Wistar.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is considered one of the biggest health problems worldwide, which is a major cause of diseases affecting the cardiovascular system, especially the heart, thus compromising the quality of life of their patients. This disease is framed mainly into two categories Diabetes mellitus type 1 (DM1) known as Diabetes Mellitus Insulin Dependent (IDDM) and type 2 diabetes mellitus (DM 2) known as diabetes mellitus non-insulin dependent (NIDDM). Many studies have attempted to demonstrate the real effect of DM on heart dynamics. The use of mathematical and computational methods for analysis of electrocardiogram (ECG) of DM carriers emerged as a new tool, full of possibilities, bringing new perspectives to a more accurate diagnosis and monitoring these heart problems due to diabetes. In this study we sought to evaluate the effects of DM 1 and DM 2 on cardiac electrical activity of rats induced to DM 1 and DM 2 by streptozotocin (STZ), by applying mathematical methods, such as fluctuation analysis Detrended (DFA) and the Lempel-Ziv Complexity (CLZ). The animals were randomly divided into four groups, one being the control group (CG), animals induced to DM1 treated with insulin (DM 1 I), animals induced to DM 1 without receiving treatment with insulin (DM 1) and animals induced DM 2 (DM2). The animal DM1 and DM2 groups present changes in ECG patterns when compared to GC and DM 1 I, showing that the methods used were sensitive changes in the ECG trace these groups of animals. There were also no differences between standards of DM 1 and DM 2 groups, showing that the techniques are sensitive to even small variations caused in the different types of diabetes.

Keywords: Diabetes Mellitus, Electrocardiogram, Detrended Fluctuation Analysis, Lempel-Ziv Complexity, Wistar Rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Sistema Cardiovascular	20
2.2 Células do músculo cardíaco (cardiomiócitos)	23
2.3 Eletrocardiograma (ECG)	25
2.4 Diabetes e suas classificações	29
2.5 Efeitos do Diabetes Mellitus sobre a dinâmica cardíaca	31
2.6 Métodos não-lineares para análise do ECG	32
2.6.1 Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ)	33
2.6.2 Análise de Flutuação Destendenciada (DFA)	35
3. OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	39
3.2 Objetivos Específicos	39
4. Metodologia	40
4.1 Animais e condições de instalação	41
4.2 Desenho experimental	41
4.3 Protocolo para indução do Diabetes Mellitus tipo 1 e tipo 2	41
4.4 Procedimentos realizados para caracterização dos modelos animais de Diabetes Mellitus tipo 1 e tipo 2	42
4.4.1 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose (IGTT)	42
4.4.2 Determinação da glicose plasmática	43
4.4.3 Teste Hemoglobina Glicada (HbA1c)	43
4.5 Coleta e análise do ECG	45
4.6 Eutanásia dos animais	46
4.7 Análise estatística	46
5. Referências bibliográficas	47
CAPÍTULO I	62
Métodos matemáticos não lineares aplicados a investigação dos efeitos do Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1) e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) sobre a atividade elétrica cardíaca	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA : Análise de variância

AVC : Acidente vascular cerebral

aV_F : Vetor dos pés ampliados

aV_L : Vetor ampliado esquerdo

aV_R : Vetor ampliado direito

bpm : Batimentos por minuto

Ca^{2+} : Cálcio

CCTL: Canais de cálcio do tipo L

CD : Cardiomiopatia diabética

CLZ : Complexidade de Lempel-Ziv

CM : Cardiomiócito

DCC : Doenças cardíaca coronárias

DDL : Despolarização diastólica lenta

DFA : Análise de flutuação destendenciada

DM : Diabetes mellitus

DM 1 : Diabetes mellitus tipo 1

DM 2 : Diabetes mellitus tipo 2

DMDI : Diabetes mellitus dependente de insulina

DMNDI : Diabetes mellitus não dependente de insulina

ECG : Eletrocardiograma

EDTA : Ácido etilenodiamino tetra-acético

FC : Frequência cardíaca

HbA1c: Hemoglobina glicosilada

I_{caL} : Correntes de canais de cálcio do tipo L

I_{caT} : Correntes de canais de cálcio do tipo T

I_{NaK} : Correntes de sódio-potássio ATPase

I_f : Correntes de canais de nucleotídeo ativados por uma hiperpolarização

IGTT : Teste de tolerância intraperitoneal à glicose

I_K : Corrente de canal de potássio

I_{TNC} : Corrente do trocador de sódio-cálcio

$Na^+ - K^+$: Bomba de sódio-potássio

NAC : Neuroatua autônoma cardiovascular

PA : Potencial de ação

PVC : Policloreto de vinila

SC : Sistema cardiovascular

SNA : Sistema nervoso autônomo

SNC : Sistema nervoso central

SNP : Sistema nervoso parassimpático

SNS : Sistema nervoso simpático

STZ : Streptozotocina

TNC: Trocador de sódio-cálcio

VFC : Variabilidade da frequência cardíaca

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Potencial de ação da célula marca-passo cardíaca. Fase 0 é caracterizada por uma taxa de despolarização baixa, ausência das fases 1 e 2, fase 3 está representando a repolarização da célula e a fase 4ª representa a célula em repouso. Fonte: <http://www.virtual.epm.br/material/tis/currbio/trab2000/cardiovasc/excitab.htm>.....18

Figura 2. Potencial de ação da célula cardíaca. Fase 0 representa despolarização rápida da célula, fase 1 repolarização parcial da célula, fase 2 formação do platô onde a célula mantém-se despolarizada, fase 3 repolarização celular e fase 4 a célula cardíaca retorna ao potencial de repouso. Fonte: http://www.uff.br/fisio6/aulas/aula_07/topico_01.htm#4.19

Figura 3. Inervação cardíaca. Ramos do SNA deixando o SNC em direção ao coração. Através do SNS e SNP, tendo estes a função de controlar a frequência cardíaca nos diferentes estados fisiológicos do indivíduo. Fonte: http://hubpages.com/health/-How-the-heart-feels-love_The-Reputation-of-the-heart#.20

Figura 4. Estrutura de um cardiomiócito, evidenciando toda a ultra-estrutura miofibrilar. Enfoque para as linhas Z, que marcam a formação dos sarcômeros, evidenciando as zonas claras que correspondem as bandas I, e as zonas escuras centrais que correspondem as bandas A, no centro da banda A encontramos a linha M. Fonte: https://www.google.com.br/imgres?imgurl=https://anatomiahumisabelprimera.files.wordpress.com/2014/12/fibrasmuscularescardiacas2.jpg&imgrefurl=http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term%3Dmitoc%25C3%25B4ndrias%2Bmusculares%26lang%3D3&h=515&w=740&tbid=dyklRnEKLnsMHM:&docid=2DD0hmZgZrDtM&ei=ONziVtPBLIK2wASu6p_ICA&tbm=isch&ved=0ahUKEwjTvcLm8bjLAhUCG5AKHS71B4kQMwhMKCcwJw.....22

Figura 5. Traçado de um ECG típico, fazendo o acompanhamento de três batimentos cardíacos consecutivos, evidenciando as ondas P, complexo QRS e onda T. O intervalo R-R também é evidenciado, importante medida do ECG. Fonte: SINGH, 2015.25

Figura 6. Eixos de orientação do coração para aquisição do ECG. Eixos de orientação em relação as derivações dos membros I, II, III, aV_R , aV_L , aV_F , e derivações pré-cordiais V1, V2, V3, V4, V5, V6. Fonte: http://webcardio.net.br/derivacoes_precordiais.php.26

Figura 7. Animal vestindo a jaqueta para aquisição do ECG, na região anterior é possível visualizar os eletrodos ligados ao fio de comunicação com o microcomputador.....27

Figura 8. Retirada da tendência da série temporal integrada, subtraindo-se o valor do ajuste linear $y_n(k)$ do valor correspondente da série integrada $y(k)$. Fonte: CASTRO, 2013.35

Figura 9. Aparelho Accu Check Performa utilizado para realização do Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT). Fonte: Arquivo pessoal.41

Figura 10. Aparelho de Espectofotometria utilizado para determinação da glicose plasmática, com um comprimento de onda de 505 nm. Fonte: Arquivo pessoal.42

CAPÍTULO ÚNICO:

Figura 1. Valores da glicemia expressos em (mg/dl), avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$73

Figura 2. Valores do IGTT nos tempos 0, antes da aplicação da glicose, 30, 60 90 e 120 minutos após a aplicação da glicose, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$74

Figura 3. Valores do HbA1c, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$75

Figura 4. Valores do α DFA, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$76

Figura 5. Valores da CLZ, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$77

1. INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é um importante problema de saúde e estimativas mostram que 8% da população mundial é portadora (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2014), agravado pelo estilo de vida moderno, caracterizado por atividade física reduzida, obesidade aumentada e envelhecimento da população (WHITING et al, 2011). O DM é uma das principais causas de Doenças Cardíacas Coronárias (DCC), Acidente Vascular Cerebral (AVC), insuficiência renal (MONESI et al., 2014). Segundo Soedamah-Muthu *et al.*, 2004 pacientes com DM apresentam um risco duas vezes maior em desenvolver DCC do que pacientes não diabéticos.

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1), é uma doença crônica decorrente da perda de células β pancreáticas devido a complexos processos auto-imunes provocando a morte destas células, já o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) surge em decorrência da deficiência da ação da insulina, chamada de resistência a insulina, juntamente com uma deficiência na secreção desse hormônio (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

Nos últimos anos houve um grande aumento de estudos pela comunidade científica tentando esclarecer os efeitos do DM sobre a dinâmica cardíaca (SARMA et al., 2013). Huynh et al, 2014 mostraram que o DM altera a dinâmica cardíaca levando ao desenvolvimento da Cardiomiopatia Diabética (CD), é também uma das principais causas do aumento da mortalidade em pacientes diabéticos (GIACCO & BROENLEE, 2010; BUGGER & ABEL, 2014). Desta forma, um bom acompanhamento clínico é necessário para detecção precoce de alterações cardíacas ocasionadas pelo diabetes. Entre os métodos de análise da atividade cardíaca o Eletrocardiograma (ECG), é uma ferramenta confiável e de baixo custo e permite tanto um correto diagnóstico como o acompanhamento no posterior tratamento de enfermidades cardíacas. A partir do ECG é possível se medir a frequência cardíaca (FC), sendo esta mensurada pelo número de intervalos R no decorrer do tempo (VAHEDI et al., 2012).

Os métodos matemáticos não lineares vêm sendo utilizados para análise de séries temporais fisiológicas. Estes métodos envolvem ferramentas matemáticas da teoria do caos e da geometria fractal, os quais vêm sendo muito utilizados para o estudo de vários sinais elétricos em biologia e na

clínica. Entre esses métodos destacamos a análise de Hurst (NOGUEIRA et al., 1995), Detrended Flutuation Analysis (DFA) (PENG et al., 1994, 1995), análise da dimensão fractal do espaço de fase (NOGUEIRA et al., 1995), entropia e complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) (PESSOA et al, 2015). Particularmente, no estudo da atividade cardíaca métodos de dinâmica não linear também têm sido usados na análise da FC (CASTRO et al., 2014). Neste trabalho esses métodos foram usados na investigação da FC em animais normais e induzidos ao diabetes dos tipos 1 e 2.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Sistema Cardiovascular

O coração é um órgão formado pelo músculo estriado cardíaco, altamente especializado, chamado miocárdio que apresenta contração rítmica e involuntária (SINGH, 2015). O coração é órgão central da manutenção da homeostasia corporal, que apresenta automaticidade, ou seja, capacidade de disparar continuamente o potencial de ação cardíaco. O nó sinoatrial é o marca-passo fisiológico do coração, que gera continuamente e espontaneamente essa atividade elétrica, que se propaga através das aurículas até os ventrículos, levando o potencial de ação por todo o coração (QI et al., 2016). A automaticidade cardíaca sofre influência do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), com a finalidade de controlar o funcionamento cardiovascular, aumentando ou reduzindo a FC (VANDERLEI et al., 2009).

As células do sistema de condução do coração tem a capacidade de agir como células de marca-passo cardíaco e iniciar o potencial de ação de maneira espontânea, enquanto que as demais células do músculo cardíaco não tem essa capacidade, exceto sob condições anormais, como em algumas enfermidades (MOHRMAN & HELLER, 2007). As células de marca-passo apresentam potenciais de ação com a fase 0, caracterizada por uma baixa taxa de despolarização ($< 50 \text{ V/s}$), assim como pela ausência das fases 1 e 2. A principal característica das células marca-passo cardíaca é a capacidade de despolarização espontânea durante a fase 4, provocando um aumento lento no potencial de membrana até atingir um limiar de excitação, sendo este seguido pelo disparo do Potencial de Ação (PA) (Fig. 1) (MONFREDI et al., 2013). O aumento lento no potencial de membrana durante a fase 4 ocasiona a uma despolarização diastólica lenta (DDL), conhecida como potencial de marca-passo (VASCONCELOS, 2005). A DDL é caracterizada por apresentar: 1- diminuição progressiva da condutância da membrana ao K^+ ; 2- aumento do influxo de Na^{2+} através de canais que são ativados por hiperpolarização das células; 3- aumento do influxo de Ca^{2+} através de canais tipo-L e tipo-T; e 4- aumento da corrente de entrada por meio do trocador $\text{Na}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ (LIPSIUS et al., 2001).

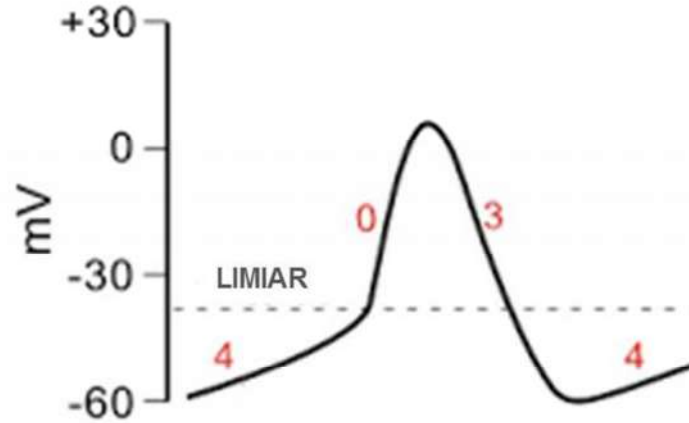


Figura 1. Potencial de ação da célula marca-passo cardíaca. Fase 0 é caracterizada por uma taxa de despolarização baixa, ausência das fases 1 e 2, fase 3 está representando a repolarização da célula e a fase 4ª representa a despolarização diastólica lenta. Fonte: <http://www.virtual.epm.br/material/tis/curr-bio/trab2000/cardiovasc/excitab.htm>.

As características elétricas básicas da membrana de uma célula comum do músculo cardíaco, também chamadas de potenciais de ação de resposta rápida, representam uma despolarização rápida e o potencial no interior da célula acaba invertendo sua polaridade deixando de ser negativa e se tornando positiva fase 0. Em seguida ocorre uma repolarização parcial da célula devido ao efluxo de K^+ e ao influxo de Cl^- fase 1. Na fase 2 conhecida como platô, ocorre influxo de Na^+ e Ca^{2+} , através dos canais lentos de Na^+ e Ca^{2+} , nessa fase também ocorre uma diminuição da condutância ao K^+ , fazendo com que a célula permaneça despolarizada. Na fase 3 a condutância ao K^+ retorna ao normal, e como o interior da célula está positivo em relação ao exterior, há uma rápida saída de K^+ transferindo a carga positiva para fora da célula, restabelecendo dessa forma o potencial intracelular negativo da célula. Na fase 4 a membrana se mantém impermeável ao Na^+ e ocorre uma lenta saída de K^+ da célula (MOHRMAN & HELLER, 2007; HOFFMAN & CRANFIELD, 1993; CONDE-GARCIA, 2015) (Fig. 2).

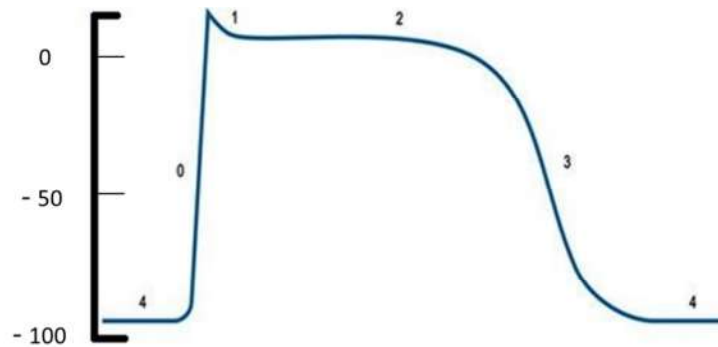


Figura 2. Potencial de ação da célula cardíaca. Fase 0 representa despolarização rápida da célula, fase 1 repolarização parcial da célula, fase 2 formação do platô onde a célula mantém-se despolarizada e seu potencial mantém-se constante, fase 3 repolarização celular e fase 4 a célula cardíaca retorna ao seu estado de repouso. Fonte: http://www.uff.br/fisio6/aulas/aula_07/topico_01.htm#4.

O SNA atua na regulação das funções viscerais (atividade cardíaca, respiração, termoregulação, secreção neuroendócrina, entre outras) e controle de funções vitais em resposta a estímulos internos e externos com o objetivo de manter a homeostase corporal (CALANDRA-BUONAURA et al., 2016). O SNA exerce sua atividade através da comunicação de várias áreas do Sistema Nervoso Central (SNC) com os órgãos alvos, utilizando dois sistemas, o Sistema Nervoso Simpático (SNS) e o Sistema Nervoso Parassimpático (SNP) (Fig. 3).

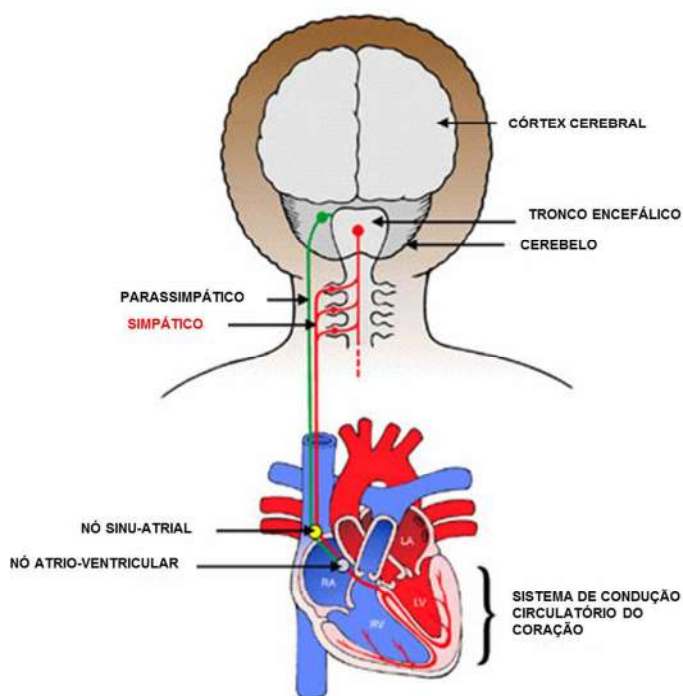


Figura 3. Inervação cardíaca. Ramos do SNA deixando o SNC em direção ao coração. Através do SNS e SNP, tendo estes a função de controlar a frequência cardíaca nos diferentes estados fisiológicos do indivíduo. Fonte: http://hubpages.com/health/-How-the-heart-feels-love_The-Reputation-of-the-heart#

A Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) é alterada por doenças cardiovasculares e do SN (THAYER et al., 2010). O SNA é um fator crucial nas respostas fisiológicas e patológicas do Sistema Cardiovascular (SC). O mau funcionamento deste sistema, devido a diversos fatores, como: fatores etários, stress, entre outros fatores podem contribuir para o surgimento de diversas enfermidades ligadas ao SC (MERZ et al., 2015). A VFC tem sido amplamente utilizada para detecção precoce de alterações patológicas no SNA (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY, 1996; BILLMAN, et al. 2015). O aumento ou diminuição das atividades do SNS ou do SNP estão associadas a um alto risco de morte súbita (ANARUMA et al., 2015).

O coração é um dos órgãos com menor capacidade regenerativa do nosso organismo (JOPLING et al., 2010). Danos ao tecido cardíaco, como infarte do miocárdio, isquemia, infecção viral, ou outros estados patológicos

podem causar perda significativa no número de células cardíacas, resultando na formação de tecido não contrátil nessas regiões, levando a uma insuficiência cardíaca e em casos mais avançados morte do indivíduo (BOUDOULAS & HATZOPOULOS, 2009).

2.2 Células do Músculo Cardíaco (Cardiomiócitos)

O Cardiomiócito (CM) é a unidade funcional que forma o miocárdio, tendo este aproximadamente de 100 a 150 μm de comprimento e cerca de 10 a 20 μm de largura e 10 μm de altura (GUATIMOSIM et al., 2002). Os CMs apresentam uma forma semelhante a uma haste anisotrópica, apresentando uma relação comprimento-largura que varia de 7:1 A 9,5:1 (GERDES et al., 1992). No tecido cardíaco os CMs se dispõem de tal forma que originam estruturas altamente alinhadas as miofibrilas (FERIC & RADISIC, 2016). O alinhamento dos CMs é de suma importância para o acoplamento eletromecânico e geração do impulso da força contrátil do coração (BLACK et al., 2009; CHUNG et al., 2007).

Todas as células musculares estriadas tem sua contração desencadeada por uma mudança rápida de voltagem de suas células, chamada de Potencial de Ação (PA), ocorrendo este na membrana celular. As células do músculo cardíaco diferem das demais células musculares estriadas de três maneiras distintas, que promovem a contração rítmica e sincrônica do coração, são elas: (1) as células do músculo estriado cardíaco são autogeradoras; (2) o estímulo pode ser conduzido diretamente de célula a célula; e (3) têm longas durações (MOHRMAN & HELLER, 2007).

A atividade do miocárdio depende das propriedades estruturais dos sarcômeros dos cardiomiócitos e da interação destes com dois sistemas de proteínas miofibrilares: a maquinaria contrátil (gerando contrações cardíacas e relaxamento) e o citoesqueleto (fornecendo a base estrutural necessária) (KOBAYASHI & SOLARO, 2005; VIGOREAUX, 1994; FRANK & FREY, 2011). O comprimento médio do sarcômero do CM adulto relaxado varia de 2,0-2,2 μm (RUBIN & STRAYER, 2012). Nos CMs os sarcômeros se encontram alinhados quase que perfeitamente por entre as miofibrilas, sendo esta ultra-estrutura bem evidenciada através da visualização das linhas Z que se

distribuem de forma alinhada e com largura uniforme (Fig. 4) (MAILLET et al., 2013; YANG et al., 2014). Sendo assim a sístole e diástole do ventrículo são coordenados através da regulação ativa e passiva de íons cálcio (Ca^{2+}) e dos miofilamentos (LINKE et al., 1994; LABEIT & KOLMERER, 1995; GRANZIER & IRVING, 1995).

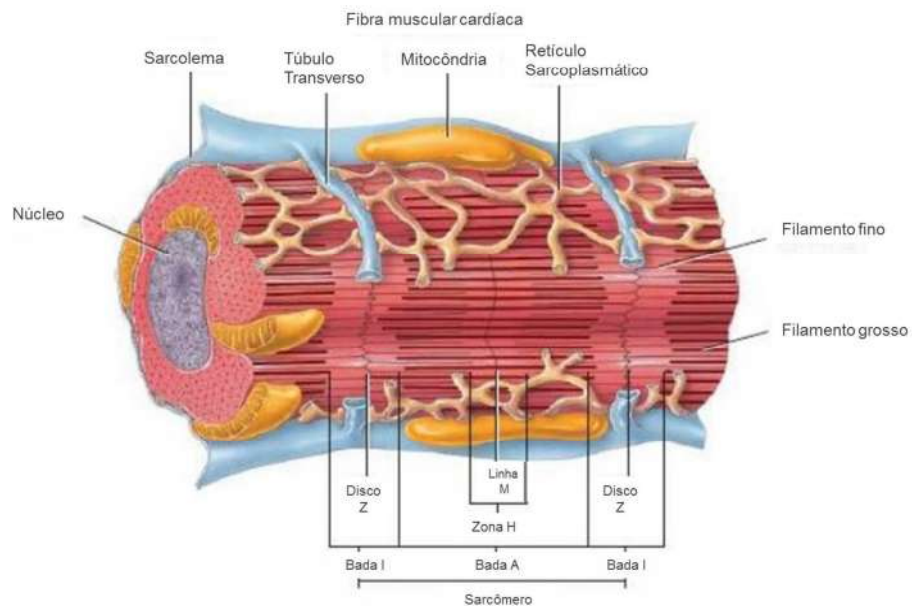


Figura 4. Estrutura de um cardiomiócito, evidenciando toda a ultra-estrutura miofibrilar. Enfoque para as linhas Z, que marcam a formação dos sarcômeros, evidenciando as zonas claras que correspondem as bandas I, e as zonas escuras centrais que corresponde as bandas A, no centro da banda A encontramos a linha M. Fonte: https://www.google.com.br/imgres?imgurl=https://anatomiahumisabelprimera.files.wordpress.com/2014/12/fibrasmuscularescardc3adacas2.jpg&imgrefurl=http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term%3Dmitoc%25C3%25B4ndrias%2Bmusculares%26lang%3D3&h=515&w=740&tbnid=dykIRnEKLnsMHM:&docid=2DD0hmZgZrDtM&ei=ONziVtPBLIK2wASu6p_ICA&tbn=isc&ved=0ahUKEwjTvcLm8bjLAhUCG5AKHS71B4kQMwhMKCcwJw.

O nível de (Ca^{2+}) sarcoplasmático é um dos principais mecanismos intracelulares de alterações no ritmo cardíaco. O controle deste nível Ca^{2+} é realizado, principalmente, pela atividade da bomba de sódio-potássio ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$), que controla o gradiente de sódio e, em consequência, a atividade do trocador sódio-cálcio, que é responsável pelo controle dos níveis de cálcio

citoplasmático e, em decorrência da atividade espontânea dos cardiomiócitos (NOBLE & VARGHESE, 1998).

O disparo do PA nas células marca-passo é gerada por uma série de relações de correntes, dentre elas se destaca os canais de Ca^{2+} do tipo L (CCTL) por onde passam as correntes de cálcio do tipo L (I_{CaL}), canais de Ca^{2+} do tipo T (TNC) por onde passam as correntes de Ca^{2+} do tipo T (I_{CaT}), o canal de K^+ , os canais de nucleotídeos ativados por uma hiperpolarização (I_f), trocador $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ (TNC) (I_{TNC}) e Na^+/K^+ ATPase (I_{NaK}) (MONFREDI et al., 2013; LAKATTA et al., 2010; YANG & MURRAY, 2011; KIM et al., 2015).

O TNC aumenta o limiar de ativação do CCTL, fazendo com que o limiar do potencial de membrana também aumente, levando a um influxo de Ca^{2+} . Este influxo de Ca^{2+} dispara o PA das células de marca-passo cardíacas, depois disso ocorre o efluxo de K^+ , ocorrendo a repolarização parcial da célula, em seguida a entrada de Ca^{2+} e concomitante entrada de Na^+ leva a formação o platô celular. Como o interior da célula está mais positivo continua havendo a saída de K^+ , transferindo a carga positiva para fora da célula, ocorrendo assim a repolarização celular (DOLESCHAL et al., 2015; CONDE-GARCIA, 2015).

O Nó sinoatrial é o maraca-passo cardíaco, iniciando o PA e conduzindo através do coração, até o nó atrio-ventricular (AV), que contém células de condução lenta que normalmente funcionam para criar um pequeno atraso entre a condução atrial e a contração ventricular. Após o PA passar pelo no AV, chega ao feixe de His recebe o estímulo e através de seus ramos direito e esquerdo chamados de fibras de Purkinge, que são especializadas na condução rápida do estímulo através das células ventriculares se contraindo aproximadamente no mesmo instante (MOHRMAN & HELLER, 2007).

2.3 Eletrocardiograma (ECG)

A contração cardíaca, se dá quando uma onda de corrente elétrica passa através de todo o coração. O desencadeamento da contração em uma corrente que flui para fora da superfície corporal, gerando uma diferença de potencial na superfície da pele. Essa diferença de potencial na superfície corpórea ao longo do tempo produz o Eletrocardiograma (ECG) (REISNER et al., 2006). A atividade elétrica cardíaca no decorrer do tempo é caracterizada

por diferentes ondas no traçado do ECG, são elas, P, Q, R, S e T (SINGH et al., 2013). O estudo do complexo QRS, das ondas T e P, permitem avaliar o estado de saúde dos pacientes (YOCHUM et al., 2016).

A onda P representa a despolarização atrial, as ondas QRS representam a despolarização ventricular e a onda T repolarização ventricular, onde cada uma destas ondas apresenta características importantes e próprias, são elas, tempo de ocorrência da onda, amplitude de cada onda, intervalos, formato da onda, com isso diversas patologias e alterações podem ser diagnosticadas a partir de suas características (KARIMIPOUR & HOMAEINEZHAD, 2014).

O complexo QRS é uma onda de curta duração de 80-120 ms, e uma alta amplitude, de 0,5-1,0 mV, o que o torna uma das mais importantes características do ECG (PAN & TOMPKINS, 1985). O intervalo PR tem uma duração de 120-200 ms, é o tempo necessário para que o potencial iônico se espalhe a partir do nódulo sinu-atrial, indo do átrio ao ventrículo. O intervalo QT que tem uma duração média de 300-420 ms, é o tempo de duração da passagem do potencial iônico pelos ventrículos. Após o complexo QRS tem-se o segmento ST que tem duração de 80-120 ms. A onda T é a representação do retorno ao estado de repouso iônico do ventrículo e tem duração média de 120-180 ms e amplitude de 0,1-0,5 mV. O segmento TP representa a duração de repouso dos ventrículos até o início do próximo ciclo de contração cardíaca. O intervalo entre os sucessivos picos R, é conhecido como intervalo R-R, e a repetição dos intervalos RR ao longo do tempo, determina a frequência cardíaca (SINGH, 2015).

A FC é o número de batimentos cardíacos por unidade de tempo, sendo esta taxa dada por batimentos por minuto (bpm) (TAN, et al. 2015). O estudo da FC permite a determinação dos componentes de baixa e alta frequência, ou seja, a avaliação do equilíbrio do SNS e SNP (RUSSEL et al., 2016) (Fig. 5).

Uma importante medida que pode ser obtida através do ECG é a FC, sendo esta mensurada pelo número de intervalos R por unidade de tempo do ECG. Esta FC é uma decorrência da ação do SNS e SNP, que modula a ritmicidade cardíaca, através do nódulo sinu-atrial (ALMEIDA & ARAÚJO, 2003; VAHEDI et al., 2012). Onde a ação SNS determina um aumento da FC, enquanto que um aumento na atividade do SNP está associado a uma diminuição da FC (THAYER et al., 2012).

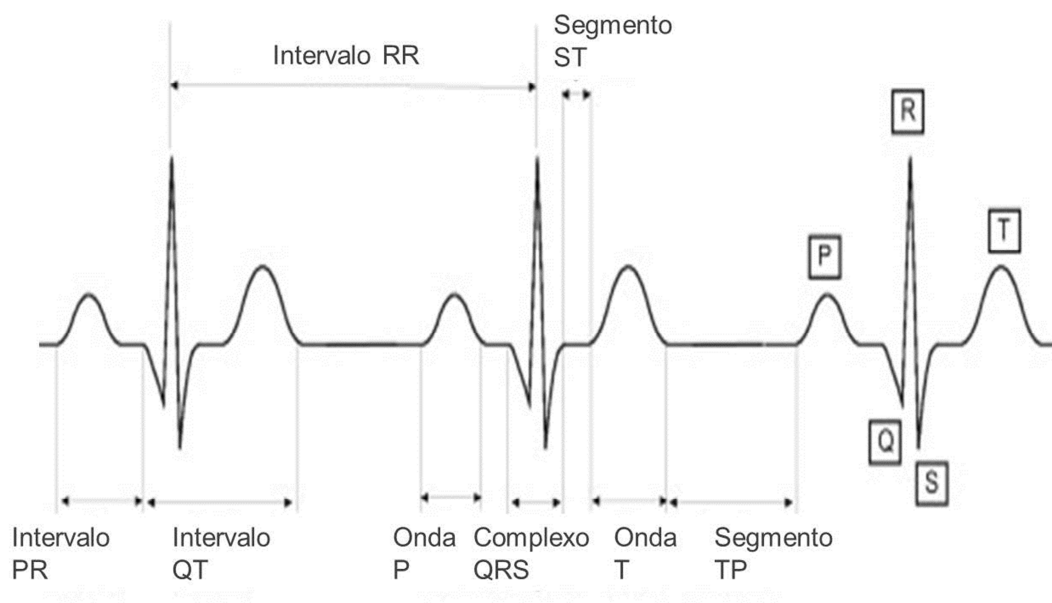


Figura 5. Traçado de um ECG típico, fazendo o acompanhamento de três batimentos cardíacos consecutivos, evidenciando as ondas P, complexo QRS e onda T. O intervalo R-R também é evidenciado, importante medida do ECG. Fonte: SINGH, 2015.

O Eletrocardiograma (ECG) é uma medida da atividade elétrica do coração, e é obtido através da colocação de eletrodos na superfície corporal (KAEGAARD et al., 2016). O ECG é uma ferramenta de suma importância para o estudo da eletrofisiologia cardíaca, tanto no campo da clínica médica, quanto na utilização experimental (PEREIRA-JUNIOR et al., 2010).

Os sinais do ECG são utilizados para o diagnóstico de várias enfermidades que acometem o coração, e também no diagnóstico de doenças que não acometem diretamente o coração, como, disfunção autonômica, alterações do sistema respiratório, vascular e disfunções psicológicas (YOCHUM et al., 2016).

O ECG de 12 derivações registra a atividade cardíaca a partir de 12 perspectivas diferentes do coração, fornecendo um quadro completo da atividade elétrica do coração. Essas 12 perspectivas são obtidas aplicando-se os eletrodos nos membros e no tórax. As seis derivações dos membros são: I, II, III, Vetor direito ampliado (aV_R), vetor esquerdo ampliado (aV_L) e vetor dos

pés ampliados (aV_F). As seis derivações precordiais ou V, são: V_1 , V_2 , V_3 , V_4 , V_5 e V_6 (Fig. 6) (CRUZ & COSENDEY, 2012).

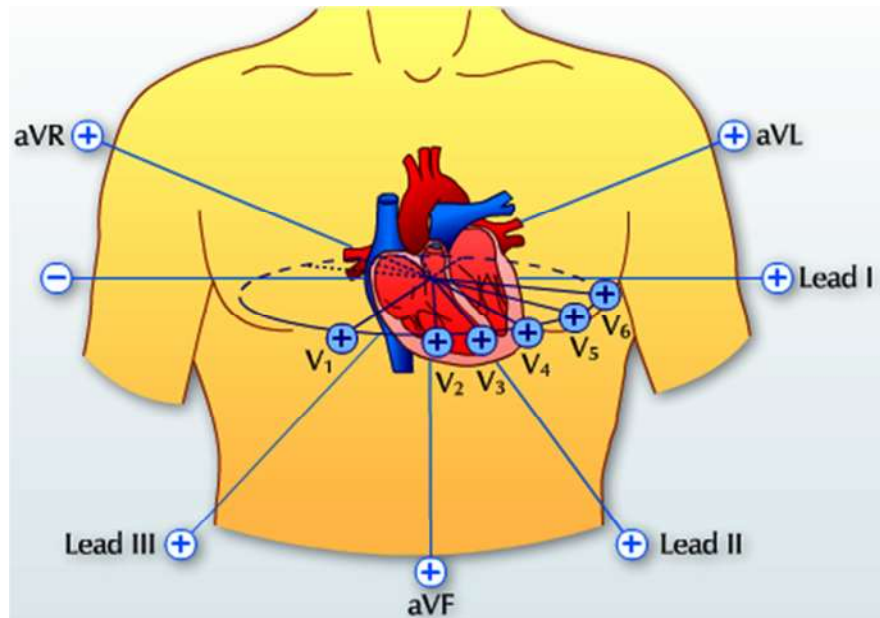


Figura 6. Eixos de orientação do coração para aquisição do ECG. Eixos de orientação em relação as derivações dos membros I, II, III, aV_R , aV_L , aV_F , e derivações pré-cordiais V_1 , V_2 , V_3 , V_4 , V_5 , V_6 . Fonte: http://webcardio.net.br/derivacoes_precordiais.php.

Os ratos constituem um modelo animal muito importante e útil para o estudo da eletrofisiologia cardíaca tanto na clínica quanto na experimentação. No qual as mesmas derivações obtidas no ser humano podem ser obtidas em animais na condição experimental (PEREIRA-JUNIOR et al., 2010). Onde em ratos a VFC demonstrou ser um método eficaz para detecção de alterações no controle da regulação autonômica cardíaca em alguns modelos animais de condições patológicas, como enfarte do miocárdio e a neuropatia diabética (KRUGER et al., 2000; SANYAL et al., 2002) (Fig. 7).

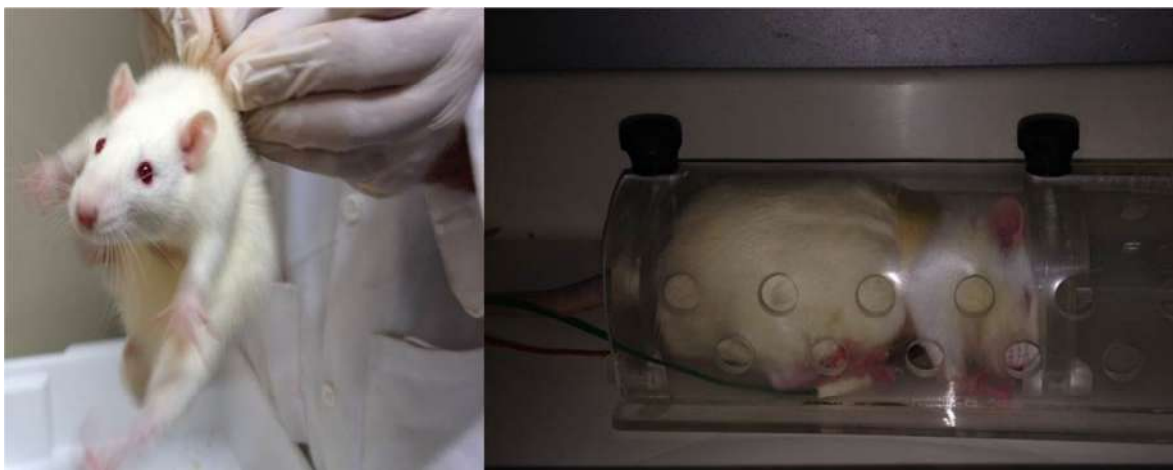


Figura 7. Animal vestindo a jaqueta para aquisição do ECG, na região anterior é possível visualizar os eletrodos ligados ao fio de comunicação com o microcomputador.

2.4 Diabetes e suas classificações

O DM é caracterizado por uma alteração do metabolismo dos carboidratos resultando num aumento dos níveis plasmáticos de glicose (PRABAKARAN & ASHOKKUMAR, 2013). O DM é uma doença sistêmica que surge quando a liberação de insulina a partir de células β -pancreáticas deixa de manter os níveis normais de glicose no sangue (D'ALEO, et al. 2011). Para controlar o nível de açúcar no sangue, as células β -pancreáticas sofrem alterações nas suas propriedades elétricas devido à estimulação pela glicose (FRIDLAND, et al. 2010). A hiperglicemia crônica está associada a dano, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos e pâncreas (UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP, 1998).

O crescimento populacional, mudanças no estilo de vida e o envelhecimento da população provocaram o aumento na incidência dessa doença que causa mortes no cenário mundial. Estima-se que 285 milhões de pessoas, correspondendo a 6,4% da população adulta do mundo é portador do diabetes (VISTISEN, et al. 2012). Estudos mostram que esse aumento rápido do número de portadores se deve a diversos fatores, entre eles: rápido desenvolvimento econômico, crescimento populacional, mudanças no estilo de vida associados ao desenvolvimento lento dos sistemas de saúde, e levará a

um aumento de cerca de 55% no número de adultos portadores de DM até 2035 (GUARIGATA, et al. 2014).

O DM está ligado a várias complicações, que vão desde problemas cardiovasculares, incluindo infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC), doenças microvasculares, retinopatias, nefropatias, entre outras patologias (FUNG, et al, 2015). A CD é uma grave complicação decorrente do DM, é também uma das principais causas do aumento da mortalidade em pacientes diabéticos (GIACCO & BROENLEE, 2010; BUGGER & ABEL, 2014).

Existem diversas classificações para o DM, as principais são o DM tipo 1 (Diabetes Mellitus Dependente de Insulina - DMDI) e o DM tipo 2 (Diabetes Mellitus Não Dependente de Insulina - DMNDI). O DM tipo 1 é resultado da destruição das ilhotas pancreáticas e ocorre em 5 a 10% dos casos. O DM tipo 2 é o mais comum e resulta de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. Ambos os tipos de diabetes mellitus apresentam complicações semelhantes, porém são diferentes em relação aos processos patogênicos, pois a do tipo 1 é decorrente da destruição de células beta, ou seja, não há produção de insulina, e a do tipo 2 que se caracteriza pela resistência à insulina, e secreção limitada deste hormônio, uma patologia que ocorre devido aos receptores de insulina não realizarem a sinalização adequada para captação de glicose pelas células (SALTIER, 2001).

O DM 1 está associado a um risco ainda maior de Doenças Cardíaca Coronariana (DCC) pelo menos umas dez vezes maior que pacientes não diabéticos (SOEDAMAH-MUTHU, et al. 2004). Atualmente, o diabetes tipo 2 é a maior causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo (PETERSEN & SHULMAN, 2006). Estima-se que aproximadamente 5% da população global têm diabetes, sendo 85% a 95% destes casos atribuídos ao diabetes tipo 2 (AVRAMOGLU, et al. 2006).

O diabetes tipo 2 também causa complicações crônicas como retinopatias, nefropatias e doenças do sistema circulatório. Além disso, o diabetes tipo 2 e a resistência à insulina encontram-se frequentemente associados com a hipertensão e dislipidemias, aumentando a incidência da

síndrome metabólica e o risco de desenvolver aterosclerose e doenças coronarianas (STOECKLI & KELLER, 2004; AVRAMOGLU, et al., 2006).

As doenças cardiovasculares e as DCC são as principais causas de morte em pacientes portadores de diabetes tipo 2 (MORRISH, et al. 2001; GAEDE, et al. 2003; LAING, et al. 2003). Estudos tem demonstrado que mudanças na estrutura vascular, como mudanças na complacência arterial, rigidez e disfunção endotelial também ocorrem no início do diabetes tipo 1 levando a uma acelerada aterosclerose (JARVISALO et al., 2004; SINGH et al., 2003).

2.5 Efeitos do Diabetes Mellitus sobre a dinâmica cardíaca

O DM aumenta de forma significativa o risco para o desenvolvimento de problemas cardíacos, com mais de 50% de chances de portadores de diabetes desenvolverem doença coronariana e/ou hipertensão (ALLOCK & SOWERS, 2010; SELVIN et al., 2010). Estudos recentes têm demonstrado que o desenvolvimento de problemas cardíacos decorrentes do DM pode se dá por diversas vias de sinalização intracelulares (ARROR et al., 2012; ZHANG & CHEN, 2012). Dentre estas vias de sinalização, a deficiência na liberação da insulina, hiperglicemia e resistência à insulina contribuem para o aumento do estresse oxidativo, levando ao desequilíbrio metabólico, resultando na cardiomiopatia diabética (AKSAKAL et al., 2011; MATOUGH et al., 2011; WATANABE et al., 2010).

O diabetes é uma das principais causas de morbi-mortalidade em indivíduos portadores. Podendo levar a uma progressiva deterioração da atividade cardíaca, sendo esta conhecida como cardiomiopatia diabética. Tendo esta como principais efeitos em sua fase inicial de desenvolvimento, disfunção diastólica e hipertrofia ventricular e em fases mais avançadas evoluindo para insuficiência cardíaca (MANDAVIA et al., 2013).

Uma das principais enfermidades que acometem os portadores de DM é a Neuropatia Autonômica Cardiovascular (NAC), sendo considerada uma complicação comum em portadores de DM, causa disfunção no controle da frequência cardíaca além de anormalidades no sistema vascular, também é considerada uma das mais importantes causas de mortalidade em portadores

de DM1 (LIBBY et al., 2005; VINIK & ERBAS, 2013). Contudo o diagnóstico da NAC só é detectado em estágios bem avançados da doença, ocasionando danos irreversíveis sobre atividade cardíaca dos portadores (ANARUMA et al., 2015). A NAC é detectada em aproximadamente 20% dos portadores de DM, sendo este percentual muito mais alto, entre 35-65% em pacientes idosos portadores de DM por um longo período (SPALLONE et al., 2011).

Distúrbios no funcionamento do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), são muito frequentes e acometem de forma severa o sistema cardiovascular de portadores de diabetes, resultando na NAC que causa danos a inervação simpática e parassimpática do sistema cardiovascular, ocasionando taquicardia, intolerância a atividades físicas e hipotensão ortostática (XUAN et al., 2015).

O DM com o passar do tempo leva a uma perda progressiva das células cardíacas, sendo estas substituídas por uma matriz fibrosa, levando a um funcionamento inadequado da atividade cardíaca (KATARE et al., 2010; KATARE et al., 2011; PAPPACHAN et al., 2013).

Em casos mais avançados do DM, pode ocorrer uma remodelação cardíaca e consequente insuficiência cardíaca. A remodelação cardíaca é um dos principais processos patológicos que afeta o coração, contribuindo para um aumento da rigidez do miocárdio, ocasionando insuficiência cardíaca, pela diminuição de sangue ejetado durante a sistóle (KONG et al., 2014).

2.6 Métodos não-lineares para análise do ECG

Diversos fenômenos naturais complexos são descritos como não-lineares (STAM, 2005). A análise destes fenômenos a partir de sistemas complexos se apresentando como uma nova possibilidade para a pesquisa científica na atualidade. A dinâmica dos sistemas complexos se dá por meio da interação de milhares de unidades, gerando ordem-desordem no sistema, desse modo alterações entre aleatoriedade e regularidade são características do sistema como um todo (NUSSENZVEIG, 2008). Sendo assim métodos não lineares vêm sendo amplamente utilizados para análise de séries complexas.

Os métodos matemáticos não lineares vêm sendo utilizados para análise de séries temporais fisiológicas. Tais métodos envolvem a teoria do caos e fractais e têm sido eficientes para o entendimento do cérebro. Entre estes

métodos é possível citar: análise de Hurst (NOGUEIRA et al., 1995), Detrended Flutation Analysis – DFA (Análise de Flutuações Destendenciadas) (PENG et al., 1994), análise da dimensão fractal do espaço de fase (NOGUEIRA et al., 1995), entropia e complexidade de Lempel-Ziv (ABÁSOLO et al., 2007).

2.6.1 Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ)

A CLZ é um método que torna possível a quantificação de diferentes padrões dentro de uma série temporal (LEMPEL & ZIV, 1976). O registro do ECG apresenta características de complexidade $C(n)$ e não-linearidade, o que torna possível a utilização o cálculo da CLZ para análise da série temporal do ECG.

Antes de calcular a CLZ é necessário transformar a série temporal em uma sequência binária P . Usa-se a média da série temporal como limite, em seguida cada ponto da série temporal é comparada com a média, se o valor do ponto for maior que o da média este passa a ser representado por 1 (um), e os pontos que apresentam valor inferior ao da média passarão a ser representados por 0 (zero). Desta forma, cada ponto passa a receber a designação de 0 (zero) ou 1 (um) gerando uma sequência binária composta apenas de 0's (zeros) e 1's (uns) (RADHAKRISHNAN & GANGADHA, 1998; ABOY et al., 2006).

$$P = s_{(1)}, s_{(2)}, \dots, s_{(n)}$$

Onde:

$$s_{(1)} = \begin{cases} 0, & \text{se } s(t) < \text{méd.} \\ 1, & \text{se } s(t) > \text{méd.} \end{cases}$$

O algoritmo de Lempel-Ziv vai dividir a sequência original (P) em sub-grupos de tamanhos menores.

1. A partir da sequência original P , se subdivide a mesma em S e Q , subsequências da sequência original, isto é feito com o objetivo de

se verificar se a subsequência Q pode ser reconstruída a partir de cópias da subsequência S.

2. Determina-se uma subsequência S reconstruídas a partir de P, que será fixa até que os termos da sequência Q não possam mais ser simplesmente copiados a partir de S, nesse momento insere-se um novo termo em S. Onde cada nova subsequência S é limitada por um termo inserido: $S = s_1, s_2, \dots, s_r$. Onse s_r é o termo inserido e $Q = s_{r+1}, s_{r+2}, \dots, s_n$.
3. Após a inserção de um termo, o próximo passo é definir $Q = s_{r+1}$ e verificar se o termo em questão pode ser copiado do vocabulário $(SQ \pi)$. Esse vocabulário é formado pela concatenação de S e Q e o π indica que o último termo deve ser removido. Caso o termo $Q = s_{r+1}$ pertença ao $v(SQ \pi)$, o próximo termo a ser testado será $Q = s_{r1}, s_{r2}$ assim sucessivamente até que Q não possa mais ser construído a partir de uma cópia de S. Não sendo mais pertencente ao $v(SQ \pi)$, nesse momento se insere um novo termo em S e Q voltará a ser $Q = s_{r1}$, agora partindo do novo termo inserido (PESSOA, 2015).

Quanto maior for o número de termos de Q que possam ser copiados de S, maior será a autossimilaridade da série e menor será a complexidade. E quanto maior for o número de termos inseridos maior será a complexidade da série, isso significa que a CLZ terá valores mais próximo de 1 (um) e mais aleatório será o comportamento da série.

Segundo Aboy et al., 2006, a equação para calcular a CLZ é definida pela seguinte equação:

$$CLZ = \lim_{n \rightarrow +\infty} \frac{c(n)}{c(n)'}$$

onde,

$$c(n)' = \frac{n}{\log_2 n}$$

onde (n) é o número de dígitos inseridos, c é o tamanho do sinal e 2 o número de símbolos diferentes na sequência binária (SILVA, 2009).

A CLZ vai fornecer um valor entre 0 (zero) e 1 (um), onde quanto mais próximo de 1 (um) for o resultado maior será o valor da CLZ e mais aleatório será o comportamento do sinal, quanto mais próximo de 0 (zero) for o resultado menor será a CLZ, indicando que a série apresenta uma menor aleatoriedade.

2.6.2 Análise de Flutuações Destendenciadas (DFA)

A metodologia da Análise de Flutuação Destendenciada (DFA) é uma técnica muito utilizada em séries temporais que não apresentam estacionariedade com o objetivo de quantificar a correlação de longo alcance da série temporal. Este método baseia-se na análise de flutuações dos dados após a retirada da tendência da série temporal integrada. Os primeiros estudos utilizando o DFA foram utilizados para análises de sequências gênicas de DNA, e atualmente vem sendo aplicadas em diversas áreas (PENG et al., 1994).

Nas áreas de saúde e biociências o DFA tem sido utilizado nas mais diversas situações, na sequência de DNA, comportamento dos neurônios no tecido nervoso e no estudo da VFC (ECHEVERRÍA et al., 2003). Entre as vantagens do DFA sobre os métodos convencionais estão que esta permite a detecção de autossimilaridade intrínseca numa série não estacionária e também evita uma falsa detecção de autossimilaridade aparente, a qual pode ser um artefato de tendência extrínseca.

O procedimento para obtenção da série temporal integrada se dá, da seguinte maneira: sendo $y(i)$ com $i = 1, 2, 3, \dots, N$, a série temporal original, então a série integrada é obtida a partir da seguinte equação:

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (y(i) - M)$$

onde M é a média dos valores de $y(i)$ com $i = 1, 2, 3, \dots, N$ e K é um número inteiro.

A integração acima transforma a série original em um processo autossimilar, em seguida a série $y(k)$ é dividida em janelas de comprimento igual a n . Para cada intervalo são feitos ajustes usando-se funções polinomiais que são classificadas como: linear (DFA-1), quadrática (DFA-2), cúbica (DFA-3) e de ordem m (DFA- m), que representa a tendência de cada intervalo. A ordenada do segmento linear (DFA-1), representa a tendência no intervalo de tamanho n , e é $y_n(k)$. Essa tendência é retirada da série subtraindo-se o ajuste do valor linear $y_n(k)$ do valor correspondente da série integrada $y(k)$. Para determinação do tamanho das flutuações para cada intervalo n usa-se a seguinte equação:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2}$$

Esse passo é repetido para os vários tamanhos de janelas n , para se determinar a relação entre as flutuações $F(n)$ e tamanho do intervalo n . Para procesos autossimilares $F(n)$ aumenta com n por uma lei de potência, onde: $F(n) \sim n^\alpha$ (Fig. 8).

Sendo o coeficiente α determinado pela inclinação da reta $\log F(n)$ X $\log(n)$, dado por:

$$\alpha = \frac{\Delta \log F(n)}{\Delta \log(n)}$$

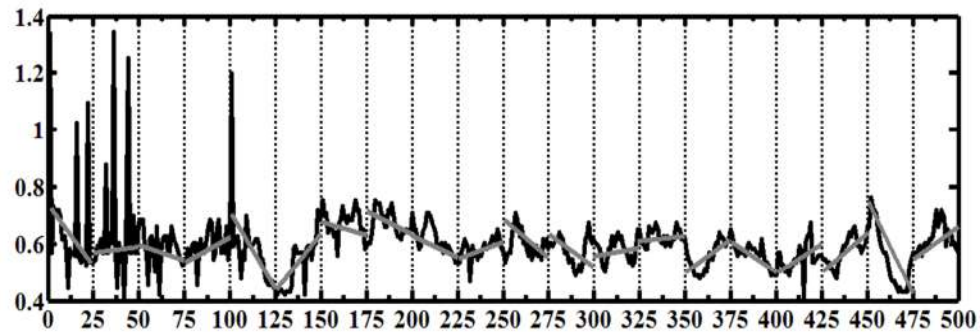


Figura 8. Retirada da tendência da série temporal integrada, que é obtida subtraindo-se o valor do ajuste linear $y_n(k)$ do valor correspondente da série integrada $y(k)$. Fonte: CASTRO, 2013.

Segundo Acharya et al., (2006) o coeficiente α pode ser classificado da seguinte forma: para ruído branco (séries não correlacionadas) a série representa um ruído aleatório e o método DFA apresentará $\alpha = 0,5$, e, portanto, a série original não apresenta auto-correlação. Um parâmetro de autossimilaridade no intervalo $0,5 < \alpha \leq 1$, indica que a série original apresenta auto-correlações de longo alcance persistentes significando que os valores grandes têm maior probabilidade de serem seguidos por valores grandes e os valores pequenos uma maior probabilidade de serem seguidos por valores pequenos. Para um valor de parâmetro $\alpha = 1$ a série representa um ruído do tipo $1/f$. Para parâmetro de autossimilaridade no intervalo $0 < \alpha < 0,5$, as auto-correlações são anti-persistentes, significando que os valores grandes têm maior probabilidade de serem seguidos por valores pequenos, e valores pequenos de serem seguidos por valores grandes. O parâmetro α pode ser interpretado como o parâmetro que indica a suavidade da série original. Quanto maior o valor de α , maior foi a suavidade da série.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer parâmetros a partir do registro do ECG que permita avaliar os efeitos do diabetes na atividade elétrica do coração utilizando métodos matemáticos não-lineares.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar protocolo para indução do DM 1 e DM 2 utilizando a Streptozotocina (STZ);
- Caracterizar os modelos animais de DM 1 e DM 2 através das seguintes avaliações: Teste de tolerância Intraperitoneal à glicose (IGTT); Determinação da glicose plasmática; e o Teste de Hemoglobina-Glicosilada (HbA1c);
- Analisar através de métodos matemáticos não lineares, a CLZ e o DFA, os sinais elétricos do eletrocardiograma (ECG) de ratos saudáveis ou portadores de diabetes tipo 1 ou 2.

4. METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS E CONDIÇÕES DE INSTALAÇÕES

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*), com 90 dias de idade e peso variando de 300-320g, provenientes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas em ambiente com temperatura ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade (60%) controladas e regime de iluminação cíclica (12 h claro/escuro). Os animais receberam dieta padrão (Purina Labina) e água *ad libitum*. Todos os experimentos utilizando animais foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) licença nº 050/2014.

4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 04 grupos, cada grupo contendo 06 animais: G1 - Grupo Induzido ao DM tipo 1; G2 - Grupo induzido ao DM tipo 1 tratado com insulina; G3 – Grupo induzido ao DM tipo 2; e G4 - Grupo controle, estes animais foram submetidos a mesma condição experimental dos grupos tratados com a exceção da aplicação da droga indutora do diabetes e da insulina.

4.3 PROTOCOLO PARA INDUÇÃO DO DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2

O DM 1 foi induzido com uma dose única de 55 mg/kg de STZ (Sigma Chemical - USA), diluída em tampão citrato (pH=4,5) por via intraperitoneal após jejum alimentar de 08-10 horas (FERHATOVIC et al., 2013). O DM 2 foi induzido com uma dose de 60 mg/kg de STZ e passados 15 minutos administrada uma dose de 120 mg/kg de Nicotinamida (Sigma Chemical - USA) diluída em tampão citrato por via intraperitoneal (NAYAK et al., 2014). Onde a

Stz vai atuar na destruição da ilhotas pancreáticas dos animais, levando a um quadro de hiperlicemia crônica, enquanto que a Nicotinamida atua na proteção das células β -pancreáticas, amenizando dessa forma os efeitos causados pela STZ, levando o animal a um estado semelhante ao encontrado em portadores de DM 2. Os animais não diabéticos receberam da mesma forma doses equivalentes do tampão citrato sem a STZ. Após 30 minutos do tratamento, todos os animais foram alimentados normalmente. Foram incluídos no estudo apenas os animais que apresentarem glicose sanguínea acima de 200 mg/dL verificada usando um Glicosímetro (Kit Accu-ChekActiv) para os animais induzidos ao DM 1 e glicose sanguínea maior que 140 mg/dL para os animais induzidos ao DM 2. A glicose sanguínea foi dosada em uma gota de sangue retirada através de uma punção da ponta da cauda do animal.

4.4 PROCEDIMENTOS REALIZADOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS MODELOS ANIMAIS DE DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2

Para a caracterização do modelo animal de diabetes tipo 1 e 2 foram realizados os seguintes testes: Teste de tolerância Intraperitoneal à glicose (IGTT); Determinação da glicose plasmática; e o Teste de Hemoglobina-Glicada. Todos os testes e análises descritos anteriormente foram realizados após a 3ª semana de indução do diabetes.

4.4.1 TESTE DE TOLERÂNCIA INTRAPERITONEAL À GLICOSE (IGTT)

O Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT) é um método de referência para o diagnóstico do diabetes ou da intolerância à glicose, no caso da glicemia duas horas após administração de glicose não retornar próxima da concentração basal de glicose ou apresentar-se maior do que 200 mg/dL para humanos (GROSS et al., 2002).

O teste de tolerância intraperitoneal à glicose foi realizado mediante a injeção intra-peritoneal (i.p.) de uma solução de glicose (2g/kg de massa corporal). A glicemia foi determinada nos tempos zero (antes da ip), 30, 60, 90

e 120 minutos após a injeção, utilizando-se glicosímetro e fitas para glicemia da marca Accu Check Performa® (Fig. 9).



Figura 9. Aparelho Accu Check Performa utilizado para realização do Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT).

4.4.2 DETERMINAÇÃO DA GLICOSE PLASMÁTICA

O sangue foi coletado através da veia caudal lateral, após jejum de 08-10 horas, e colocados em tubos à vacuo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), em seguida foi centrifugado por 15 minutos à 2.500 rpm, e obtido o plasma. A concentração de glicose plasmática foi mensurada pelo método colorimétrico enzimático de ponto final, utilizando o (kit de Glicose Labtest® Diagnóstica SA, Minas Gerais, BR), de acordo com as instruções do fabricante. A leitura de absorbância foi realizada em um espectofotômetro com uma absorbância de 505 nm. Os resultados foram expressos em mg/dL. Sendo este parâmetro realizado antes e após a indução do DM tipo 1 e tipo 2 (Fig. 10).



Figura 10. Aparelho de Espectofotometria utilizado para determinação da glicose plasmática, com um comprimento de onda de 505 nm.

4.4.3 TESTE HEMOGLOBINA GLICACA (HbA1c)

O teste da Hemoglobina Glicada (HbA1c) utilizando o (kit de Hemoglobina Glicada Labtest® Diagnóstica SA, Minas Gerais, BR) é um dos principais parâmetros laboratoriais utilizados para diagnóstico de disfunção nos níveis de glicose sanguínea, sendo este estabelecido como critério para o diagnóstico do DM.

Para realização do HbA1c, os animais foram submetidos a um período de jejum de 08-10 horas, em seguida foi colhida uma amostra de 1 ml, da veia caudal lateral. O sangue coletado foi colocado em um tubo à vácuo contendo EDTA e centrifugados à 2.000 rpm por 05 minutos, e retirado o plasma sem haver ressuspensão das hemácias. Para determinação do HbA1c foi utilizada a reação colorimétrica. Para tal utilizou-se dois tubos, o primeiro tubo será o teste padrão para calibração do equipamento e o segundo tubo contém a amostra a ser mensurada. No primeiro tubo coloca-se o reagente e água deionizada e no segundo tubo o reagente e o plasma. Logo em seguida determina-se as absorvâncias, com o comprimento de onda em 415 nm.

Após isso fez-se o cálculo da linearidade utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Hemoglobina Glicada (\%)} = \frac{A1}{5 \times A2} \times 100 \quad \text{ou} \quad \frac{A1}{A2} \times 20$$

A1 = Absorbância do tubo número 1 (Hb-G)

A2 = Absorbância do tubo número 2 (Hb-Total)

4.5 COLETA E ANÁLISE DO ELETROCARDIOGRAMA (ECG)

Uma semana antes do ECG os animais foram acondicionados por 20 minutos dentro de um compartimento cilíndrico de Policloreto de Vinila (PVC) da fabricante (Insight equipamentos, pesquisa e ensino, Ribeirão Preto, SP-Brasil), para que se acostumem ao ambiente, pois os mesmos permaneceram neste local durante a coleta do ECG. Um dia antes da coleta do ECG a região torácica do animal foi cuidadosamente tricotomizada. Para aquisição do ECG foi utilizado um método de coleta do ECG não invasivo, que se baseia na confecção de uma pequena jaqueta de algodão elástico contendo duas peças de eletrodo de platina retangular (cada uma medindo 7,0 × 3,0 mm) presas na superfície interna do revestimento. Cada um dos eletrodos estavam ligados ao aparelho EMG 410C (EMG System, Brasil) e este conectado a um computador. Os eletrodos foram colocados de tal modo, a manter o contato direto dos mesmos com a superfície corpórea do animal permitindo dessa forma que os sinais do ECG pudessem ser captados.

Devido a conexão dos eletrodos sobre a jaqueta e seu posicionamento na superfície corpórea do animal sobre a região torácica, foi possível captar o ECG a partir da variação (V2), onde os picos R foram bem evidentes. Sobre cada eletrodo foi aplicado um gel condutor para auxiliar na amplificação do sinal a ser captado. Em seguida foi colocada a jaqueta no animal e o mesmo foi acondicionado no contensor de PVC, por um período de 30 minutos, dos quais os primeiros 10 minutos não se foi feito registro para que o stress causado pela manipulação do animal não interferisse no sinal do ECG. Os registros foram realizados em diferentes dias com intervalos de 48 horas.

Os registros do ECG foram captados e enviados para o computador, onde este sinal foi salvo em um arquivo de extensão csv. Os arquivos salvos em csv. foram processados no software MATLAB 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA), nesta plataforma foi utilizado inicialmente um algoritmo para filtragem do sinal, removendo possíveis artefatos ocasionados pela movimentação do animal na gaiola de contenção, em seguida foi utilizado outro algoritmo para detecção dos picos R do sinal do ECG. Após a criação da série de intervalos R-R, foram utilizados os algoritmos para calcular o DFA e CLZ.

4.6 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Após o término dos protocolos experimentais, os animais foram submetidos a sedação anestésica profunda (xilazina 15 mg/Kg + cetamina 150 mg/Kg, IP). Em seguida foi realizada exsanguinação por punção cardíaca, com coleta do sangue total em tubos para as análises bioquímicas.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição dos dados obtidos. Os dados com distribuição não gaussiana foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e post-hoc de Dunn.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABÁSOLO, D.; JAMES, C. J.; HORNERO, R. Non-linear analysis of intracranial electroencephalogram recordings with approximate entropy and Lempel-Ziv complexity for epileptic seizure detection. Conference Proceedings IEEE **Engineering in Medicine & Biology Society**. p.1953-1956, 2007.

ABOY, M.; HORNERO, R.; ABÁSOLO, D.; ÁLVAREZ, D. Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity measure in the context of biomedical signal analysis. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**. v. 53, p. 2282-2288, 2006.

ACHARYA, U. R.; JOSEPH, K. P.; KANNATHAL, N.; LIM, C. M.; SURI, J. S. Heart rate variability: a review. **Medical & Biological Engineering & Computing**. v. 44, p. 1031-1051, 2006.

AKSAKAL, E.; AKARAS, N.; KURT, M.; TANBOGA, I. H.; ODABASOGLU, F.; BAKIRCI, E. M.; UNAL, B. The role of oxidative stress in diabetic cardiomyopathy: an experimental study. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. v. 15, p. 1241-1246, 2011.

ALLOCK, D. M.; SOWERS, J. R.; Best strategies for hypertension management in type 2 diabetes and obesity. **Current Diabetes Reports**. v. 10, p. 139-144, 2010.

ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, C. G. S. Efeitos do treinamento aeróbico sobre a frequência cardíaca. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 9, p. 104-112, 2003.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes-2015. **Diabetes Care**. v. 38, p. S1-S2, 2015.

ANARUMA, C. P.; JUNIOR, M. F.; SPONTON, C. H. G.; DELBIN, M. A.; ZANESCO, A. Heart rate variability and plasma biomarkers in patients with type 1 diabetes mellitus: effect of a bout of aerobic exercise. **Diabetes Research and Clinical Practice**. doi.org/10.1016/j.diabres.2015.10.025.

AROOR, A. R.; MANDAVIA, C. H.; SOWERS, J. R. Insulin resistance and heart failure: molecular mechanisms. **Heart Fail Clinics**. v. 8, p. 609-617, 2012.

AVRAMOGLU, K.R.; BASCIANO, H.; ADELI, K. Lipid and a lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. **Clinica Chimica Acta**. v. 368, p.1-19, 2006.

BILLMAN, G. E.; HUIKURI, H. V.; SACHA, J.; TRIMEL, K. An introduction to heart variability: methodological considerations and clinical applications. **Frontiers in Physiology**. v. 6, p. 1-3, 2015.

BLACK, L. D.; MEYERS, J. D.; WEINBAUM, J. S.; SHVELIDZE, Y. A.; TRANQUILLO, R. T. Cell-induced alignment augments twitch force in fibrin gel-based engineered myocardium via gap junction modification. **Tissue Engineering Part A**. v. 15, p. 3099-3108, 2009.

BOUDOULAS, K. D.; HATZOPOULOS, A. K. Cardiac repair and regeneration: the Rubik's cube of cell therapy for heart disease. **Disease Models & Mechanisms**. v. 2, p. 344-358, 2009.

BUGGER, H.; ABEL, E. D. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. **Diabetologia**. v. 57, p. 660-671, 2014.

CALANDRA-BUONAURA, G.; PROVINI, F.; GUARALDI, P.; PLAZZI, G.; CORTELLI, P. Cardiovascular autonomic dysfunctions and sleep disorders. **Sleep Medicine Reviews**. v. 26, p. 43-56, 2016.

CASTRO, C. R. O. B. **Análise de flutuações sem tendência aplicada na avaliação da frequência cardíaca em cães da raça Rottweiler**. Recife, 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal – PPGBA, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013.

CASTRO, C. R. O. B.; MORAES, R. B.; SILVA, J. R. F.; FERRI, R. C.; ALVES, A. D.; SILVA, M. S. I.; ALBERTINI, A. V. P.; COLIN, L. A.; NOGUEIRA, R. A. Detrended fluctuation analysis applied to Ecg in dogs subjected to physical effort. **Experimental and Clinical Cardiology**. v. 20, p. 5068-5073, 2014.

CHUNG, C. Y.; BIEN, H.; ENTCHEVA, E. The role of cardiac tissue alignment in modulating electrical function. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**. v. 18, p. 1323-1329, 2007.

- CONDE-GARCIA, E. A. **Biofísica**. 2° ed. São Paulo, Ed. Sarvier, 2015.
- CRUZ, I. C. F.; COSENDEY, C. H. **Interpretação do ECG: série incrivelmente fácil**. 5° ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan LTDA, 2012.
- D'ALEO, A.; MANCARELLA, R.; GUERRA, S. D.; BOGGI, U.; FILIPPONI, F.; MARCHETTI, P.; LUPI, R. Direct effects of rapid-acting insulin analogues on insulin signaling in human pancreatic islets in vitro. **Diabetes & Metabolism**. v. 37, p.324– 329, 2011.
- DOLESCHAL, B.; PRIMESSNIG, U.; WOLKART, G.; WOLF, S.; ACHERNTHANER, M.; LICHTENEGGER, M.; GLASNOV, T. N.; KAPPE, C. O.; MAYER, B.; ANTOONS, G.; HEINZEL, F.; POTESER, M.; GROSCHNER, K. TRPC3 contributes to regulation of cardiac contractility and arrhythmogenesis by dynamic interaction with NCX1. **Cardiovascular Research**. v. 106, p. 163-173, 2015.
- ECHEVERRÍA, J. C.; WOOLFAON, M. S.; CROWE, J. A.; GILL, B. R. H.; CROAKER, G. D. H.; VYAS, H. Interpretation of heart rate variability via detrended fluctuation analysis and $\alpha\beta$ filter. **Chaos**. v. 13, p. 467-475, 2003.
- FERHATOVIC, L.; BANOZIC, A.; KOSTIC, S.; KURIR, T. T.; NOVAK, A.; VRDOLJAK, L.; HEFFER, M.; SAPUNAR, D.; PULJAK, L. Expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and pain-related behavior in rat models of type 1 and type 2 diabetes. **Anesthesia & Analgesia Journal**. v. 116, p. 712-721, 2013.
- FRANK, D.; FREY, N. Cardiac Z-disc signaling network. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 286, p. 9897-9904, 2011.
- FRIDLYAND, L. E.; TAMARINA, N.; PHILIPSON, L. H. Bursting and calcium oscillations in pancreatic β -cells: specific pacemakers for specific mechanisms. **Endocrinology and Metabolism**. v. 299, p. 517-532, 2010.
- FUNG, C. S. C.; WAN, E. Y. F.; WONG, C. K. H.; JIAO, F.; CHAN, A. K. C. Effect of metformin monotherapy on cardiovascular diseases and mortality: a

retrospective cohort study on Chinese type 2 diabetes mellitus patients. **Cardiovascular Diabetology**. v. 14, p. 1-14, 2015.

GAEDE, P.; VEDEL, P.; LARSEN, N.; JENSEN, G.V.H.; PARVING, H.H.; PEDERSEN, O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with Type 2 diabetes. **The New England Journal of Medicine**. v. 348, p. 383-393, 2003.

GERDES, A. M.; KELLERMAN, S. E.; MOORE, J. A.; MUFFY, K. E.; CLARK, L. C.; REAVES, P. Y.; MALEC, K. B.; MCKEOWN, P. P.; SCHOCKEN, D. D. Structural remodeling of cardiac myocytes in patients with ischemic cardiomyopathy. **Circulation**. v. 86, p. 426-430, 1992.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**. v. 107, p. 1058-1070, 2010.

GRANZIER, H. L.; IRVING, T. C. Passive tension in cardiac muscle: contribution of collagen, titin, Microtubules, and intermediate filaments. **Biophysical Journal**. v. 68, p. 1027-1044, 1995.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHELT, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes Melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolismo**. v. 46, p. 16- 26, 2002.

GUARIGUATA, L.; WHITING, D. R.; HSMBLRTON, I.; BEAGLEY, J.; LINNENKAMP, U.; SHAW, J. E. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 103, p. 137-149, 2014.

GUATIMOSIM, S.; DILLY, K.; SANTANA, L. F.; JAFRI, M. S.; SOBIE, E. A.; LEDERER, W. J. Local Ca^{2+} signaling and EC coupling in heart: Ca^{2+} sparks and the regulation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transient. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v. 34, p. 941-950, 2002.

HOFFMAN, B. F.; CRANFIELD, P. F. **Physiology**. Ed. BERNE, R. M. & LEVY, M. N. 3ª edição, 1993.

HUYNH, K.; BERNARDO, B. C.; MCMULLEN, J. R.; RITCHIE, R. H. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 142, p. 375-415, 2014.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. The 6th Edition of the IDF Diabetes Atlas. Brussels. **International Diabetes Federation**. 2014.

JARVISALO, M.J.; RAITAKARI, M.; TOIKKA, J.O.; PUTTO-LAURILA, A.; RONTU, R.; LAINE, S.; LEHTIMAKI, T.; RONNEMAA, T.; VIIKARI, J.; RAITAKARI, O.T. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. **Circulation**. v.109, p.1750–1755, 2004.

JOPLING, C.; SLEEP, E.; RAYA, M.; MARTÍ, M.; RAYA, A.; BEMONTE, J. C. I. Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. **Nature**. v. 464, p. 606-609, 2010.

KAEGAARD, K.; JENSEN, S. H.; PUTHUSSERYPADY, S. A comprehensive performance analysis of EEMD-BLMS and DWT-NN hybrid algorithms for ECG denoising. **Biomedical Signal Processing and Control**. v. 25, p. 178-187, 2016.

KARIMIPOUR, A.; HOMAEINEZHAD, M. R. Real-time electrocardiogram P-QRS-T detection-delineation algorithm based on quality-supported analysis of characteristic templates. **Computers in Biology and Medicine**. v. 52, p. 153-165, 2014.

KATARE, R. G.; CAPORALI, A.; OIKAWA, A.; MELONI, M.; EMANUELI, C.; MADEDDU, P. Vitamin B1 analog benfotiamine prevents diabetes-induced

diastolic dysfunction and heart failure through Akt/Pim-1-mediated survival pathway. **Circulation: Heart Failure**. v. 3, p. 294-305, 2010.

KATARE, R. G.; CAPORALI, A.; ZENTILIN, L.; AVOLIO, E.; SALA-NEWBY, G.; OIKAWA, A.; CESSSELLI, D.; BELTRAMI, A. P.; GIACCA, M.; EMANUELI, C.; MADEDDU, P. Intravenous gene therapy with PIM-1 via a cardiotropic vector halts the progression of diabetic cardiomyopathy through promotion of prosurvival signaling. **Circulation Research**. v. 108, p. 1238-1251, 2011.

KIM, J. J.; YANG, L.; LIN, B.; ZHU, X.; SUN, B.; KAPLAN, A. D.; BETT, G. C. L.; RASMUSSEN, R. L.; LONDON, B.; SALAMA, G. Mechanism of automaticity in cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v. 81, p. 81-93, 2015.

KOBAYASHI, T.; SOLARO, R. J. Calcium, thin filaments, and the integrative biology of cardiac contractility. **Annual Review of Physiology**. v. 67, p. 39-67, 2005.

KONG, P.; CHRISTIA, P. FRANGOIANNIS, N. G. The pathogenesis of cardiac fibrosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 71, p. 549- 574, 2014.

KRUGER, C.; LANDERER, V.; ZUGCK, C.; EHMKE, H.; KUBLER, W.; HAASS, M. The bradycardic agent zatebradine exchanges baroreflex sensitivity and heart rate variability in rats early after myocardial infarction. **Cardiovascular Research**. v. 45, p. 900-912, 2000.

LABEIT, S.; KOLMERER, B. Titins: giant proteins in charge muscle ultrastructure and elasticity. **Science**. v. 270, p. 293-296, 1995.

LAING, S.P.; SWERDLOW, A.J.; SLATER, S.D.; et al. Mortality from heart disease in a cohort of 23, 000 patients with insulin treated diabetes. **Diabetologia**. v. 46, p. 760–765, 2003.

LAKATTA, E. G.; MALTSEV, V. A.; VINOGRADOVA, T. M. A coupled SYSTEM of intracellular Ca^{2+} clocks and surface membrane voltage clocks controls the timekeeping mechanism of the heart's pacemaker. **Circulation Research**. v. 106, p. 659-673, 2010.

LEMPEL, A.; ZIV, J. On the complexity of finite sequences. **IEEE transactions on information theory**. v. 22, p. 75-81, 1976.

LIBBY, P.; NATHAN, D. M.; ABRAHAM, K.; BRUNZELL, J. D.; FRADKIN, J. E.; HAFFHER, S. M.; HSUEH, W.; REWERS, M.; ROBERTS, B. T.; SAVAGE, P. J.; WASSEF, M.; RABADAN-DIEHL, C. Report of national heart, lung, and blood institute-national institute of diabetes and digestive and kidney diseases working group on cardiovascular complications of type 1 diabetes mellitus. **Circulation**. v. 111, p. 3489-3493, 2005.

LIPSIUS, S. L.; HUSER, J.; BLATTER, L. A. Intracellular Ca^{2+} release sparks atrial pacemaker activity. **News in Physiological Sciences**. v. 16, p. 101-106, 2001.

LINKE, W. A.; POPOV, V. I.; POLLACK, G. H.; Passive and active tension in single cardiac myofibrils. **Biophysical Journal**. v. 67, p. 782-792, 1994.

MAILLET, M.; VANBERLO, J. H.; MOKKENTIN, J. D. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. v.14, p. 38-48, 2013.

MANDAVIA, C. H.; AROOR, A. R.; DEMARCO, V. G.; SOWERS, J. R. Molecular and metabolic mechanisms of cardiac dysfunction in diabetes. **Life Science**. v. 92, p. 601-608, 2103.

MATOUGH, F. A.; BUDIN, S. B.; HAMID, Z. A.; ALWAHAIBI, N.; MOHAMED, J. The role oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. **Sultan Qabos Univ Med J**. v. 12, p. 5-18, 2012.

MERZ, C. N. B.; ELBOUDWAREJ, O.; MEHTA, P. The autonomic nervous system and cardiovascular health and disease: a complex balancing. **JACC: Heart Failure**. v. 3, p. 383-385, 2015.

MOHRMAN, D. E.; HELLER, L. J. **Fisiologia Cardiovascular**. 6° ed., São Paulo, McGraw-Hill, 2007.

MONESI, L.; TETTAMANTI, M.; CORTESI, L.; BAVIERA, M.; MARZONA, I.; AVANZINI, F.; MONESI, G.; NOBILI, A.; RIVA, E.; FORTINO, I.; BORTOLOTTI, A.; FONTANA, G.; MERLINO, L.; TRAVISAN, R.; RONCAGLIONI, M. C. Elevated risk of death and major cardiovascular events in subjects with newly diagnosed diabetes: findings from an administrative database. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. v. 24, p. 263-270, 2014.

MONFREDI, O.; MALTSEV, V. A.; LAKATTA, E. G. Modern concepts concerning the origin of the heartbeat. **Physiology**. v. 28, p. 74-92, 2013.

MORRISH, N.J.; WANG, S.L.; STEVENS, L.K.; FULLER, J.H.; KEEN, H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. **Diabetologia**. v.44, p. 14–21, 2001.

NAYAK, Y.; HILLEMANE, V.; DAROJI, V. K.; JAYASHREE, B. S.; UNNIKRISHNAN, M. K. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-streptozotocin induced type 2 diabetes in rats. **The Scientific World Journal**. v. 4, p. 1-12, 2014.

NOBLE, D.; VARGHESE, A. Modelling of sodium-overload arrhythmias and their suppression. **Canadian Journal of Cardiology**. v. 14, p. 97-100, 1998.

NOGUEIRA, R. A.; VARANDA, W. A.; LIEBOVITCH, L. S. Hurst analysis in the study of ion channel kinetics. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 28, p. 491-496, 1995.

NUSSENZVEIG, H. M. **Complexidade e caos**. 1º ed. UFRJ/copea, Rio de Janeiro, 2008.

PAN, J.; TOMPKINS, W. J. A real time QRS detection algorithm. **Journal of Biomedical Engineering**. v. 32, p. 230-236, 1985.

PAPPACHAN, J. M.; VARUGHESE, G. I.; SRIRAMAN, R.; ARUNAGIRINATHAN, G. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology, diagnostic evaluation and management. **World Journal of Diabetes**. v. 4, p. 177-189, 2013.

PENG, C. K.; BULDYREV, S.V.; HAVLIN, S.; SIMONS, M.; STANLEY, H.E.; GOLDBERGER, A.L; Mosaic organization of DNA nucleotides. **Physical Review E**. v. 49, p. 1685-1689, 1994.

PENG, C. K.; HAVLIN, S.; HAUSDORFF, J. M.; MIETUS, J. E.; STANLEY, E. H.; GOLDBERGER, A. L. Fractal mechanisms and heart rate dynamics: Long-range correlations and their breakdown with disease. **Journal of Electrocardiology**. v. 28, p. 59-65, 1995.

PEREIRA-JUNIOR, P. P.; MAROCOLO, M.; RODRIGUES, F. P.; MEDEI, E.; NASCIMENTO, J. H. M. Noninvasive method for electrocardiogram recording in conscious rats: feasibility for heart rate variability analysis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v, 82, p. 431-437, 2010.

PESSOA, D. T.; CRUZ, R.; MACHADO, B.; TENORIO, B. M.; NOGUEIRA, R. A. Analysis of electrocorticographic patterns in rats fed standard or hyperlipidic diets in a normal state or during status epilepticus. **Nutritional Neuroscience**. DOI: <http://dx.doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000033>.

PETERSEN, H. F.; SHULMAN, G. I. Etiology of insulin resistance. **American Journal of Medicine**. v. 119, p. 10-16, 2006.

PRABAKARAN, D.; ASHOKKUMAR, N. Protective effect of esculetin on hyperglycemia-mediated oxidative damage in the hepatic and renal tissues of experimental diabetes rats. **Biochimie**. v. 95, p. 366-373, 2013.

QI, Z.; WONG, C. K.; SUEN, C. H.; WANG, J.; LONG, C.; SAUER, H.; YAO, X.; TSANG, S. Y. TRPC3 regulates the automaticity of embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. **International Journal of Cardiology**. v. 203, p. 169-181, 2016.

RADHAKRISHNAN, N.; GANGADHAR, B. Estimating regularity in epileptic seizure time series data. **IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine**. v. 17, p. 89-94, 1998.

REISNER, A. T.; CLIFFORD, G. D.; MARK, R. G. The physiological basis of the electrocardiogram. in: CLIFFORD, G. D.; AZUAJE, F.; MCSHARRY, P. E. (Eds.) **Advanced Methods for ECG Analysis**. Boston: Artech House, 2006. P. 1-25.

RUBIN, R.; STRAYER, D. S. **Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine**. 5^o ed., Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

RUSSEL, N. E.; HIGGINS, M. F.; KINSLEY, B. F.; FOLEY, M. E. MCAULIFFE, F. M. Heart rate variability in neonates of type 1 diabetic pregnancy. **Early Human Development**. v. 92, p. 51-55, 2016.

SALTIER, A. R.; KAHN, R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**. v.414, p. 799 – 812, 2001.

SANYAL, S. N.; ARITA, M.; ONO, K. Inhomogeneous derangement of cardiac autonomic nerve control in diabetic rats. **Circulation Journal**. v. 66, p. 283-288, 2002.

SARMA, S.; MENTZ, R. J.; KWASNY, M. J.; FOUGHT, A. J.; HUFFMAN, M.; SUBACIUS, H.; NODARI, S.; KONSTMAN, M.; SWEDBERG, K.; MAGGIONI,

A. P.; ZANNAD, F.; BONOW, R. O.; GHEORGHIAD, M. Association between diabetes mellitus and post-discharge outcomes in patients hospitalized with heart failure: findings from the EVEREST trial. **European Journal of Heart Failure**. v. 15, p. 194-202, 2013.

SELVIN, E.; STEFFES, M. W.; ZHU, H.; MATSUSHITA, K.; WAGENKNECHT, L.; PANKOW, J.; CORESH, J.; BRACANTI, F. L. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. **The New England Journal of Medicine**. v. 362, p. 800-811, 2010.

SILVA, A. C. D. S. **Caracterização de sinais elétricos cerebrais de bovinos usando técnicas avançadas de processamento digital de sinais**. [s.l.] Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2009.

SINGH, T.P.; GROEHN, H.; KAZMERS, A. Vascular function and carotid intimalmedial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of the American College of Cardiology**. v.41, p.661– 665, 2003.

SINGH, Y. N.; SINGH, S. K. Human identification using heartbeat interval features and ECG morphology. **Advanced in Intelligent Systems and Computing**. v. 201, p. 87-98, 2013.

SINGH, Y. N. Human recognition using Fisher's discriminant analysis of heartbeat interval features and ECG morphology. **Neurocomputing**. v. 167, p. 322-335, 2015.

SOEDAMAH-MUTHU, S.S.; CHATURVEDI, N.; TOELLER, M.; FERRIS, B.; REBOLDI, P.; MICHEL, G.; MANES, C.; FULLER, J. H. The EURODIAB Prospective Complications Study Group: Risk factors for coronary heart disease in type 1 diabetic patients in Europe. **Diabetes Care**. v.27, p.530–537, 2004.

SPALLONE, V.; ZIEGLER, D.; FREEMAN, R.; BERNARDI, L.; FRONTONI, S.; POP-BUSUI, R.; STEVENS, M.; KEMPLER, P.; HILSTED, J.; TESFAYE, S.;

LOW, P.; VALENSI, P. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**. v. 27, p. 639-653, 2011.

STAM, C. J. Nonlinear dynamical analysis of EEG and MEG: review of an emerging field. **Clinical Neurophysiology**. v. 116, p. 2266-2301, 2005.

STOECKLI, R.; KELLER, U. Nutritional fats and risk of type 2 diabetes and cancer. **Physiology & Behavior**. v. 83,n. 4, p.611-615, 2004.

TAN, Y. Z.; OZDEMIR, S.; TEMIZ, A.; CELIK, F. The effect of relaxing music on heart rate and heart rate variability during ECG GATED-myocardial perfusion scintigraphy. **Complementary Therapies in Clinical Practice**. v. 21, p. 137-140, 2015.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **European Heart Journal**. v. 17, p. 354-381, 1996.

THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International Journal of Cardiology**. v. 141, p. 122-131, 2010.

THAYER, J. F.; AHS, F.; FREDRIKSON, M.; SOLERS, J. J.; WAGER, T. D. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: Implications of heart rate variability as a marker of stress and health. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. v. 36, p. 747-756, 2012.

UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). **Lancet**. v.352, p.837-853, 1998.

VAHEDI, F.; ODENSTEDT, J.; HARTFORD, M.; GILLJAM, T.; BERGFELDT, L. Vectorcardiography analysis of the repolarization response to pharmacologically induced autonomic nervous system modulation in healthy subjects. **Journal of Applied Physiology**. v. 3, p. 368-376, 2012.

VANDERLEI, L. C. M.; PASTRE, C. M.; HOSHI, R. A.; CARVALHO, T. D.; GODOY, M. F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**. v. 24, p. 205-217, 2009.

VASCONCELOS, C. M. L. **Estudo dos efeitos contráteis e eletrofisiológicos de extratos obtidos de folhas de Averrhoa carambola L. (Oxalidaceae) em coração de cobaia (Cavia porcellus)**. João Pessoa, 2005. 127 p. Tese (Doutorado em em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – PPGPNSB, Univerdidade Federal da Paraíba, 2005.

VIGOREAUX, J. O. The muscle Z band: lessons in stress management. **Journal of Muscle Research Cell Motility**. v. 15, p. 237-255, 1994.

VINIK, A. I.; ERBAS, T. Diabetic autonomic neuropathy. **Handbook Clinical Neurology**. v. 117, p. 279-294, 2013.

VISTISEN, D.; LEE, C. M. Y.; COLAGIURI, S.; JOHNSEN, K. B.; GLUMER, C. A globally applicable screening model for detecting individuals with undiagnosed diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v.95, p.432-438, 2012.

XUAN, Y. L.; WANG, Y.; XUE, M.; HU, H. S.; CHENG, W. J.; LI, X. R.; YIN, J.; YANG, N.; YAN, S. H. In rats the duration of diabetes influences its impact on cardiac autonomic innervations and electrophysiology. **Autonomic Neuroscience**. v. 189, p. 31-36, 2015.

WATANABE, K.; THANDAVARAYAN, R. A.; HARIMA, M.; SARI, F. R.; GURUSAMY, N.; VEERAVEEDU, P. T. MITO, S.; AROZAL, W.; SUKUMARAN, V.; LAKSMANAN, A. P.; SOETIKNO, V.; KODAMA, M.; AIZAWA, Y. Role of differential signaling pathways and oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. **Current Cardiology Reviews**. v. 6, p. 280-290, 2010.

WHITING, D.R.; GUARIGUATA, L.; WEIL, C.; SHAW, J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. **Diabetes research and Clinical Practice**. v. 94, p. 311-321, 2011.

YANG, Z. J.; MURRAY, K. T. Ionic mechanisms of pacemaker activity in spontaneously contracting atrial HL-1 cells. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v. 57, p. 28-36, 2011.

YANG, X.; PABON, L.; MURRY, C. E. Engineering adolescence: maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. **Circulation Research**. v. 114, p. 511-523, 2014.

YOCHUM, M.; RENAUD, C.; JACQUIR, S. Automatic detection of P, QRS and T patterns in 12 leads ECG signal based on CWT. **Biomedical Signal Processing and Control**. v. 25, p. 46-52, 2016.

ZHANG, X.; CHEN, C. A new insight of mechanisms, diagnostic and treatment of diabetic cardiomyopathy. **Endocrine**. v. 41, p. 398-409, 2012.

CAPÍTULO ÚNICO

**Métodos matemáticos não lineares aplicados a
investigação dos efeitos do Diabetes Mellitus
tipo 1 (DM 1) e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2)
sobre a frequência cardíaca**

Artigo a ser submetido a revista *Cardiovascular Diabetology*

Métodos matemáticos não lineares aplicados a investigação dos efeitos do Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1) e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) sobre a frequência cardíaca

Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos¹, Eva Luana Almeida da Silva¹, José Radamés Ferreira da Silva¹, Bruno Mendes Tenório¹ e Romildo de Albuquerque Nogueira¹

¹ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional – Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil

ardillesjuan@hotmail.com, eva.luana@hotmail.com, joseradames@gmail.com, brunoufrpe@hotmail.com, ran.pe@terra.com.br*

Endereço para correspondência:

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil. ran.pe@terra.com.br

Resumo

Introdução: O Diabetes Mellitus (DM) é considerado um sério problema de saúde em todo o mundo e uma das principais causas de doenças que acometem o sistema cardiovascular, afetando a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A análise apurada desta frequência pode auxiliar em um prognóstico seguro para portadores de doenças cardíacas. O objetivo deste trabalho foi a utilização de métodos matemáticos para avaliar o impacto do Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1) e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) na dinâmica cardíaca. **Metodologia:** Este estudo foi realizado no Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional (LABTEC) do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Para tal foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar com peso variando entre 300-320g. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, contendo 6 animais, sendo grupo controle (C), grupo induzido ao DM 1 e tratado com insulina (DM 1 I), grupo induzido ao

DM 1 sem receber o tratamento com insulina (DM 1) e grupo induzido ao DM 2 (DM 2). Para registro do Eletrocardiograma (ECG) foi confeccionado um colete que se ajusta ao corpo do animal com eletrodos no seu interior, através dos quais potenciais elétricos gerados pelo coração foram captados. Em seguida, o ECG foi armazenado em um computador para posteriores análises matemáticas. **Resultados:** Os efeitos do DM 1 e DM 2 sobre os padrões eletrocardiográficos de seus portadores pôde ser constatado através da diminuição do coeficiente α -DFA de ambos os grupos, em relação aos animais do grupo controle e dos animais do grupo DM 1 I. Os valores fornecidos pela CLZ reforçam estes achados, onde os animais induzidos ao DM 1 e DM 2 apresentaram padrões diferentes dos apresentados pelos grupos controle e DM 1 I. Indicando que portadores de DM1 e DM 2 apresentaram problemas na atividade cardíaca em decorrência do estabelecimento do DM, comprometendo sua dinâmica cardíaca. **Conclusão:** Os métodos foram sensíveis para identificar a ação de diferentes tipos de diabetes, analisando as alterações dos padrões nos grupos DM 1 e DM 2, detectando discretas variações nas oscilações dos sinais do ECG.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus, Eletrocardiograma, Análise de Flutuação Destendenciada, Complexidade de Lempel-Ziv e Ratos Wistar.

Introdução

O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica com uma das mais altas taxas de morbidade e mortalidade sendo considerado um sério problema de saúde pública no Brasil e no mundo [1,2]. O crescimento populacional, mudanças no estilo de vida e o envelhecimento da população provocaram o aumento na incidência dessa doença que causa mortes no cenário mundial. Estimase que 285 milhões de pessoas, correspondendo a 6,4% da população adulta do mundo é portador do diabetes [3]. Estudos mostram que esse aumento rápido do número de portadores se deve a diversos fatores, entre eles: rápido desenvolvimento econômico, crescimento populacional, mudanças no estilo de vida associados ao desenvolvimento lento dos sistemas de saúde. Todos esses fatores contribuirão para um aumento de cerca de 55% no

número de adultos portadores de DM até 2035 [4]. O DM está ligado a várias complicações, que vão desde problemas cardiovasculares, incluindo infarto do miocárdio e angina de peito, acidente vascular cerebral (AVC), doenças microvasculares, insuficiência cardíaca, revascularização e osteoartrite [5,6].

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1), é uma doença crônica decorrente da perda de células β pancreáticas devido a complexos processos auto-imunes provocando a morte destas células, já o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) surge em decorrência da deficiência da ação da insulina, chamada de resistência a insulina, juntamente com uma deficiência na secreção desse hormônio [7].

As doenças cardiovasculares e as doenças cardíacas coronarianas (DCC) são a principal causa de morte em pacientes portadores de diabetes tipo 2 [8-10]. Estudos tem demonstrado que mudanças na estrutura vascular, como mudanças na complacência arterial, rigidez e disfunção endotelial também ocorrem no início do diabetes tipo 1 levando a uma acelerada aterosclerose [11,12]. A Cardiomiopatia Diabética (CD), que é uma grave complicação decorrente do DM, é também uma das principais causas do aumento da mortalidade em pacientes diabéticos [13, 14], contudo os efeitos do DM 1 e do DM 2 sobre a atividade elétrica cardíaca ainda são incompletamente compreendidas.

Nos últimos anos houve um grande aumento de estudos pela comunidade científica tentando esclarecer os efeitos do DM sobre a dinâmica cardíaca [15]. O DM altera a dinâmica cardíaca levando ao desenvolvimento da CD [16]. Desta forma, um bom acompanhamento clínico é necessário para detecção precoce de alterações cardíacas ocasionadas pelo diabetes. Entre os métodos de análise da atividade cardíaca o Eletrocardiograma (ECG), é uma ferramenta confiável, de baixo custo e permite tanto o diagnóstico como o acompanhamento no posterior tratamento de patologias cardíacas. A partir do ECG é possível se medir a frequência cardíaca (FC), sendo esta mensurada pelo número de intervalos R no decorrer do tempo [17].

Os métodos matemáticos não lineares vêm sendo utilizados para análise de séries temporais fisiológicas. Estes métodos envolvem ferramentas matemáticas da teoria do caos e da geometria fractal, os quais vêm sendo

muito utilizados para o estudo de vários sinais elétricos, tanto na clínica quanto na experimentação. Entre esses métodos destacamos a análise de Hurst [18], Detrended Fluctuation Analysis (DFA) [19, 20], análise da dimensão fractal do espaço de fase [18], e complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) [21]. Particularmente, no estudo da atividade cardíaca, métodos de dinâmica não linear também tem sido usados na análise da FC [22]. Dessa forma estas técnicas permitem a análise da série temporal de uma forma mais acurada, apresentando características e identificando padrões, não observáveis mesmo por especialistas da área.

Devido a alta complexidade que envolve o DM 1 e o DM 2 e seus efeitos sobre a dinâmica cardíaca, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do DM 1 e DM 2 sobre a atividade elétrica cardíaca através da análise do ECG, utilizando métodos matemáticos, tais como o DFA e a CLZ.

Métodos

Delineamento experimental

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*), provenientes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Todos os experimentos utilizando animais foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) licença nº 050/2014.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 04 grupos, cada grupo contendo 06 animais: G1 - Grupo Induzido ao DM tipo 1; G2 - Grupo induzido ao DM tipo 1 tratado com insulina; G3 – Grupo induzido ao DM tipo 2; e G4 - Grupo controle, estes animais foram submetidos a mesma condição experimental dos grupos tratados com a exceção da aplicação da droga indutora do diabetes e sem receber o tratamento com a insulina.

Indução do DM 1 e DM 2

O DM 1 foi induzido com uma dose única de 55 mg/kg de Streptozotocina (STZ) (Sigma Chemical - USA), diluída em tampão citrato

(pH=4,5) por via intraperitoneal após jejum de 12 horas [23]. O DM 2 foi induzido com uma dose de 60 mg/kg de STZ e passados 15 minutos administrada uma dose de 120 mg/kg de Nicotinamida (Sigma Chemical - USA) diluída em tampão citrato por via intraperitoneal [24]. Os animais não diabéticos receberam da mesma forma doses equivalentes de solução sem a STZ. Após 30 minutos do tratamento, todos os animais foram alimentados normalmente. Foram incluídos no estudo apenas os animais que apresentarem glicose sanguínea acima de 200 mg/dL para os animais induzidos ao DM 1 e maior que 140 mg/dL para os animais induzidos ao DM 2, verificada usando um Glicosímetro (Kit Accu-ChekActiv). A glicose sanguínea foi dosada em uma gota de sangue retirada da cauda do animal.

Caracterização do modelo de DM 1 e DM 2

Para a caracterização do modelo animal de diabetes tipo 1 e tipo 2 foram realizados os seguintes testes: Teste de tolerância Intraperitoneal à glicose (IGTT); Determinação da glicose plasmática; e o Teste de Hemoglobina-Glicosilada (HbA1c). Todos os testes e análises descritos anteriormente foram realizados após a 1ª semana de indução do diabetes.

Registro e análise do Eletrocardiograma (ECG)

O método para registro do Eletrocardiograma se baseia na metodologia descrita por [25], trata-se de um método de coleta do ECG não invasivo, que se baseia na confecção de uma pequena jaqueta de algodão elástico contendo duas peças de eletrodo de platina retangular (cada uma medindo 7,0 × 3,0 mm) fixadas na superfície interna do revestimento, e cada um dos eletrodos ligados ao aparelho EMG 410C (EMG System, Brasil) e este conectado a um computador. Uma semana antes do ECG os animais foram acondicionados por 20 minutos dentro de um compartimento cilíndrico de Policloreto de Vinila (PVC) da fabricante (Insight equipamentos, pesquisa e ensino, Ribeirão Preto, SP-Brasil), para que se acostumassem ao ambiente, pois os mesmos permaneceram neste local durante a coleta do ECG. Os eletrodos foram colocados de tal modo, a manter o contato direto dos mesmos com a superfície

corpórea do animal permitindo dessa forma que os sinais do ECG pudessem ser captados.

Devido a colocação dos eletrodos sob a jaqueta e seu posicionamento na superfície corpórea do animal sobre a região torácica, foi possível captar o ECG a partir da variação (V2), onde os picos R foram bem evidentes. Sobre cada eletrodo foi aplicado um gel condutor para auxiliar na amplificação do sinal a ser captado. Em seguida foi colocada a jaqueta no animal e o mesmo foi acondicionado no contensor de PVC, por um período de 30 minutos, dos quais os primeiros 10 minutos não foram registrados para que o stress causado pela manipulação do animal não interferisse no sinal do ECG. Os registros foram realizados em diferentes dias com intervalos de 48 horas, para todos os animais.

Os registros do ECG foram captados e enviados para o microcomputador, onde este sinal foi salvo em um arquivo de extensão csv. Os arquivos salvos em csv. foram processados no software MATLAB 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA). Nesta plataforma foi utilizado inicialmente um algoritmo para filtragem do sinal, em seguida foi usado outro algoritmo para detecção dos picos R do sinal do ECG para posterior criação da série R-R. Após ser gerada a série R-R, foram utilizados um total de 750 pontos para posteriores análises, visto que é possível quantificar o DFA com séries a partir de 500 pontos [26].

Complexidade de Lempel-Ziv

A Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) é uma metodologia utilizada para análise de dados, através da sequência desses dados, através da recorrência de padrões [27]. A CLZ é uma metodologia que torna possível a quantificação dos diferentes padrões dentro de uma série temporal. Com isso vemos que o registro do ECG apresenta características de complexidade $C(n)$ e não-linearidade, o que torna possível a utilização o cálculo da CLZ para análise da série temporal do ECG.

Antes de calcular a CLZ é necessário transformar a série temporal em uma sequência binária P . Usa-se a média da série temporal como limite, em

seguida cada ponto da série temporal é comparada com a média, se o valor do ponto for maior que o da média este passa a ser representado por 1 (um), e os pontos que apresentam valor inferior ao da média passarão a ser representados por 0 (zero), sendo assim cada ponto passa a receber a designação de 0 (zero) ou 1 (um) gerando uma sequência binária composta apenas de 0 (zeros) e 1 (uns) [28,29].

A CLZ vai fornecer um valor entre 0 (zero) e 1 (um), onde quanto mais próximo de 1 (um) for o resultado maior será o valor da CLZ e mais aleatório será o comportamento do sinal, quanto mais próximo de 0 (zero) for o resultado menor será a CLZ, indicando que a série apresenta uma maior autossimilaridade.

Análise de Flutuação Destendenciada

A metodologia da Análise de Flutuação Destendenciada (DFA) é uma técnica muito utilizada em séries temporais que não apresentam estacionariedade com o objetivo de quantificar a correlação de longo alcance da série temporal [19, 20]. Este método baseia-se na análise de flutuações dos dados após a retirada da tendência da série temporal integrada.

Nas áreas de saúde e biociências o DFA tem sido utilizado nas mais diversas situações, na sequência de DNA, comportamento dos neurônios no tecido nervoso e no estudo da FC [30]. A técnica do DFA consiste em dividir a série temporal em janelas de diferente tamanhos, para cada tamanho de janela um coeficiente α é calculado.

Entre as vantagens do DFA sobre os métodos convencionais temos que esta permite a detecção de autossimilaridade intrínseca numa série não estacionária e também evita uma falsa detecção de autossimilaridade aparente, a qual pode ser um artefato de tendência extrínseca.

O procedimento para obtenção da série temporal integrada é feito da seguinte maneira: sendo $y(i)$ com $i = 1, 2, 3, \dots, N$, a série temporal original, então a série integrada é obtida a partir da seguinte equação:

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (y(i) - M)$$

onde M é a média dos valores de $y(i)$ com $i = 1, 2, 3, \dots, N$ e K é o número inteiro.

A integração acima transforma a série original em um processo autossimilar, em seguida a série $y(k)$ é dividida em janelas de comprimento igual a n . Para cada intervalo são feitos ajustes usando-se funções polinomiais que são classificadas como: linear (DFA-1), quadrática (DFA-2), cúbica (DFA-3) e de ordem m (DFA- m), que representa a tendência de cada intervalo. A ordenada do segmento linear (DFA-1), representa a tendência no intervalo de tamanho n , é $y_n(k)$. Essa tendência é retirada da série subtraindo-se o ajuste do valor linear $y_n(k)$ do valor correspondente da série integrada $y(k)$. Para determinação do tamanho das flutuações para cada intervalo n usa-se a seguinte equação:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2}$$

Esse passo é repetido para os vários tamanhos de janelas n , para se determinar a relação entre as flutuações e tamanho do intervalo $F(n)$ e n . Para procesos autossimilares $F(n)$ aumenta com n por uma lei de potência, onde: $F(n) \sim n^\alpha$.

Sendo o coeficiente α determinado pela inclinação da reta $\log F(n)$ X $\log(n)$, dado por:

$$\alpha = \frac{\Delta \log F(n)}{\Delta \log(n)}$$

Segundo [31] o coeficiente α pode ser classificado da seguinte forma: para ruído branco (séries não correlacionadas) a série representa um

ruído aleatório e o método DFA apresentará $\alpha = 0,5$, e a série original não apresenta auto-correlação. Um parâmetro de autossimilaridade no intervalo $0,5 < \alpha \leq 1$, indica que a série original apresenta auto-correlações de longo alcance persistentes significando que os valores grandes têm maior probabilidade de serem seguidos por valores grandes, assim com valores pequenos têm maior probabilidade de serem seguidos por valores pequenos. Para um valor de parâmetro $\alpha = 1$ a série representa um ruído do tipo $1/f$. Para parâmetro de autossimilaridade no intervalo $0 < \alpha < 0,5$, as auto-correlações são anti-persistentes, significando que os valores grandes têm maior probabilidade de serem seguidos por valores pequenos, e valores pequenos de serem seguidos por valores grandes. O parâmetro α pode ser interpretado como o parâmetro que indica a suavidade da série original. Quanto maior o valor de α , maior foi a suavidade da série.

Análise estatística

Aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição dos dados obtidos. Os dados com distribuição não gaussiana foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e post-hoc de Dunn.

Resultados

Aumento nos níveis de glicose e HbA1c induzidos pela Streptozotocina

Para confirmação da indução do DM 1 e DM 2 dos ratos, foram determinados a glicose plasmática, o teste de tolerância intraperitonal à glicose (IGTT), e a determinação da HbA1c dos ratos do grupo controle e animais induzidos. Após a terceira semana de indução do DM 1 e DM 2, os animais induzidos ao DM 1 pela STZ apresentaram um aumento significativo no nível de glicose quando comparado ao grupo controle (GC) e ao grupo diabético tipo 1 tratado com insulina (DM1 I), assim como também apresentou o nível de glicose mais alto quando comparado ao grupo diabético tipo 2 (DM 2), resultados que corroboram com [32]. O grupo DM 2 apresentou o nível de glicose mais alto quando comparado ao GC e ao DM1 I (Fig. 1).

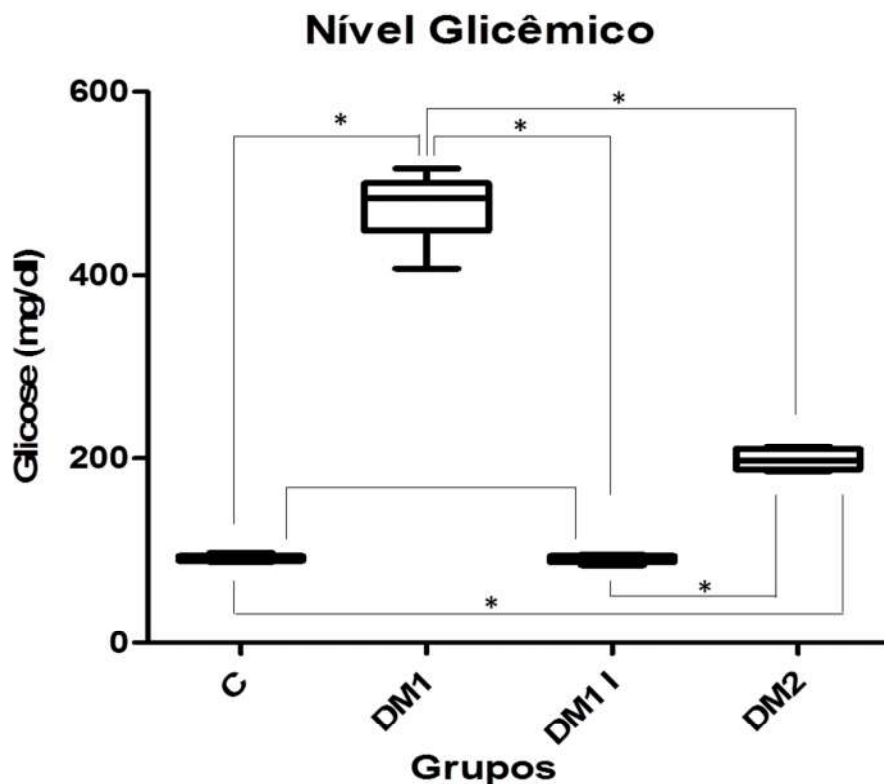


Fig. 1 Valores da glicemia expressos em (mg/dl), avaliados no período pós-indução (115 dias de vida). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$.

Como observado na Fig. 2, os resultados do IGTT, no qual após a terceira semana de indução tanto o GC quanto o DM1 I, apresentavam uma estabilidade nos níveis de glicose ao longo do tempo, tanto antes quanto após a aplicação da glicose. Em contrapartida os níveis de glicose dos grupos DM 1 e DM 2 apresentavam os níveis de glicose mais elevados antes da aplicação da glicose e após a aplicação os níveis permaneceram bastante elevados, não retornando aos níveis normais de glicose após 120 minutos, resultados semelhantes aos encontrados por [33,34].

Teste de tolerância intraperitoneal à glicose

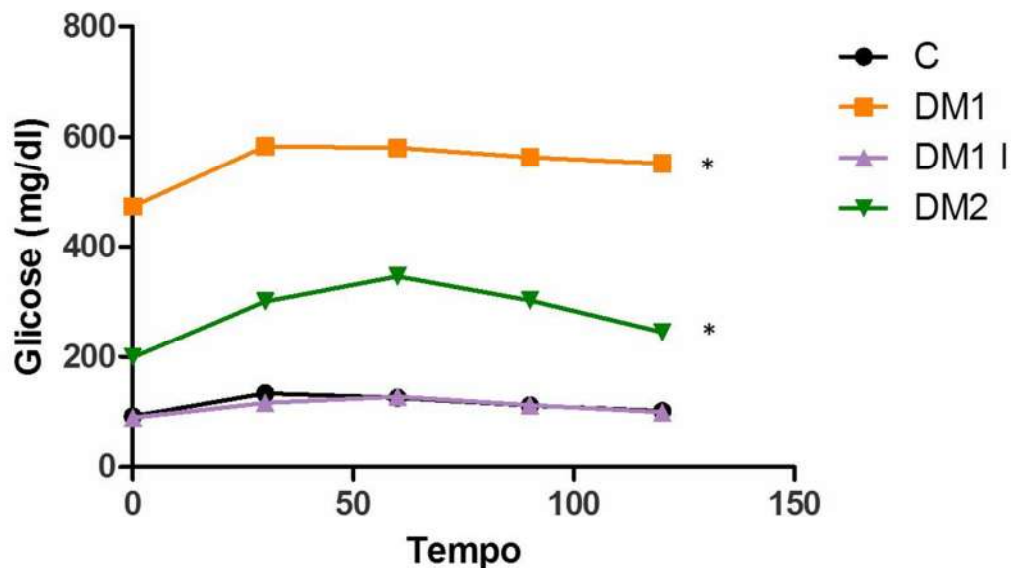


Fig. 2 Valores do IGTT nos tempos 0, antes da aplicação da glicose, 30, 60 90 e 120 minutos após a aplicação da glicose, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$.

Na avaliação nos níveis de HbA1c (Fig. 3), o grupo DM 1 apresentou valores muito mais elevados que os demais grupos (GC, DM 1 I e DM 2). No entanto o grupo DM 1 I apresentou valores de HbA1c semelhantes ao GC, indicando que os valores da glicose estão mantidos em níveis basais, já o grupo DM 2 apresentou este parâmetro mais elevado que o GC e DM1 I e menor que o DM1, resultados que corroboram com os estudos de [32, 35, 36].

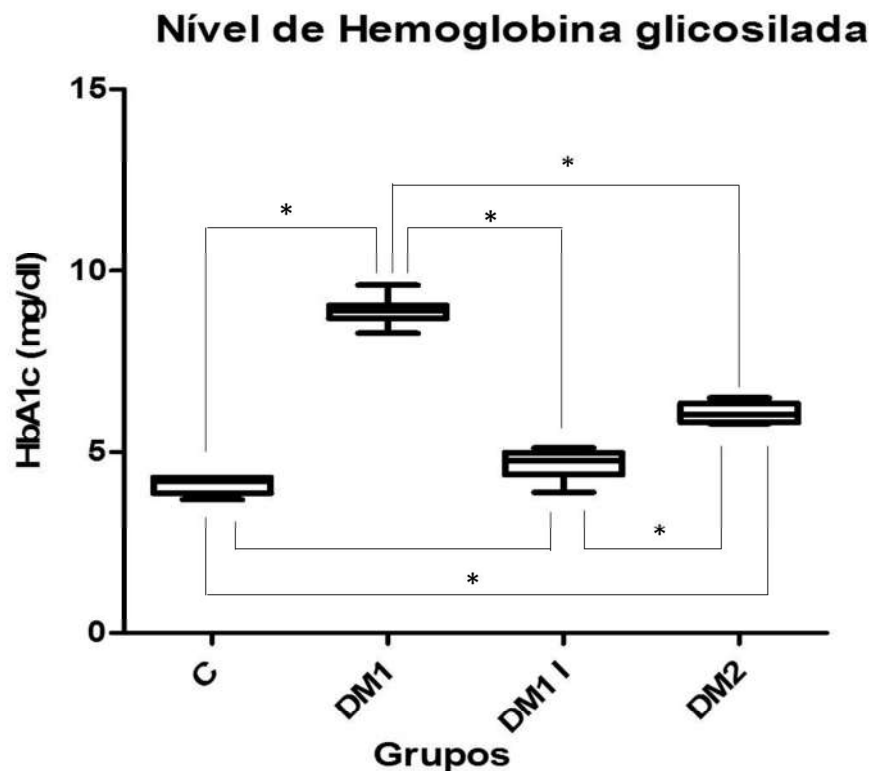


Fig. 3 Valores do HbA1c, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$.

O DFA e CLZ são significativamente diferentes em animais diabéticos

Não houve diferença significativa nos valores do α -DFA dos GC ($0,7752 \pm 0,0363$) e DM 1 I ($0,7363 \pm 0,0544$), como mostrado na Fig. 4. Nesta figura pode-se também observar que os valores do DFA foram significativamente mais baixos no grupo DM 1 ($0,4555 \pm 0,0808$) quando comparado ao GC e DM 1 I, da mesma forma ao se comparar o DM 2 ($0,5483 \pm 0,1003$) com o GC e DM 1 I, onde os valores do α -DFA foram significativamente menores neste grupo. Os grupos DM 1 e DM 2 apresentaram entre si diferença significativa onde os valores do DM 1 foram menores que o grupo DM 2.

Análise de Flutuação Destendenciada

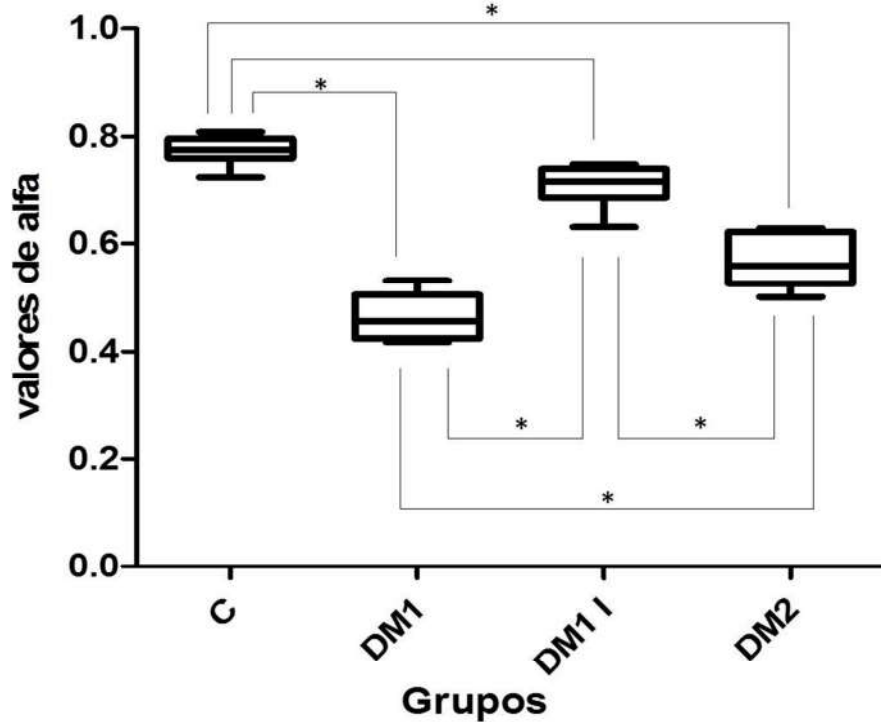


Fig. 4 Valores do α DFA, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$.

Na Fig. 5 encontramos os valores referentes à CLZ, a qual mostra resultados equivalentes ao parâmetro α -DFA, onde não houve diferença estatisticamente significativa entre os GC ($0,4953 \pm 0,0486$) e DM 1 I ($0,5170 \pm 0,0278$), em contrapartida os valores do CLZ do DM 1 ($0,6661 \pm 0,0661$) e DM 2 ($0,3003 \pm 0,0169$) diferiram dos demais grupos.

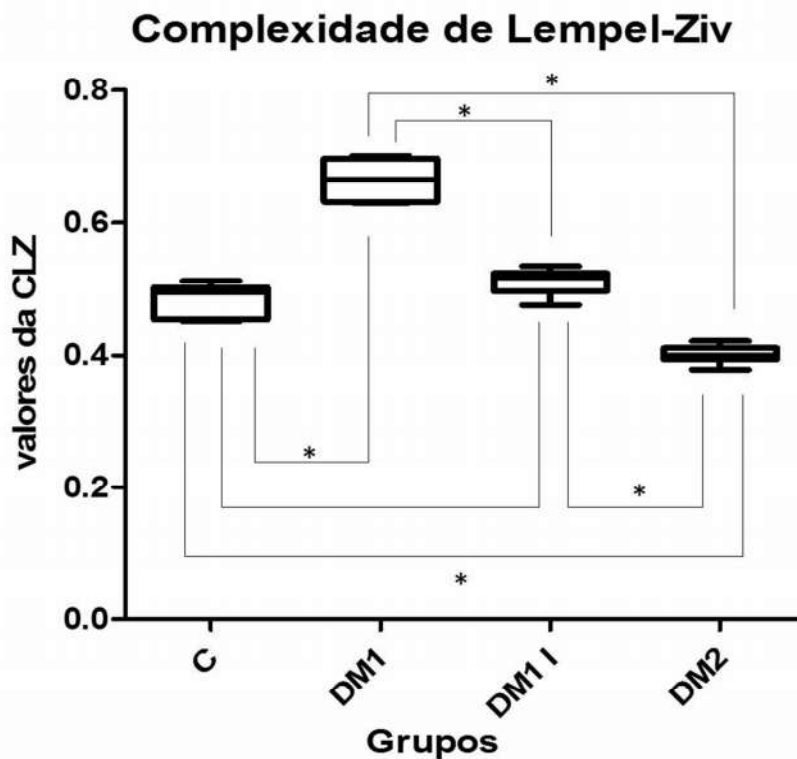


Fig. 5 Valores da CLZ, avaliados no período pós-indução (115 dias). C – grupo controle; DM1 – grupo diabético tipo 1; DM1 I – grupo diabético tipo 1 tratado com insulina; DM2 – grupo diabético tipo 2. * indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos $P < 0,001$.

Discussão

Sabe-se que pacientes portadores de DM 1 e DM 2 tem um risco muito mais elevado de desenvolver enfermidades do sistema cardiovascular, como a neuropatia diabética, contudo o diagnóstico precoce dessas enfermidades é muito difícil, visto que os efeitos mais severos do DM se dão com o passar do tempo e avançar da doença. Sendo assim é de fundamental importância a utilização de novas técnicas que tenham a sensibilidade para detectar pequenas alterações na VFC através da análise do ECG, de forma confiável e segura. Métodos não lineares para análise da VFC vêm ganhando cada vez mais visibilidade e confiabilidade nas áreas clínicas e experimentais, visto que fornecem informações na relação do domínio do tempo e frequência, apresentando dados com alta margem de confiabilidade, para controle e análise preciso da VFC [37].

O presente estudo traz várias informações significativas. Primeiramente foi demonstrado que os níveis de Glicemia em jejum, HbA1c e IGTT, no grupo DM1 I, não diferiu do GC em concordância com resultados encontrados por [38], porém diferiram daqueles encontrados por [32], no qual estes valores foram mais elevados no grupo DM 1 I em comparação ao GC, mostrando que portadores de DM 1 I apresentaram valores glicêmicos semelhantes aos animais saudáveis ($p < 0,01$).

Alguns estudos como [39], mostram que a insulina apresenta uma baixa capacidade de controlar a glicemia em portadores de DM, resultados estes que diferiram dos encontrados em nosso trabalho. Glicemia em jejum, o HbA1c e o IGTT foram significativamente mais altos no grupo DM II em comparação ao GC, valores em concordância com os achados de [40, 41], indicando que a condição de experimentação está de acordo com o esperado quanto a estes padrões de avaliação da indução do diabetes. O grupo DM 1 apresentou os mais elevados valores de glicose, HbA1c e IGTT, ratificando que o DM 1 apresentam um baixo controle da glicose, acarretando em uma hiperglicemia, sendo necessário para o tratamento da mesma a utilização da insulina exógena, para manutenção dos níveis de glicose em condições fisiológicas normais.

Na análise da FC verificamos que os resultados obtidos entre o GC e DM 1 I, não diferiram quanto aos parâmetros do α -DFA e CLZ, resultados diferentes dos encontrados por [32], no qual os valores encontrados no GC e DM 1 I, divergiram na análise da VFC, onde foram avaliados os componentes de baixa frequência (LF) e componentes de alta frequência (HF), que avalia as contribuições do SNS e o SNP, respectivamente. Enquanto que o α -DFA avalia a correlação de longo alcance da série temporal e o CLZ quantifica os padrões distintos em uma série temporal, fornecendo outras informações para análise da VFC. Onde a perda da correlação cardíaca está relacionada a diversos problemas, como insuficiência cardíaca, arritmia, entre outras indicando que portadores de DM 1 ao fazerem uso da insulina exógena, mantém o estado de saúde cardíaco mais próximo possível do encontrado em indivíduos saudáveis [20, 42].

O valor do α -DFA foi significativamente maior no GC e DM 1 I em comparação ao DM II, onde valores mais próximos de $\alpha=0,7$ e $0,8$ indicam um sinal de saúde cardíaco normal, ou seja, valores encontrados em indivíduos saudáveis, indicando que os batimentos estão dentro de padrão caótico normal [43, 44]. No qual os valores encontrados no grupo DM 2 em relação ao coeficiente α -DFA e CLZ diferiram dos valores encontrados no GC resultados que corroboram com os encontrados por [45], indicam uma perda da correlação entre os intervalos R-R e uma perda da complexidade da atividade elétrica cardíaca, indicando que o coração dos portadores de DM 2 apresentam maior fator de risco de morte súbita.

Os valores que mais divergiram em comparação ao GC foram os dos animais induzidos ao DM 1, no qual os valores do α -DFA foram muito inferiores ao dos demais grupos, indicando uma severa perda da VFC e consequente perda da correlação de longo alcance. Indicando a relação entre a hiperglicemia e desequilíbrios no sistema autonômico cardíaco, promovendo uma maior oscilação nos batimentos cardíacos, alterando-se com o passar do tempo [46].

O valor do CLZ no grupo DM 1 foi significativamente mais elevado que os demais grupos, apresentando valores entre $0,6$ e $0,7$, ou seja, mais próximos de 1 indicando que esta série é mais complexa, visto que aumentou o número de padrões na série e houve uma diminuição do número de repetições, alterando dessa forma a auto-regulação cardíaca, sendo esta controlada pelo Sistema Nervoso Autônomo (SNA). Mostrando que portadores de DM 1 apresentam padrões de batimentos cardíacos mais oscilatórios, sendo esta um fator de risco para seus portadores.

Como pode ser observado que a análise da VFC por métodos não lineares, entre eles o DFA e CLZ têm de mostrado como técnicas precisas e refinadas para detecção de alterações no sistema autonômico cardíaco em decorrência dos efeitos do DM, sendo este capaz de detectar através da análise dos padrões do ECG o tipo de diabetes que o seu portador possui, utilizando a análise da correlação da série temporal e sua complexidade. Se afirmando como técnicas confiáveis para sua utilização na clínica humana e

animal, devido a complexidade em se diagnosticar patologias cardíacas através de métodos não invasivos, utilizando apenas o ECG como ferramenta de avaliação.

Conclusão

Com isso vemos que os métodos matemáticos, em especial o DFA e CLZ, se mostraram ferramentas úteis e seguras para análise dos efeitos degenerativos causados pelo DM 1 e DM 2 sobre a atividade cardíaca, sensível ao ponto de identificar a ação dos diferentes tipos de diabetes sobre a dinâmica cardíaca. Dessa forma apresentou valores palpáveis para essa quantificação, tornando o diagnóstico e prognóstico mais simples. Estes resultados ressaltam a importância da utilização das técnicas propostas nesse trabalho na clínica médica, visando um melhor controle sobre os pacientes portadores de diabetes e patologias cardíacas.

REFERÊNCIAS

1. Alonso-Fernández M, Mancera-Romero J, Mediavilla-Bravo JJ, Comas-Samper JM, López-Simarro F, Pérez-unanua MP, et al. Glycemic control and use of A1c in primary care patients with type 2 diabetes mellitus. *Prim Care Diab.* 2015; 9: 385-91.
2. Francioni FF, Silva DGV. O processo de viver saudável de pessoas com Diabetes mellitus através de um grupo de convivência. *Texto Contexto Enfermagem.* 2007; 16: 105-11.
3. Vistisen D, Lee CMY, Colagiuri S, Johnsen KB, Glumer C. A globally applicable screening model for detecting individuals with undiagnosed diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2012; 95: 432-38.
4. Guariguata L, Whiting DR, Hsmblrton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2014; 103: 137-49.
5. Fung CSC, Wan EYF, Wong CKH, Jiao F, Chan AKC. Effect of metformin monotherapy on cardiovascular diseases and mortality: a retrospective cohort study on Chinese type 2 diabetes mellitus patients. *Cardiovascular Diabetology.* 2015; 14: 1-14.
6. Eschwege E, Basdevant A, Crine A, Moisan C, Charles MA. Type 2 diabetes mellitus in France in 2102: Results from the ObEpi survey. *Diabet Metab.* 2015; 41: 55-61.
7. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2015. *Diabetes Care.* 2015; 38 Suppl 1: 1-2.
8. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia.* 2001; 44: 14-21.
9. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GVH, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Eng J Med.* 2003; 348: 383-93.
10. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR, Gatling W, Bingley PJ, Patterson CC. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia.* 2003; 46: 760-65.

11. Jarvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S, Lahtimäki T, Ronnemaa T, Viikari J, Raitakari OT. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation*. 2004; 109: 606-09.
12. Singh TP, Groehn H, Kazmers A. Vascular function and carotid intimal medial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 661-65.
13. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*. 2010; 107: 1058-70.
14. Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetologia*. 2014; 57: 660-71.
15. Sarma S, Mentz RJ, Kwasny MJ, Fought AJ, Huffman M, Subacius H, et al. Association between diabetes mellitus and post-discharge outcomes in patients hospitalized with heart failure: findings from the EVEREST trial. *European Journal of Heart Failure*. 2013; 15: 194-202.
16. Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacology & Therapeutics*. 2014; 142: 375-415.
17. Vahedi F, Odenstedt J, Hartford M, Gillman T, Bergfeldt L. Vector cardiography analysis of the repolarization response to pharmacologically induced autonomic nervous system modulation in healthy subjects. *Journal of Applied Physiology*. 2012; 3: 369-76.
18. Nogueira RA, Varanda WA, Liebovith LS. Hurst analysis in the study of ion channel kinetics. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1995; 28: 491-96.
19. Peng CK, Buldyrev SV, Havlin S, Simons M, Stanley HE, Goldberger AL. Mosaic organization of DNA nucleotides. *Physical Review E*. 1994; 49: 1685-89.
20. Peng CK, Havlin S, Hausdorff JM, Mietus JE, Stanley EH, Goldberger AL. Fractal mechanisms and heart rate dynamics: Long-range correlations and their breakdown with disease. *Journal of Electrocardiology*. 1995; 28: 59-65.

21. Pessoa DT, Cruz R, Machado B, Tenorio BM, Nogueira RA. Analysis of electrocorticographic patterns in rats fed standard or hyperlipidic diets in a normal state or during status epilepticus. *Nutritional Neuroscience*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000033>.
22. Castro CROB, Moraes RB, Silva JRF, Ferri RC, Alves AD, Silva MSI, et al. Detrended fluctuation analysis applied to Ecg in dogs subjected to physical effort. *Experimental and Clinical Cardiology*. 2014; 20: 5068-73.
23. Ferhatovic L, Banozic A, Kostic S, Kurir TT, Novak A, Vrdoljak L, et al. Expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and pain-related behavior in rat models of type 1 and type 2 diabetes. *Anesth Analg*. 2013; 116: 712-21.
24. Nauak Y, Hillemane V, Daroji VK, Jayashree BS, Unnikrishnan MK. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-streptozotocin induced type 2 diabetes in rats. *The Scient Worl Journal*. 2014; 4: 1-12.
25. Pereira-Junior PP, Marocolo M, Rodrigues FP, Medei E, Nascimento JHM. Noninvasive method for electrocardiogram recording in conscious feasibility for heart rate variability analysis. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 2010; 82: 431-37.
26. Willie CK, Ainslie PN, Taylor CE, Jones H, Sin PYW, Tzeng YC. Neurochemical features of the cardiac baroreflex after exercise. 2011; 57: 927-33.
27. Lempel A, Ziv J. On the complexity of finite sequences. *IEEE trnsactions on information theory*. 1976; 22: 75-81.
28. Randhakrishnan N, Gangadhar B. Estimating regularity in epileptic seizure time series data. *IEEE Engine in Medi and Biol Mag*. 1998; 17: 89-94.
29. Aboy M, Hornero R, Abásolo D, Álvarez D. Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity measure in the context of biomedical signal analysis. 2006; 53: 2282-88.
30. Echeverría JC, Woolfaon MS, Crowe JA, Gill BRH, Croaker GDH, Vyas H. Interpretation of heart rate variability via detrended fluctuation analysis and $\alpha\beta$ filter. *Chaos*. 2003; 13: 467-75.

31. Acharya UR, Joseph KP, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. Heart rate variability: a review. *Medic & Biol Eng & Comp.* 2006; 44: 1031-51.
32. Anaruma CP, Junior MF, Sponton CHG, Delbin MA, Zanesco A. Heart rate variability and plasma biomarkers in patients with type 1 diabetes mellitus: Effect of a bout of aerobic exercise. *Diabetes Rese and Clin Pract.* 2015; <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2015.10.025>: 1-9.
33. Russell JW, Berent-Spillson A, Vincent AM, Freimann CL, Sullivan KA, Feldman EL. Oxidative injury and neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurob of Disea.* 2008; 30: 420-29.
34. Ashwini S, Bobby Z, Joseph M. Mild hypothyroidism improves glucose tolerance in experimental type 2 diabetes. *Chemico-Biological Inter.* 2015; 235: 47-55.
35. Doddigarla Z, Parwez I, Ahmad J. Correlation of serum chromium, zinc, magnesium and SOD levels with HbA1c in type 2 diabetes: A cross sectional analysis. *Diab & Metab Synd: Clin Res & Rev.* 2015; <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2015.10.008>: 1-4.
36. Koga M, Saito H, Kasayama S. Patients who showed paradoxical increase in HbA1c levels after intensification of diabetes treatment. *Clin Biochem.* 2015; 48: 459-62.
37. Baumert M, Javorka M, Seeck A, Faber R, Sanders P, Voss A. Multiscale entropy and detrended fluctuation analysis of QT interval and heart rate variability during normal pregnancy. *Comp in Biol and Med.* 2012; 42: 347-52.
38. Wang L, Xu Y, Li H, Lei H, Guan R, Gao Z, et al. Antioxidant incariside II combined with insulin restores erectile function in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *J Cell Mol Med.* 2015; 19: 960-69.
39. Rosenstock J, Bergenstal RM, Blevins TC, Morrow LA, Prince MJ, Qu Y, et al. Better Glycemic control and weight loss with the novel long-acting basal insulin LY2605541 compared with insulin glargine in type 1 diabetes: a randomized, crossover study. *Diabetes.* 2013; 36: 522-28.
40. Atas H, Kepez A, Atas DB, Kanar BG, Dervisova R, Kivrak T, et al. Effects of diabees mellitus on left atrial volume and functions in normotensive patients without symptomatic cardiovascular disease. *J of Diab and Its Comp.* 2014; 28: 858-62.

41. Moura-Tonello SCG, Takahashi ACM, Francisco CO, Lopes SLB, Vale AMD, Borghi-Silva A, et al. Influence of type 2 diabetes on symbolic analysis and complexity of heart rate variability in men. *Diab & Metab Syndr*. 2014; 6: 1-13.
42. Mandel Y, Weissman A, Schick R, Barad L, Novak A, Meiry G, et al. Human embryonic and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes exhibit beat rate variability and power-law behavior. *Circulation*. 2012; 125: 883-93.
43. Hautala AJ, Karjalainen J, Kiviniemi AM, Kinnunen H, Makikallio TH, Huikuti HV, et al. Physical activity and heart rate variability measured simultaneously during waking hour. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010; 298: 874-80.
44. Castiglioni P, Parati G, Di Rienzo M, Carabalona R, Cividjian A, Quintin L. Scale exponents of blood pressure and heart rate during autonomic blockade as assessed by detrended fluctuation analysis. *J Physiol*. 2011; 589: 355-69.
45. Roy B, Ghatak S. Nonlinear methods to assess changes in heart rate variability in type 2 diabetic patients. *Arq Bras de Card*. 2013; 101: 317-27.
46. Fang Q, Wang J, Wang L, Zhang Y, Yin H, Li Y, et al. Attenuation of inflammatory response by a novel chalcone protects kidney and heart from hyperglycemia-induced injuries in type 1 diabetic mice. *Toxicol and Appl Pharmacol*. 2015; 288: 179-91.

