

# Neuropatia Autonómica Cardiovascular na Diabetes Tipo I – Associação com a Síndrome Metabólica e Nefropatia Diabética

L. Duarte<sup>1</sup>, J. Costa<sup>1</sup>, P. Matos<sup>2</sup>, A. Pereira<sup>2</sup>, I. Almeida<sup>2</sup>, A. Gralho<sup>2</sup>, R. Duarte<sup>1</sup>, J. F. Raposo<sup>1</sup>, J. M. Boavida<sup>1</sup>

Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal, Lisboa

1- Departamento de Diabetologia da APDP

2- Departamento de Cardiologia da APDP

## Resumo

**Introdução e Objectivo:** A neuropatia autonómica cardiovascular (NAC) tem sido associada a um aumento da morbilidade e mortalidade em doentes com diabetes. O objectivo deste estudo foi estimar a prevalência de neuropatia autonómica cardiovascular numa amostra de doentes com diabetes tipo I e avaliar a sua associação com factores de risco cardiovascular isolados, a síndrome metabólica e a nefropatia diabética.

**Material e Métodos:** Foi estudada uma amostra de 209 doentes com diabetes tipo I com mais de 10 anos de evolução. A NAC foi avaliada através de testes de variação da frequência cardíaca (com a inspiração, manobra de Valsalva e levante) e de variação da pressão arterial (com o levante). A síndrome metabólica foi definida segundo os critérios da "International Diabetes Federation" e a nefropatia diabética foi avaliada através da determinação da taxa de excreção urinária da albumina.

**Resultados:** A amostra estudada era constituída por 123 (58.9%) homens, idade média de 37±11 anos e evolução da diabetes de 23.8±7.6 anos. A prevalência global de neuropatia NAC foi de 42.1%. Analisando os subgrupos de doentes com e sem NAC encontramos diferenças estatisticamente significativas no tempo de evolução da diabetes (26±7 vs. 22±8 anos, p<0.001), HbA1c (9.1±1.4 vs. 8.6±1.4%, p=0.007), pressão arterial sistólica (138±19 vs. 129±14mmHg, p<0.001), pressão arterial diastólica (82±13 vs. 79±10mmHg, p=0.024), triglicéridos [95.3 (24.8-608.1) vs. 74.5 (28-290)mg/dl, p=0.001], creatinina sérica [1.08 (0.74-3.9) vs. 0.97 (0.6-2.9)mg/dl, p=0.001], taxa de filtração glomerular (70.7±21.7 vs. 83.8±16.7ml/min/1.73m<sup>2</sup>, p<0.001), prevalência de síndrome metabólica (43.2% vs. 24%, p=0.004) e prevalência de nefropatia diabética (50% vs. 15.1%, p<0.001).

**Conclusão:** O nosso estudo sugere que a neuropatia autonómica cardiovascular está associada ao risco cardiovascular, com aumento da prevalência de síndrome metabólica e nefropatia diabética. Estes dados poderão ter implicações no sentido de uma intervenção médica mais agressiva com o objectivo de melhorar o prognóstico e sobrevida desta população.

## Abstract

**Background and Aims:** Cardiac autonomic neuropathy has been associated with increased morbidity and mortality in patients with diabetes. The aim of this study was to estimate the prevalence of cardiac autonomic neuropathy in a cohort of patients with type I diabetes and evaluate whether it is associated with individual cardiovascular risk factors, with metabolic syndrome and with diabetic nephropathy.

**Materials and Methods:** A cohort of 209 type I diabetic patients with more than 10 years of duration of diabetes was studied. Cardiac autonomic neuropathy was assessed by tests of heart rate variation (during deep breathing, Valsalva and lying-standing change) and of blood pressure variation (with lying-standing change). Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation criteria and diabetic nephropathy was assessed by determination of albumin excretion rate.

**Results:** The cohort was constituted by 123 (58.9%) men, mean age 37±11 years and duration of diabetes 23.8±7.6 years. The overall prevalence of cardiac autonomic neuropathy was 42.1%. Analyzing the subgroups of patients with and without cardiac autonomic neuropathy we found statistically significant differences in duration of diabetes (26±7 vs. 22±8 years, p<0.001), HbA1c (9.1±1.4 vs. 8.6±1.4%, p=0.007), systolic blood pressure (138±19 vs. 129±14mmHg, p<0.001), diastolic blood pressure (82±13 vs. 79±10mmHg, p=0.024), triglycerides [95.3 (24.8-608.1) vs. 74.5 (28-290)mg/dl, p=0.001], serum creatinine [1.08 (0.74-3.9) vs. 0.97 (0.6-2.9)mg/dl, p=0.001], glomerular filtration rate (70.7±21.7 vs. 83.8±16.7ml/min/1.73m<sup>2</sup>, p<0.001), prevalence of metabolic syndrome (43.2% vs. 24%, p=0.004) and prevalence of diabetic nephropathy (50% vs. 15.1%, p<0.001).

**Conclusions:** Our study suggests that cardiac autonomic neuropathy is associated with cardiovascular risk, with increased prevalence of metabolic syndrome and diabetic nephropathy. These findings may have implications in more aggressive medical intervention to improve prognosis and survival in this population.

## INTRODUÇÃO

A neuropatia autonómica cardiovascular (NAC) é uma complicação grave da diabetes que tem sido associada a um au-

mento da morbilidade e mortalidade de etiologia cardiovascular<sup>(1-5)</sup>. O risco de mortalidade em diabéticos com NAC é acrescido cerca de cinco vezes<sup>(6)</sup>. As taxas de prevalência de NAC reportadas na diabetes tipo I variam significativamente, entre 1.3% em indivíduos com diagnóstico recente de diabetes tipo I e sem outras complicações crónicas associadas, no estudo "Diabetes Control and Complication Trial" (DCCT)<sup>(7)</sup>, até 90% numa população de candidatos a transplante pancreático<sup>(8)</sup>. A NAC resulta da lesão das fibras dos nervos autonómicos que enervam o coração e os vasos sanguíneos. Embora os mecanismos patogénicos desta lesão não estejam ainda completamente esclarecidos, a hiperglicémia

### Correspondência:

Léone Duarte

Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal

Rua do Salitre, n.º 118-120

1250-203 Lisboa

Tel.: +351 213816100

Fax: +351 213859371

Email: leoneduarte@gmail.com

crónica, a insuficiência vascular nos vasos que nutrem as fibras nervosas e mecanismos auto-imunes foram sugeridos como tendo uma implicação provável. A lesão das fibras nervosas autonómicas, por sua vez, condiciona uma disfunção no controlo da frequência cardíaca e da dinâmica vascular<sup>(3,5)</sup>. A redução da variação da frequência cardíaca em resposta a estímulos é o indicador mais precoce da NAC e traduz predominantemente uma lesão do sistema nervoso autonómico parassimpático. A hipotensão postural ocorre mais tardiamente, traduzindo uma lesão mais grave do sistema nervoso autonómico simpático<sup>(6)</sup>. As manifestações associadas à disfunção autonómica cardiovascular nos indivíduos com diabetes e que poderiam estar associadas ao aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular incluem a hipotensão ortostática, a intolerância ao exercício físico com uma diminuição da resposta da frequência cardíaca e da pressão arterial e diminuição do débito cardíaco durante o exercício<sup>(9)</sup>, a alteração do controlo central da respiração<sup>(10)</sup>, a isquémia silenciosa do miocárdio e o prolongamento do intervalo QT com associado aumento do risco de morte súbita por arritmias fatais<sup>(11)</sup>.

Múltiplos factores de risco têm sido associados ao desenvolvimento da NAC. O tempo de evolução da diabetes e o mau controlo metabólico a longo prazo são importantes. Durante os 5 anos de seguimento do DCCT, a terapêutica intensiva reduziu a incidência de novos casos de NAC em 53%<sup>(7)</sup>. No entanto, esta intervenção não eliminou completamente o risco de desenvolvimento desta complicação crónica e a alteração da reactividade autonómica cardiovascular pode também ser observada em pacientes jovens com pouco tempo de evolução da diabetes tipo 1, sugerindo que outros factores de risco estão implicados na patogénese da NAC e que outras terapêuticas, para além do controlo glicémico, têm que ser implementadas. No “EURODIAB Prospective Complications Study”, após 7.3 anos de seguimento de 956 indivíduos com diabetes tipo 1, 17% dos doentes que não apresentavam NAC no início desenvolveram esta complicação, representando uma incidência de 23.4 por 1000 indivíduos/ano. O maior risco de desenvolvimento de NAC correlacionou-se com a idade, HbA1c, pressão arterial sistólica, sintomas de tonturas com o levantar e presença de retinopatia e polineuropatia distal simétrica no início do estudo<sup>(12)</sup>. Num estudo prospectivo, realizado no “Steno Diabetes Center”, que pretendia avaliar o valor preditivo da NAC na morbidade e mortalidade cardiovascular em doentes com diabetes tipo 1 com e sem nefropatia diabética, verificou-se uma maior prevalência de NAC nos indivíduos com nefropatia diabética (87% vs. 57%,  $p < 0.001$ ). Neste estudo, após 10.1 anos de seguimento, verificou-se que a NAC é um factor de risco independente para a morbidade e mortalidade cardiovascular nos doentes com diabetes tipo 1 e nefropatia<sup>(4)</sup>.

Tendo em conta a associação da NAC com diversos factores de risco cardiovascular bem estabelecidos é provável que se verifique um efeito sinérgico destas entidades nosológicas no aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular na diabetes de longa evolução.

A síndrome metabólica é um agrupamento de factores de risco cardiovascular que incluem a alteração do metabolismo da glicose (diabetes e pré-diabetes), obesidade abdominal, hipertensão arterial e dislipidémia. Segundo dados da “International Diabetes Federation”, estima-se que um quarto dos adultos a nível mundial padeça desta síndrome. Os indivíduos com síndrome metabólica têm um risco três vezes acrescido de sofrer um evento cardiovascular (enfarte agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral) e um risco duas vezes acrescido de morte precoce devido a um evento cardiovascular, relativamente à população geral<sup>(13)</sup>. O mecanismo etiopatogénico de base da síndrome metabólica é o aumento da resistência à insulina. Embora esta seja uma característica habitualmente associada ao desenvolvimento da diabetes tipo 2, também pode ser observada na diabetes tipo 1<sup>(14)</sup>. O termo “diabetes dupla” define a diabetes tipo 1 em que a insulino-resistência exerce uma acção fisiopatológica importante<sup>(15)</sup>. Relativamente à síndrome metabólica, embora a sua associação com a diabetes tipo 2 tenha vindo a ser extensivamente investigada, a sua prevalência e impacto na diabetes tipo 1 ainda não está bem definida e tem sido objecto de alguns estudos clínicos nos últimos anos<sup>(16-19)</sup>. Vários componentes da síndrome metabólica podem ser observados na diabetes tipo 1 e potencialmente contribuem para um aumento do risco cardiovascular nestes doentes. Numa análise de 514 doentes que participaram no “Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study” a prevalência de síndrome metabólica foi de 8% segundo os critérios da “International Diabetes Federation”, 12% segundo os critérios da “American Heart Association/National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III” (AHA/NCEP ATP III) e 21% segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde. Após um seguimento de 12 anos, as três definições de síndrome metabólica apresentaram uma razoável especificidade ( $\geq 83\%$ ) na predição do desenvolvimento de complicações *major* (doença coronária, insuficiência renal e morte associada à diabetes). No entanto, os componentes isolados de cada definição, e em particular a microalbuminúria, foram melhores factores preditivos destas complicações que a síndrome no seu conjunto<sup>(16)</sup>. No estudo FinnDiane a prevalência de síndrome metabólica foi de 38% nos homens e 40% nas mulheres, e aumentava com o grau de nefropatia diabética e com o pior controlo metabólico<sup>(17)</sup>. No estudo Metascreen a prevalência de síndrome metabólica nos indivíduos com diabetes tipo 1, definida segundo os critérios da “International Diabetes Federation”, foi de 40.8%. Este estudo demonstrou que a síndrome metabólica é um factor de risco independente da presença de nefropatia, neuropatia e doença cardiovascular na diabetes tipo 1<sup>(18)</sup>. A associação entre a síndrome metabólica e a neuropatia foi, até à data, apenas avaliada por este estudo.

Apesar da considerável investigação nesta área ainda permanecem muitas dúvidas acerca da etiologia, patogénese e implicações na morbidade e mortalidade associada à NAC, na diabetes tipo 1. Uma vez estabelecida esta complicação crónica, os tratamentos actualmente disponíveis são essencialmente sintomáticos e frequentemente ineficazes. A NAC

**Quadro I** - Valores normais, *borderline* e anormais nos testes de função autonómica cardiovascular.

Testes	Normal	Borderline	Anormal
<b>Testes que avaliam a função autonómica parassimpática</b>			
Varição da FC durante a Inspiração profunda (FC máxima-mínima em bpm)	≥ 15	11-14	≤ 10
Varição da FC em resposta à manobra Valsalva (índice Valsalva)	≥ 1.21	1.11-1.20	≤ 1.10
Varição da FC em resposta ao levante (índice 30:15)	≥ 1.04	1.01-1.03	≤ 1.00
<b>Teste que avalia a função autonómica simpática</b>			
Varição da PA em resposta ao levante (PAS decúbito – PAS ortostatismo)	≤ 10	11-29	≥ 30

FC: frequência cardíaca; bpm: batimentos cardíacos por minuto; PA: pressão arterial; PAS: pressão arterial sistólica. Adaptado de Ewing *et al.* (12)

tende a ser progressiva e irreversível. Deste modo, o estudo desta prevalente e grave complicação crónica da diabetes e dos potenciais factores de risco a ela associados é de extrema importância para a detecção, vigilância e tratamento precoce dos doentes em risco.

O objectivo do presente trabalho foi estimar a prevalência de neuropatia autonómica cardiovascular numa amostra de doentes com diabetes tipo I de longa evolução e avaliar a sua associação com factores de risco cardiovascular isolados, a síndrome metabólica e a nefropatia diabética.

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra estudada era constituída por 209 indivíduos (123 homens e 86 mulheres) com diabetes tipo I com mais de 10 anos de evolução, aleatoriamente seleccionados dos ficheiros clínicos da nossa instituição. O consentimento informado de todos os doentes e a aprovação para a realização do estudo pela comissão de ética da instituição foram previamente obtidos.

Nesta amostra foram determinados o tempo de evolução da diabetes, a terapêutica em curso, o índice de massa corporal, o perímetro da cintura, a pressão arterial sistólica, a pressão arterial diastólica, a HbA1c, o colesterol total, o colesterol HDL, o colesterol LDL, os triglicéridos, a creatinina sérica, a ureia sérica, a taxa de excreção urinária de albumina, a taxa de filtração glomerular estimada através da equação “Modification of Diet in Renal Disease formula” (MDRD) (20) e a presença de NAC.

A função autonómica foi avaliada testando a resposta reflexa cardiovascular através de três testes de variação da frequência cardíaca, (inspiração profunda, manobra de Valsalva e levante utilizando um método computadorizado previamente validado – NERVE EXPRESS) e um teste de variação da pressão arterial sistólica com o levante, após pelo menos cinco minutos na posição de decúbito. No teste que avalia a variação da frequência cardíaca com a inspiração profunda o doente está deitado e é-lhe pedido para respirar profundamente a um ritmo de seis ciclos/minuto durante um minuto. O resultado é expresso como a média da diferença entre a frequência cardíaca máxima e mínima durante os seis ciclos respiratórios, em batimentos por minuto. Tanto neste como no teste que avalia a variação da frequência cardíaca com a manobra de Valsalva e no que avalia a variação da frequência cardíaca com o levante são determinadas a “ratio” dos intervalos RR no Valsalva e a relação 30:15 na FC. Estes três testes que avaliam a variação da frequência cardíaca em resposta a

estímulos avaliam a integridade do sistema nervoso autonómico parassimpático. No teste que avalia a variação da pressão arterial com o levante, esta é avaliada na posição de decúbito e, novamente, 60 segundos após o levante. A diminuição postural da pressão arterial é expressa pela diferença entre a pressão arterial sistólica em decúbito e a pressão arterial sistólica em ortostatismo. Este teste apenas tem um resultado anómalo quando há uma grave lesão do sistema nervoso autonómico simpático (21).

A resposta a cada um dos testes autonómicos foi categorizada como normal, *borderline* e anormal (Quadro I). A função autonómica foi considerada normal quando os resultados de todos os testes eram normais ou na presença de apenas um teste de função parassimpática *borderline*. A NAC foi diagnosticada na presença de pelo menos um teste anormal ou de pelo menos dois testes *borderline*. A NAC foi ainda classificada como lesão parassimpática precoce na presença de um teste de função parassimpática anormal ou de dois testes *borderline*; lesão parassimpática definitiva na presença de pelo menos dois testes de função parassimpática anormais; e NAC severa, ou lesão parassimpática e simpática combinada, na presença de dois ou mais testes anormais com alteração do teste de variação da pressão arterial. Quando os resultados não se enquadravam em nenhuma destas categorias a avaliação da função autonómica foi classificada como atípica (adaptado de Ewing *et al.*) (21).

A síndrome metabólica foi definida segundo os critérios da “International Diabetes Federation” de 2005 (13). Os doentes foram diagnosticados como tendo síndrome metabólica quando o seu perímetro da cintura era superior ou igual a 94cm nos homens e 80cm nas mulheres e apresentavam pelo menos um dos três seguintes critérios: 1) aumento dos níveis de triglicéridos ≥150mg/dl, ou tratamento específico para esta alteração; 2) diminuição dos níveis de colesterol HDL <40mg/dl nos homens e <50mg/dl nas mulheres, ou tratamento específico para esta alteração; 3) aumento da pressão arterial sistólica ≥130mmHg ou da pressão arterial diastólica ≥85mmHg, ou tratamento específico para a hipertensão arterial previamente diagnosticada. Dado tratar-se de uma amostra de indivíduos com diabetes assumimos que todos preenchiam o critério da hiperglicémia (glicémia em jejum ≥100mg/dl).

A nefropatia diabética foi avaliada através da determinação da taxa de excreção urinária de albumina (em colheita de urina minutada ou colheita de urina de 24 horas) e diagnosticada na presença de microalbuminúria (20-199 µg/minuto

**Quadro II** - Prevalência da neuropatia autonómica cardiovascular.

Neuropatia autonómica cardiovascular	Homens, n (%) n=123	Mulheres, n (%) n=86	Total, n (%) n=209
Neuropatia autonómica cardiovascular*	50 (40.7)	38 (44.3)	88 (42.1)
Precoce†	27 (22)	19 (22.1)	46 (22)
Definitiva‡	14 (11.4)	14 (16.3)	28 (13.4)
Severa§	8 (6.5)	4 (4.7)	12 (5.7)
Atípica¶	1 (0.8)	1 (1.2)	2 (1)

\* A Neuropatia autonómica cardiovascular foi diagnosticada na presença de pelo menos um teste anormal ou de pelo menos dois testes *borderline*.

† Lesão parassimpática precoce definida na presença de um teste de função parassimpática anormal ou de dois testes *borderline*.

‡ Lesão parassimpática definitiva definida na presença de pelo menos dois testes de função parassimpática anormais

§ Neuropatia autonómica cardiovascular severa, ou lesão parassimpática e simpática combinada, definida na presença de dois ou mais testes anormais com alteração do teste de variação da pressão arterial.

¶ Função autonómica classificada como atípica quando os resultados dos testes de função autonómica não se enquadravam em nenhuma das categorias prévias.

ou 30-299 mg/24 horas) ou macroalbuminúria/proteinúria ( $\geq 200 \mu\text{g}/\text{minuto}$  ou  $\geq 300 \text{mg}/24 \text{ horas}$ ), em pelo menos duas de três amostras consecutivas, e na ausência de evidência clínica ou laboratorial de patologia renal de outra etiologia. Na presença de macroalbuminúria/proteinúria os resultados apresentados são relativos à proteinúria determinada numa de colheita de urina de 24 horas.

Determinámos a prevalência global de NAC na nossa amostra e comparámos o subgrupo de indivíduos com NAC e o subgrupo de indivíduos sem NAC relativamente à associação com factores de risco cardiovascular individuais, presença de síndrome metabólica e presença de nefropatia diabética. No subgrupo de indivíduos com NAC, correlacionamos os factores de risco cardiovascular individuais e os parâmetros de função renal com eventuais factores condicionantes - a HbA1c e o tempo de evolução da diabetes.

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* "Statistical Package for the Social Sciences", versão 11.0. São apresentadas estatísticas descritivas com medidas de tendência central e de dispersão (média±desvio padrão para as variáveis com distribuição normal e mediana, máximo e mínimo para as restantes). Na análise comparativa entre grupos foram utilizados o teste t Student e o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas e o teste de independência de  $\chi^2$  para as variáveis categóricas. Para avaliação da correlação entre duas variáveis foi utilizada a correlação de Pearson. O nível de significância estatística considerado foi de  $<0.05$ .

## RESULTADOS

A amostra estudada era constituída pelos 209 indivíduos anteriormente referidos), com idade média de  $37 \pm 11$  anos, tempo de evolução médio da diabetes de  $23.8 \pm 7.6$  anos, HbA1c média de  $8.8 \pm 1.4\%$ , índice de massa corporal médio de  $24.6 \pm 3.4 \text{ kg}/\text{m}^2$  e perímetro da cintura médio de  $84.9 \pm 10$  cm. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre o sexo feminino e masculino em qualquer dos parâmetros analisados.

A prevalência global de NAC foi de 42.1%. No Quadro II es-

tão representadas as prevalências de NAC por categoria e por sexo.

No Quadro III estão representadas as análises comparativas entre o subgrupo de indivíduos com NAC e o subgrupo de indivíduos sem NAC relativamente à associação com factores de risco cardiovascular individuais, presença de síndrome metabólica e presença de nefropatia diabética. O subgrupo com NAC apresentava significativamente maior tempo de evolução da diabetes ( $p<0.001$ ) e pior controlo metabólico ( $p=0.007$ ).

Relativamente aos factores de risco cardiovascular individuais verificou-se no subgrupo com NAC valores significativamente mais elevados de pressão arterial sistólica ( $p<0.001$ ), pressão arterial diastólica ( $p=0.024$ ) e triglicéridos ( $p=0.001$ ). Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois subgrupos relativamente aos níveis de colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL.

**Quadro III** - Análise comparativa entre o subgrupo de indivíduos com NAC e o subgrupo de indivíduos sem NAC relativamente à associação com factores de risco cardiovascular individuais, presença de síndrome metabólica e presença de nefropatia diabética.

Neuropatia autonómica cardiovascular	Subgrupo com NAC	Subgrupo sem NAC	valor p
n	88	121	
Sexo (homens/mulheres) (%)	56.8 / 43.2	60.3 / 39.7	ns
Idade (anos)	$38 \pm 11$	$36 \pm 11$	ns
Duração da diabetes (anos)	$26 \pm 7$	$22 \pm 8$	$< 0.001$
HbA1c (%)	$9.1 \pm 1.4$	$8.6 \pm 1.4$	0.007
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$25 \pm 3.3$	$24 \pm 3.4$	ns
Perímetro da cintura (cm)	$86 \pm 10$	$84 \pm 10$	ns
PAS (mmHg)	$138 \pm 19$	$129 \pm 14$	$< 0.001$
PAD (mmHg)	$82 \pm 13$	$79 \pm 10$	0.024
Colesterol total (mg/dl)	$193.9 \pm 37.9$	$188.4 \pm 32$	ns
HDL colesterol (mg/dl)	52.6 (20.5-126)	55.4 (26.3-96.7)	ns
LDL colesterol (mg/dl)	120 (59-223)	113 (62-190)	ns
Triglicéridos (mg/dl)	95.3 (24.8-608.1)	74.5 (28-290)	0.001
Creatinina sérica (mg/dl)	1.08 (0.74-3.9)	0.97 (0.6-2.9)	0.001
Ureia sérica (mg/dl)	43 (13.4-157)	34.8 (21.9-104)	$< 0.001$
MDRD ( $\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ )	$70.7 \pm 21.7$	$83.8 \pm 16.7$	$< 0.001$
Taxa de excreção urinária de albumina ( $\mu\text{g}/\text{min}$ )*	9.8 (0.7-1980)	4.4 (1.4-293.1)	$< 0.001$
Microalbuminúria ( $\mu\text{g}/\text{min}$ )*	50.7 (24.8-199) (n=23)	53.4 (20.1-142.6) (n=14)	ns
Proteinúria ( $\text{g}/24\text{h}$ )*	1.8 (0.3-6.5) (n=17)	0.7 (0.4-1.1) (n=4)	ns
Prevalência de nefropatia (%)*	50 (n=80)	15 (n=119)	$< 0.001$
Prevalência Síndrome metabólica (%)	43	24	0.004

Resultados expressos em média±desvio padrão, mediana (mínimo-máximo) ou n (%).

\* A taxa de excreção urinária de albumina foi determinada em 199 doentes. Os resultados da taxa de excreção urinária de albumina e microalbuminúria são relativos a uma colheita de urina minutada. O resultado da proteinúria é relativo a uma colheita de urina de 24 horas.

NAC: neuropatia autonómica cardiovascular; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; MDRD: taxa de filtração glomerular estimada pela equação "Modification of Diet in Renal Disease".

A prevalência global de síndrome metabólica na amostra estudada, definida segundo os critérios da “International Diabetes Federation”, foi de 32.1%; 37.2% no sexo feminino e 28.5% no sexo masculino. Esta prevalência foi significativamente mais elevada no subgrupo com NAC (43%) que no subgrupo sem NAC (24%),  $p=0.004$ . No entanto, o índice de massa corporal e o perímetro da cintura não eram significativamente diferentes entre os dois subgrupos.

Relativamente à nefropatia diabética, foi possível analisar dados sobre a excreção urinária de albumina em 199 dos doentes da amostra. A excreção urinária de albumina, em colheita minutada, era significativamente mais elevada no subgrupo com NAC ( $p<0.001$ ). No entanto, analisando separadamente os doentes que apresentavam níveis de excreção urinária de albumina na faixa da microalbuminúria (na colheita de urina minutada) e na faixa da proteinúria (na colheita de urina de 24 horas), a diferença entre os dois grupos já não foi significativa, provavelmente dado o número reduzido de doentes nestas categorias. A prevalência de nefropatia diabética, definida na presença de microalbuminúria ou proteinúria em pelo menos duas de três amostras consecutivas e na ausência de evidência clínica ou laboratorial de patologia renal de outra etiologia, foi significativamente mais elevada no subgrupo com NAC (50%) que no subgrupo sem NAC (15%), ( $p<0.001$ ). Verificaram-se ainda diferenças estatisticamente significativas entre os dois subgrupos relativamente aos parâmetros séricos de função renal. A creatinina ( $p=0.001$ ) e a ureia ( $p<0.001$ ) eram significativamente mais elevadas nos doentes com NAC e a taxa de filtração glomerular, estimada através da equação “Modification of Diet in Renal Disease formula” (MDRD), era significativamente menor nos doentes com NAC ( $p<0.001$ ).

No subgrupo de indivíduos com NAC, os níveis séricos de triglicéridos correlacionaram-se directamente com os níveis de HbA1c, isto é, com o pior controlo metabólico, e inversamente com o tempo de evolução da diabetes. Os níveis de colesterol HDL eram tanto menores quanto maior o tempo de evolução da diabetes. Neste subgrupo, todos os restantes parâmetros não apresentaram correlações estatisticamente significativas com a HbA1c e com a duração da diabetes, consequentemente, admitimos que são independentes destes possíveis factores condicionantes (Quadro IV).

## DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a NAC numa amostra significativa de doentes com diabetes tipo I de longa evolução. Os vários estudos realizados e publicados nesta área apresentam dados muito díspares, nomeadamente em relação à prevalência desta complicação crónica da diabetes. Este facto deve-se às diferentes tipos de *coortes* estudadas, aos diferentes tipos e número de testes utilizados para avaliação da função autonómica e aos diferentes critérios utilizados para definir a disfunção autonómica. Até à data, não existe uma definição e critérios de diagnóstico consensuais para a NAC. O seu diagnóstico baseia-se, deste modo, na combinação dos resultados de testes de função autonómica parassimpática e

**Quadro IV** - Correlação entre factores de risco cardiovascular individuais e parâmetros de função renal com a HbA1c e o tempo de evolução da diabetes no subgrupo de indivíduos com NAC.

p r	HbA1c (%)	Duração da diabetes (anos)
PAS (mmHg)	ns	ns
PAD (mmHg)	ns	ns
Colesterol total (mg/dl)	ns	ns
HDL colesterol (mg/dl)	ns	0.029 - 0.233
LDL colesterol (mg/dl)	ns	ns
Triglicéridos (mg/dl)	0.023 0.243	0.017 - 0.254
Creatinina sérica (mg/dl)	ns	ns
Ureia sérica (mg/dl)	ns	ns
MDRD (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	ns	ns
Taxa de excreção urinária de albumina (µg/min) *	ns	ns
Microalbuminúria (µg/min) *	ns	ns
Proteinúria (g/24h) *	ns	ns

Resultados expressos em média±desvio padrão, mediana (mínimo-máximo) ou n (%).  
\* A taxa de excreção urinária de albumina foi determinada em 199 doentes. Os resultados da taxa de excreção urinária de albumina e microalbuminúria são relativos a uma colheita de urina minutada. O resultado da proteinúria é relativo a uma colheita de urina de 24 horas.

NAC: neuropatia autonómica cardiovascular; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; MDRD: taxa de filtração glomerular estimada pela equação “Modification of Diet in Renal Disease”.

simpática<sup>(5)</sup>. Ewing *et al.* descreveram, em 1982, um método de avaliação da função autonómica baseado em três testes de função autonómica parassimpática (variação da frequência cardíaca em resposta à inspiração profunda, manobra de Valsalva e levante) e dois testes de função autonómica simpática (resposta da pressão arterial ao levante e à preensão manual mantida)<sup>(21)</sup>. Várias combinações destes cinco testes têm sido utilizadas na avaliação da função autonómica. Numa conferência de consenso entre a “American Diabetes Association” e a “American Academy of Neurology”, em 1992, foram elaboradas *guidelines* recomendando a utilização de três testes (variação da frequência cardíaca com a inspiração profunda, manobra de Valsalva e variação postural da pressão arterial) para a avaliação longitudinal do sistema nervoso autonómico cardiovascular<sup>(22)</sup>. No presente estudo foi realizada uma avaliação completa com os três testes dirigidos à avaliação do sistema nervoso autonómico parassimpático e um teste reflectindo a função do sistema nervoso autonómico simpático.

A prevalência de NAC encontrada, 42.1%, é comparável com a de outros estudos previamente publicados<sup>(1,2,23,24)</sup>, mas menor que na análise de 543 doentes reportada por Ewing *et al.* em que foram utilizados os cinco testes de função autonómica<sup>(25)</sup>. A prevalência foi significativamente menor no estudo DCCT, em que variou de 1.3% (no início do estudo no grupo de intervenção primária designado para tratamento convencional) a 23% (após 9 anos de seguimento no grupo de intervenção secundária designado para tratamento convencional)<sup>(26)</sup>. Esta diferença poderá ser em grande parte explicada pelo tempo de evolução médio da diabetes, que no

nosso estudo era de  $23.8 \pm 7.6$  anos e no início do estudo DCCT era de  $2.6 \pm 1.4$  anos no grupo de intervenção primária e de  $8.8 \pm 3.8$  anos no grupo de intervenção secundária. A correlação entre a NAC e a duração da diabetes já está bem estabelecida <sup>(2,27-29)</sup> e foi também confirmada no nosso estudo. Para além da associação com o tempo de evolução da diabetes verificou-se uma associação estatisticamente significativa com a HbA1c. O impacto desfavorável do mau controlo metabólico a longo prazo no desenvolvimento e progressão da NAC é actualmente indiscutível <sup>(2,26,30,31)</sup>. O estudo DCCT demonstrou que o tratamento intensivo da diabetes pode retardar o desenvolvimento e progressão de alterações na função autonómica <sup>(26)</sup>, evidenciando a importância do controlo metabólico também nesta complicação crónica da diabetes.

No "Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study" verificou-se que as mulheres tinham maior risco de NAC que os homens <sup>(24)</sup>. No presente estudo, bem como em outros como o "EURODIAB IDDM Complications Study" <sup>(2)</sup>, não se encontraram diferenças entre sexos. Vários estudos documentaram uma associação entre a idade e a NAC <sup>(2,25,28-30)</sup>, que não foi por nós observada.

Múltiplos factores de risco cardiovascular se correlacionam com a presença de NAC e com o aumento da mortalidade associado a esta complicação crónica da diabetes. No "EURODIAB IDDM Complications Study", após ajuste para a idade, duração da diabetes e HbA1c, observou-se uma correlação significativa da pressão arterial diastólica, colesterol HDL diminuído, triglicéridos e razão colesterol total:colesterol HDL com a NAC <sup>(2)</sup>. No "Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study", verificou-se que a hipertensão, o colesterol LDL e o colesterol HDL diminuído eram factores determinantes independentes da alteração da resposta da frequência cardíaca à inspiração profunda <sup>(24)</sup>. Num estudo realizado por Spallone *et al.* a NAC correlacionava-se com a duração da diabetes, controlo glicémico, menor índice de massa corporal, pressão arterial sistólica, retinopatia e nefropatia <sup>(32)</sup>. No presente estudo encontraram-se igualmente associações entre alguns factores de risco cardiovascular isolados e a presença de NAC, nomeadamente valores significativamente mais elevados de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e níveis séricos de triglicéridos. Os níveis de triglicéridos, no entanto, correlacionaram-se com o pior controlo metabólico no subgrupo com NAC, pelo que este factor é também determinante nos resultados encontrados relativamente a este parâmetro analítico. Por outro lado, na nossa amostra, a pressão arterial sistólica e diastólica não dependem do grau de controlo metabólico nem do tempo de evolução da diabetes neste subgrupo, o que nos leva a supor que existe na realidade uma tendência significativa para níveis mais elevados de pressão arterial sistólica e diastólica nos indivíduos com NAC. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois subgrupos relativamente aos níveis de colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL.

A síndrome metabólica está reconhecidamente associada ao aumento da morbilidade e mortalidade cardiovascular na

diabetes tipo 2. Nos últimos anos, vários estudos focaram o impacto da síndrome metabólica na diabetes tipo 1, demonstrando que a sua presença é um indicador de risco independente do desenvolvimento de complicações crónicas, nomeadamente doença coronária, nefropatia e neuropatia, e de mortalidade associada à diabetes <sup>(16,18)</sup>. A prevalência global de síndrome metabólica na amostra estudada, definida segundo os critérios da "International Diabetes Federation", foi de 32.1%. Esta elevada prevalência foi comparável, embora um pouco inferior, à encontrada nos estudos FinnDiane <sup>(17)</sup> e Metascreen <sup>(18)</sup>. A associação entre a síndrome metabólica e a neuropatia, tanto quanto é do nosso conhecimento, apenas foi demonstrada no estudo Metascreen. No entanto, o parâmetro avaliado neste estudo foi a presença de neuropatia periférica e/ou neuropatia autonómica, e não NAC isoladamente <sup>(18)</sup>. No presente estudo a prevalência de síndrome metabólica foi significativamente mais elevada no subgrupo com NAC (43.2%) que no subgrupo sem NAC (24%), sugerindo uma correlação entre estas duas entidades clínicas. Esta correlação parece lógica, em virtude da associação demonstrada entre alguns dos componentes isolados da síndrome metabólica e a NAC, no entanto, o seu significado e impacto permanecem por definir. No "Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study", após 12 anos de seguimento, os componentes isolados de cada definição de síndrome metabólica, e em particular a microalbuminúria, foram melhores factores preditivos das complicações crónicas que o síndrome no seu conjunto <sup>(16)</sup>.

A associação entre a NAC e vários factores de risco cardiovascular contribui muito provavelmente para a associação significativa que se tem demonstrado entre a NAC e a doença cardiovascular e o consequente aumento da mortalidade nestes doentes. Vários estudos demonstraram inclusivamente que a NAC é um dos marcadores de risco mais importantes de morbilidade e mortalidade cardiovascular na diabetes tipo 1 e tipo 2 <sup>(3,4,33,34)</sup>. A associação entre a disfunção autonómica e a doença cardiovascular poderia ser resultante de mecanismos etiopatogénicos comuns, nomeadamente a isquémia resultante do processo aterosclerótico. A insuficiência vascular nos vasos que nutrem as fibras nervosas foi sugerida como um dos mecanismos fisiopatológicos da NAC. Por outro lado, o sistema nervoso autónomo exerce uma acção fundamental na regulação da frequência cardíaca, pressão arterial e contractilidade miocárdica, e, consequentemente, na homeostase do sistema cardiovascular. A NAC poderia, deste modo, contribuir para a patogénese da doença cardiovascular.

Vários estudos prévios demonstraram uma associação entre a NAC e outras complicações microvasculares, nomeadamente a retinopatia <sup>(12,29,35)</sup> e a nefropatia <sup>(4,31)</sup>. Esta associação pode reflectir mecanismos patogénicos comuns entre estas entidades clínicas. A forte correlação entre a NAC e a elevação da taxa de excreção urinária de albumina foi demonstrada previamente por diversos estudos <sup>(2,30,36)</sup>. No presente estudo, a excreção urinária de albumina, em colheita minutada, era significativamente mais elevada no subgrupo com NAC. No entanto, analisando separadamente os doentes que apre-

sentavam níveis de excreção urinária de albumina na faixa da microalbuminúria e na faixa da proteinúria, a diferença entre os dois grupos já não foi significativa, possivelmente pelo número reduzido de doentes nestas categorias. Também no “EURODIAB IDDM Complications Study” se verificou uma associação entre a NAC e a taxa de excreção urinária de albumina, enquanto variável contínua, e entre a alteração da variação da frequência cardíaca com o levantar e a macroalbuminúria, mas não com a microalbuminúria <sup>(2)</sup>. Por outro lado, alguns estudos apoiaram a hipótese da neuropatia autonómica ser um factor preditivo da deterioração da taxa de filtração glomerular em indivíduos com diabetes tipo I <sup>(37)</sup> e de estar envolvida na patogénese da nefropatia diabética através de alterações na função glomerular nocturna e no aumento da vulnerabilidade renal aos efeitos hemodinâmicos da pressão arterial <sup>(36)</sup>. No entanto, um estudo recente, realizado no “Steno Diabetes Center”, demonstrou que a disfunção autonómica não era um factor promotor do declínio da taxa de filtração glomerular <sup>(4)</sup>. Neste último estudo, a função autonómica foi avaliada, exclusivamente, pela diminuição da frequência cardíaca em resposta à inspiração profunda, enquanto a taxa de filtração glomerular foi avaliada pelo *clearance* plasmático do <sup>51</sup>Cr-EDTA, um método preciso e fiável. Os estudos que encontram uma associação entre a disfunção autonómica e a deterioração da função renal foram realizados com amostras muito reduzidas (35 e 30 doentes), tendo num destes estudos sido utilizada a taxa de excreção urinária de albumina para avaliação da função renal <sup>(36)</sup> e no outro estudo o *clearance* plasmático do <sup>51</sup>Cr-EDTA <sup>(37)</sup>. No estudo por nós realizado, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre o subgrupo de indivíduos com NAC e o subgrupo de indivíduos sem NAC relativamente aos parâmetros séricos de função renal. A creatinina e a ureia eram significativamente mais elevadas nos doentes com NAC e a taxa de filtração glomerular, estimada através da equação “Modification of Diet in Renal Disease formula” (MDRD), era significativamente menor nos doentes com NAC. Estes parâmetros não apresentaram uma correlação com a HbA1c e com o tempo de evolução da diabetes, pelo que as diferenças encontradas parecem ser independentes destes factores. A prevalência de nefropatia diabética, definida na presença de microalbuminúria ou proteinúria em pelo menos duas de três amostras consecutivas e na ausência de evidência clínica ou laboratorial de patologia renal de outra etiologia, foi significativamente mais elevada no subgrupo com NAC (50%) que no subgrupo sem NAC (15%).

O presente estudo apresenta algumas limitações. Trata-se de um estudo transversal e não de um estudo prospectivo, como alguns dos anteriormente referidos, pelo que será importante o seguimento desta amostra para confirmação dos resultados. A função autonómica foi correctamente avaliada, segundo as recomendações actuais <sup>(22)</sup>, através da utilização de testes de avaliação da função autonómica simpática e parassimpática. No entanto, a função glomerular foi avaliada por parâmetros indirectos (MDRD, creatinina, ureia e excreção urinária de albumina), limitando a validação da sua avaliação nesta amostra. A diabetes é uma patologia comple-

xa em que múltiplos factores interactuam, nomeadamente a NAC, a pressão arterial, a dislipidémia, a função renal, factores genéticos, e o próprio controlo metabólico e o tempo de evolução da diabetes, entre outros. É difícil determinar a verdadeira independência de cada um destes factores e, à luz dos conhecimentos actuais, todos parecem contribuir e interagir no aumento da morbidade e mortalidade destes indivíduos.

Em conclusão, o nosso estudo sugere que a NAC está associada ao risco cardiovascular, com aumento da prevalência de síndrome metabólica e de nefropatia diabética. Dada a importante associação da NAC com o aumento da morbidade e mortalidade, sugerimos a sua avaliação regular, através de testes de execução simples, logisticamente aplicáveis na prática clínica diária, principalmente em indivíduos com diabetes com mais de 5 anos de evolução. Esta avaliação poderá ter implicações no sentido de uma intervenção médica mais agressiva, objectivos terapêuticos mais rigorosos e eventual detecção de doença CV oculta em casos onde haja a outros FR clássicos, com o objectivo de melhorar o prognóstico e sobrevida desta população.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. 1980; Q J Med 49: 95-108.
2. Kempler P, Tesfaye S, Chaturvedi N, Stevens LK, Webb DJ, Eaton S et al. – EURODIAB IDDM Complications Study Group. Autonomic neuropathy is associated with increased cardiovascular risk factors: the EURODIAB IDDM complications study. 2002; Diabet Med 19: 900-9.
3. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes – a meta-analysis. 2003; Diabetes Care 26: 1895-1901.
4. Astrup AS, Tarnow LT, Rossing P, Hansen BV, Hilsted J, Parving HH. Cardiac autonomic neuropathy predicts cardiovascular morbidity and mortality in type I diabetic patients with diabetic nephropathy. 2006; Diabetes Care 29: 334-9.
5. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic Autonomic Neuropathy. 2003; Diabetes Care 26: 1553-79.
6. Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: prognosis, diagnosis and treatment. 1994; Diabetes Metab Rev 10: 339-83.
7. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. 1995; Ann Intern Med 122: 561-8.
8. Kennedy WR, Navarro X, Sutherland DER. Neuropathy profile of diabetic patients in a pancreas transplantation program. 1995; Neurology 45: 773-80.
9. Kahn JK, Zola B, Juni JE, Vinik AI. Decrease exercise heart rate and blood pressure response in diabetic subjects with cardiac autonomic neuropathy. 1986; Diabetes Care 9: 389-394.
10. Sobotka PA, Liss HP, Vinik AI. Impaired hypoxic ventilatory drive in diabetic patients with autonomic neuropathy. 1986; J Clin Endocrinol Metab 62: 658-63.
11. Veglio M, Sivieri R, Chinaglia A, Scaglione L, Cavallo-Perin P. QT interval prolongation and mortality in type I diabetic patients: a 5-year cohort prospective study. 2000; Diabetes Care 23: 1381-3.
12. Witte, DR, Tesfaye E, Chaturvedi N, Eaton SEM, Kempler P, Fuller

- JH – EURODIAB Prospective Complications Study Group. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type I diabetes mellitus. 2004; *Diabetologia* 48: 164-171.
13. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome - a new worldwide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. 2006; *Diabet Med* 23:469-80.
  14. DeFronzo RA, Hendler R, Simonson D. Insulin resistance is a prominent feature of insulin-dependent diabetes. 1982; *Diabetes* 31: 795-801.
  15. Teupe B, Bergis K. Epidemiological evidence for “double diabetes”. 1991; *Lancet* 337: 361-2.
  16. Pambianco G, Costacou T, Orchard TJ. The prediction of major outcomes of type I diabetes: a 12-year prospective evaluation of three separate definitions of the metabolic syndrome and their components and estimated glucose disposal rate – the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study experience. 2007; *Diabetes Care* 30: 1248-54.
  17. Thorn LM, Forsblom C, Fagerudd J, Thomas MC, Pettersson-Fernholm K, Saraheimo M et al. Metabolic syndrome in type I diabetes – association with diabetic nephropathy and glycemic control (the FinnDiane study). 2005; *Diabetes Care* 28: 2019-24.
  18. Bonadonna RC, Cucinotta D, Fedele D, Riccardi G, Tiengo A - Metascreen Writing Committee. The metabolic syndrome is a risk indicator of microvascular and macrovascular complications in diabetes – Results of Metascreen, a multicenter diabetes clinic-based survey. 2006; *Diabetes Care* 29: 2701-7.
  19. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Insulin resistance, the metabolic syndrome and complication risk in type I diabetes – “Double diabetes” in the Diabetes Control and Complications Trial. 2007; *Diabetes Care* 30: 707-12.
  20. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW et al. National Kidney Foundation: National Kidney Foundation Practice Guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. 2003; *Ann Intern Med* 139: 137-47.
  21. Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. 1982; *BMJ* 285: 916-8.
  22. American Diabetes Association and American Academy of Neurology. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy: autonomic nervous system testing. 1992; *Diabetes Care* 15: 1095-1103.
  23. Hilsted J, Jensen NB. A simple test for autonomic neuropathy in juvenile diabetics. 1979; *Acta Med Scand* 205: 385-7.
  24. Maser RE, Pfeifer MA, Dorman JS, Kuller LH, Becker DJ, Orchard TJ. Diabetic autonomic neuropathy and cardiovascular risk. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study III. 1990; *Arch Intern Med* 150: 1218-22.
  25. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. 1985; *Diabetes Care* 8: 491-8.
  26. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effects of intensive therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). 1998; *Diabetologia* 41: 416-23.
  27. Bergström B, Lilja B, Österlin S, Sundkvist G. Autonomic neuropathy in type I diabetes: influence of duration and other diabetic complications. 1987; *Acta Med Scand* 222: 147-54.
  28. Masaoka S, Lev-Ran A, Hill LR, Vakili G, Hon EHG. Heart rate variability in diabetes: relationship to age and duration of the disease. 1985; *Diabetes Care* 8: 64-8.
  29. Valensi P, Pariès J, Attali JR: French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity and microangiopathic complications – the French multicenter study. 2003; *Metabolism* 52: 815-20.
  30. Stella P, Ellis D, Maser RE, Orchard TJ. Cardiovascular autonomic neuropathy (expiration and inspiration ratio) in type I diabetes. Incidence and predictors. 2000; *J Diabetes Complications* 14: 1-6.
  31. Reichard P, Jensen-Urstad K, Ericsson M, Jensen-Urstad M, Lindblad LE. Autonomic neuropathy – a complication less pronounced in patients with type I diabetes mellitus who have lower blood glucose levels. 2000; *Diabet Med* 17: 860-6.
  32. Spallone V, Maiello MR, Cicconetti E, Menzinger G. Autonomic neuropathy and cardiovascular risk factors in insulin dependent and non-insulin-dependent diabetes. 1997; *Diab Res Clin Pract* 34: 169-79.
  33. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH: EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type I diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study Group. 2008; *Diabetes Care* 31: 1360-6.
  34. Wheeler SG, Ahroni JH, Boyko EJ. Prospective study of autonomic neuropathy as a predictor of mortality in patients with diabetes. 2002; *Diabetes Res Clin Pract* 58: 131-8.
  35. Krolewski AS, Barzilay J, Warram JH, Martin BC, Pfeifer M, Rand LI. Risk of early-onset proliferative retinopathy in IDDM is closely related to cardiovascular autonomic neuropathy. 1991; *Diabetes* 41: 430-7.
  36. Sundkvist G, Lilja B. Autonomic neuropathy predicts deterioration in glomerular filtration rate in patients with IDDM. 1993; *Diabetes Care* 16: 773-9.
  37. Spallone V, Gambardella S, Maiello MR, Barini A, Frontoni S, Menzinger G. Relationship between autonomic neuropathy, 24-h blood pressure profile, and nephropathy in normotensive IDDM patients. 1994; *Diabetes Care* 17: 578-84.