

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU"CLUJ-NAPOCA

ȘCOALA DOCTORALĂ

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

RISCU ARITMIC LA PACIENTUL CU DIABET ZAHARAT ȘI DISLIPIDEMIE

Doctorand Anamaria Raluca Badea

Conducător de doctorat Prof.Dr.Dumitru Zdrenghea



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	15
1. Aritmogeneza și riscul aritmogen	17
1.1. Principii de electrofiziologie	17
1.2. Mecanisme de producere a aritmiilor cardiace	18
1.3. Clasificarea aritmiilor ventriculare în funcție de mecanismele de producere	19
1.4. Riscul aritmogen	19
1.4.1. Evaluarea riscului aritmogen	19
1.4.1.1. Evaluarea factorilor fiziopatologici	19
1.4.1.2. Identificarea riscului aritmogen prin markeri nonivazivi ai vulnerabilității miocardice	20
1.4.2. Tipuri de studii clinice care vizează stratificarea riscului aritmogen	20
2. Substratul aritmogen în diabetul zaharat	23
2.1. Factorii de risc care constituie substratul aritmogen în diabetul zaharat	23
2.2. Cauzele instabilității electrice miocardice în diabetul zaharat	23
2.3. Mecanismele fiziopatologice ale morții subite aritmice în diabetul zaharat	24
2.4. Modificări aritmogene ale metabolismului miocardic în diabetul zaharat	24
2.4.1. Instabilitatea electrică datorată alterării homeostaziei Ca și Na	24
2.4.2. Alterarea expresiei și funcției de repolarizare a curenților K potasici	25
2.4.3. Cuplarea excitației cu contracția în relație cu alterarea metabolică a homeostaziei Ca	26
2.4.4. Excitabilitatea în relație cu activitatea metabolică prin intermediul canalelor K-ATP dependente	27
2.4.5. Factorul genetic în relația dintre rolul canalelor non-ionice, activitatea metabolică și aritmii	28
2.4.6. Apariția zonelor de nonexcitabilitate prin colapsul mitocondrial	29
2.5. Cardiomiopatia diabetică, factor structural aritmogen	29
2.5.1. Remodelarea matricei extracelulare	29
2.5.2. Afectarea microvasculară	31
2.5.3. Aspecte metabolice particulare	32
2.5.4. Modificările electrofiziologice specifice	32
2.5.5. Fenotipul clinic	33
2.6. Neuropatia diabetică autonomă cardiovasculară, factor funcțional aritmogen	34
2.6.1. Impactul neuropatiei autonome cardiovasculare asupra riscului de moarte subită aritmică	34
2.6.2. Mecanismele patogenice implicate	35
2.6.3. Disfuncția miocardică în prezența neuropatiei autonome cardiovasculare	36
2.6.4. Semnificația clinică a reducerii variabilității frecvenței cardiace	37
3. Monitorizarea ambulatorie electrocardiografică Holter	39
3.1. Tehnica de înregistrare	39
3.2. Avantajele metodei	39
3.3. Implicațiile clinice	40
3.4. Modificări normale ale înregistrărilor electrocardiografice Holter	40
3.5. Indicații particulare	41
3.6. Evaluarea variabilității frecvenței cardiace	41
3.6.1. Importanța analizei variabilității frecvenței cardiace	41
3.6.2. Algoritmi de calcul ai indicilor variabilității frecvenței cardiace	42
3.6.2.1 Algoritmi lineari	42
3.6.2.2. Algoritmi non-lineari	43
3.7. Intervalul QTc	43
3.8. Clasificarea electrocardiografică a aritmiilor ventriculare maligne	45
3.9. Clasificarea Lown a aritmiilor ventriculare	45
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	47
1. Ipoteza de lucru/obiective	49

2. Metodologie generală	50
2.1. Descrierea studiului	50
2.2. Definiții de lucru	50
2.3. Criterii de includere și de excludere	51
2.4. Caracteristicile demografice ale loturilor	51
2.5. Monitorizare, evaluare, achiziția datelor	51
2.5.1. Evaluarea parametrilor biochimici	51
2.5.2. Achiziția datelor	52
2.6. Protocolul monitorizării Holter EKG	52
2.6.1. Aparatura și tehnica utilizată	52
2.6.2. Înregistrarea datelor monitorizărilor Holter EKG	53
2.6.3. Analiza automată a înregistrărilor Holter EKG, etapa de prevalidare a rapoartelor monitorizărilor	55
2.6.4. Analiza vizuală a înregistrărilor Holter EKG, etapa de validare a rapoartelor monitorizărilor	55
2.6.4.1. Analiza ritmului cardiac de bază	55
2.6.4.2. Analiza și diagnosticarea evenimentelor aritmice	57
2.7. Metodologia statistică	62
3. Studiul 1 – Evaluarea prin monitorizare Holter EGK a tulburărilor de ritm și a neuropatiei autonome cardiovasculare la pacienții cu diabet zaharat tip2	63
3.1. Introducere	63
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	64
3.3. Material și metodă	65
3.4. Rezultate	65
3.5. Discuții	78
3.6. Concluzii	84
4. Studiul 2 – Evenimente aritmice la pacienții diabetici tip 2 insulinoțrațați	87
4.1. Introducere	87
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	88
4.3. Material și metodă	88
4.4. Rezultate	89
4.5. Discuții	94
4.6. Concluzii	96
5. Studiul 3 – Relația dintre fracțiunile lipidelor serice și variabilitatea frecvenței cardiace la pacienții cu diabet zaharat tip2 aflați în tratament cu statine	99
5.1. Introducere	99
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	100
5.3. Material și metodă	101
5.4. Rezultate	102
5.5. Discuții	106
5.6. Concluzii	110
6. Studiul 4 – Relația dintre durata intervalului QTc și parametrii variabilității frecvenței cardiace la pacienții diabetici cu ritm sinusal	111
6.1. Introducere	111
6.2. Ipoteza de lucru/obiective	112
6.3. Material și metodă	113
6.4. Rezultate	114
6.5. Discutii	122
6.6. Concluzii	126
7. Concluzii generale	127
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	129
REFERINȚE	131
ABREVIERI	11
Cuvinte cheie aritmii ventriculare, neuropatie autonomă cardiovasculară, cardiomiopatie dismetabolică, diabet zaharart tip2, dislipidemie, variabilitatea frecvenței cardiace, interval QTc.	

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Prima parte a tezei reprezintă o sinteză a datelor din literatură cu privire la conceptele de cardiomiopatie dismetabolică și neuropatie autonomă cardiovasculară în relație cu instabilitatea electrică ventriculară marcată, care are ca efect creșterea riscului aritmic la pacienții cu diabet zaharat de tip 2. De asemenea, în această primă parte se face o trecere în revistă, sistematizată atât a tipurilor tulburărilor de ritm în funcție de mecanismele de producere cât și a markerilor de evaluare a riscului aritmic cunoscuți în prezent.

Aritmiile maligne și moartea subită cardiacă sunt asociate cu prezența diabetului. Este în continuare neclar dacă diabetul zaharat reprezintă factor de risc pentru moartea subită aritmică. Diabetul zaharat este considerat factor de risc pentru majoritatea patologiilor asociate cu prezența aritmiilor, incluzând aici insuficiența cardiacă, boala coronariană și infarctul de miocard. În prezent cercetătorii încearcă să găsească metode de măsurare a acestei susceptibilități crescute pentru moarte subită aritmică la categoria de pacienți diabetici. Deoarece aritmiile maligne au mecanisme multifactoriale de instalare, până în prezent niciunul dintre teste nu s-a dovedit capabil de a identifica indivizii aflați la risc. Boala coronariană a fost depistată în 90% din cazurile de moarte subită, dar chiar dacă s-a demonstrat că boala coronariană are un rol direct în instalarea aritmiilor fatale, mecanismul exact care stă la bază rămâne în continuare necunoscut, fiind posibil ca acesta să fie la rândul său multifactorial.(1) (2) (3) (4)

Neuropatia autonomă cardiovasculară, substratul funcțional aritmogen, este una dintre complicațiile obișnuite și severe asociate diabetului zaharat și este definită ca dereglare a controlului autonom cardiovascular în contextul diabetului zaharat. Statusul hiperglicemic cronic contribuie la progresia disfuncției autonome. (5) (6) (7) (8) În stadiile inițiale, neuropatia autonomă cardiovasculară este caracterizată printr-o creștere a activității simpatice care duce în final la apoptoza cardiomiocitelor și la lezarea miocardului. Pacienții diabetici cu neuropatie autonomă cardiovasculară au risc crescut de a dezvolta cardiomiopatie, aritmii maligne și ischemie silențioasă cu instalarea infarctului miocardic fără durere. (5) (6) (9) Ca rezultat al dereglării funcției autonome cardiovasculare, principala manifestare a neuropatiei autonome cardiovasculare este reducerea variabilității frecvenței cardiace. Manifestările clinice ale neuropatiei autonome cardiovasculare sunt reprezentate de scăderea variabilității frecvenței cardiace atât în repaus cât și în efort, precum și de prezența tahicardiei de repaus. (10) Rezultatele trialului DCCT au demonstrat că un control glicemic riguros reduce progresia neuropatiei autonome cardiovasculare și încetinește atât afectarea microvasculară cât și progresia aterosclerozei coronariene la pacienții cu diabet zaharat tip 1, ceea ce în privința pacienților cu diabet zaharat de tip 2 nu s-a demonstrat.(4)(11) În stadiile avansate se manifestă hipotensiunea ortostatică și intoleranța la efort. Nervul vag este primul nerv lezat și deci activitatea simpatică devine dominantă, iar tahicardia de repaus este primul semn clinic. În evoluție după aproximativ cinci ani de latență, chiar dacă frecvența cardiacă rămâne crescută, se poate observa o regresie a tahicardiei datorată lezării fibrelor nervoase simpatice.(4) (12) Instabilitatea electrică a miocardului ventricular este rezultatul stimulării simpatice în absența opoziției activității vagale. Rezultatele unei meta-analize care a inclus douăsprezece studii, a demonstrat că pacienții cu neuropatie autonomă cardiovasculară au prezentat un risc de două ori mai mare pentru dezvoltarea ischemiei silențioase și a infarctului miocardic, comparativ cu pacienții fără neuropatie autonomă cardiovasculară. (4) (5) (13)

Cardiomiopatia diabetică, substratul structural aritmogen în diabetul zaharat, este o afecțiune particulară prin mecanisme de instalare independente de ateroscleroza coronariană și în evoluție conduce la instalarea insuficienței cardiace. Conceptul de cardiomiopatie diabetică a fost introdus de Rubler în 1972. Definiția actuală a cardiomiopatiei diabetice include toate anomaliile funcționale și structurale ale miocardului la pacienții diabetici care nu prezintă boala coronariană și/sau hipertensiune arterială. (9) (14) Marca histopatologică a cardiomiopatiei diabetice este reprezentată de fibroza perivasculară și interstițială.(15) Cardiomiopatia diabetică, în afara creșterii depunerilor de colagen, este caracterizată printr-o dispoziție interfibrilară de colagen care duce la reducerea complianței ventriculare. (16) Până în prezent dovezile clinice care să vină în sprijinul acestei noțiuni sunt insuficiente însă cercetările au demonstrat că

într-adevar există depozite de colagen miocardic cu dispoziție particulară. (17) Contribuția hipertrofiei cardiomiocitelor în dezvoltarea hipertrofiei ventriculare nu este pe deplin elucidată în prezent. Fragmentele bioptice de miocard uman au indicat că în miocardul diabetic aria de secțiune a cardiomiocitelor este mai mare, la fel este și gradul fibrozei interstițiale în cazul pacienților diabetici comparativ cu populația generală. (17)(18). Aceste modificări structurale la nivelul miocardului diabetic, conduc la o alterare a cuplării excitației cu contracția.

Diabetul are un impact major la nivelul cardiomiocitelor, modificându-le durata potențialului de acțiune. La nivelul cardiomiocitelor s-a constatat o prelungire a duratei potențialului de acțiune și de asemenea o reducere a curentului calcic. O reducere a efluxului de K a fost de asemenea demonstrată pe modele de animale.(19) Intervalul QT reflectă durata depolarizării și repolarizării ventriculare. Majoritatea studiilor au demonstrat că prelungirea duratei intervalului QT s-a dovedit a fi un puternic indicator al prezenței neuropatiei autonome cardiovasculare.(12)(20) Creșterea concentrației de Ca intracelular și dezechilibrul simpato-vagal sunt două din mecanismele care stau la baza instabilității electrice în miocardul diabetic în timpul hiperglicemiei. (21) De asemenea, statusul hiperglicemic duce la o creștere a radicalilor liberi și la o scădere a producției de NO. Datorită reducerii nivelului NO atât K-ATP-aza cât și Ca-ATP-aza sunt inhibate, ceea ce duce la o creștere a nivelului de calciu la nivelul citosolului. Prelungirea intervalului QTc în diabet a fost asociată cu o creștere a nivelului de calciu intracelular. (14)

Durata intervalului QT este considerată factor predictiv pentru toate cauzele de mortalitate atât la pacienții diabetici cât și în populația generală.(9)(22)(23). În prezent durata intervalului QT poate fi utilizată ca metodă obiectivă și simplă de evaluare a pacienților cu risc crescut pentru evenimente cardiovasculare. În mai multe studii, prelungirea duratei intervalului QTc a fost asociată cu fibrilația ventriculară și cu moartea subită. (4)(12)(14) S-a demonstrat că prevalența creșterii duratei intervalului QTc este mai mare la pacienții diabetici comparativ cu populația generală. (24) Studiile cu privire la relația dintre durata QTc și diferiți factori de risc au raportat rezultate mai puțin consistente, dar hipertensiunea arterială a fost identificată ca factor de risc independent pentru prelungirea duratei QTc. (25) Alți factori de risc menționați de literatură care determină creșterea duratei intervalului QTc, sunt vârsta, sexul feminin, statusul hiperglicemic, nivelul insulinemiei, boala coronariană și complicațiile microvasculare ale diabetului. (26)

Analiza variabilității frecvenței cardiace reprezintă una dintre cele mai importante metode de diagnostic ale neuropatiei autonome cardiovasculare. Variațiile frecvenței cardiace se datorează interacțiunii dintre mecanismele de control pe durată scurtă/lungă. O variabilitate redusă a frecvenței cardiace este un semn de alterare a funcției autonome cardiovasculare.(4)(21) Complexele QRS sunt înregistrate pe traseele monitorizărilor Holter EKG și sunt măsurate distanțele dintre ele (intervale RR). Intervalele RR sunt neregulate dacă sunt măsurate în ms, această variație devenind semnificativă dacă este în legătură cu diferite situații fiziologice sau patologice.

Fluctuațiile variabilității frecvenței cardiace reflectă activitatea sistemului nervos autonom. Mecanismele implicate în reglarea funcției aparatului cardiovascular interacționează într-un mod nelinear. Aceasta face posibilă studiarea acestor mecanisme utilizând algoritmi matematici. (7) Variabilitatea frecvenței cardiace poate fi analizată în domeiile de timp și de frecvență. Indicii domeniului de timp (SDNN, SDANN, rMSSD, pNN50) sunt indici statistici rezultați în urma calculelor statistice a intervalelor RR. Indicii domeniului de frecvență sunt cei mai elaborați parametri și evaluarea lor este bazată pe analiza spectrală, care se utilizează pentru evaluarea contribuției funcției sistemului nervos vegetativ asupra variabilității frecvenței cardiace. Indicii domeniului de timp sunt HF, LF, HF/LF. Studiile de până acum au întărit ideea că variabilitatea redusă a frecvenței cardiace reflectă activitatea dominantă a activității sistemului nervos simpatic datorată supresiei modulării vagale. (27) (28).

Reducerea variabilității frecvenței cardiace este o manifestare precoce a neuropatiei autonome cardiovasculare în strânsă legătură cu creșterea riscului aritmic și cu creșterea riscului mortalității. (9)(29) Parametrii variabilității frecvenței cardiace nu sunt definiți, standardizați în prezent pentru diferitele categorii de populație, în funcție de sex și vârstă. (6) (9)(30) Acuratețea indicilor variabilității frecvenței

cardiace este afectată în prezența diverselor tulburări de ritm cum sunt fibrilația atrială și extrasistolele ventriculare frecvente. Analiza corectă a variabilității frecvenței cardiace necesită funcționarea corectă a nodulului atrioventricular și prezența ritmului sinus. (30) Cercetătorii au sugerat că indexul de frecvență înaltă (HF 0.15-0.4 Hz) reflectă modularea vagală în timp ce indexul de frecvență joasă (LF) reflectă atât tonusul simpatic cât și tonusul vagal dar este considerat în principal un parametru ce reflectă tonusul simpatic. (31) (32) În ultimii ani reducerea variabilității frecvenței cardiace s-a dovedit un factor predictiv al evenimentelor cardiovasculare cum sunt infarctul miocardic, accidentul vascular cerebral, moartea subită, puterea sa predictivă dovedindu-se superioară altor factori de risc considerați tradiționali (4) (10) (32). Prin urmare, diagnosticul neuropatiei autonome cardiovasculare are un rol major în stratificarea riscului cardiovascular.

La baza alegerii acestei teme a stat ideea că studiul monitorizării Holter EKG poate furniza informații noi și complexe în ceea ce privește tipul și severitatea evenimentelor aritmice atât atriale cât și ventriculare la pacienții diabetici, asociind elemente complexe de analiză prin monitorizare electrocardiografică continuă de tipul duratei intervalului QTc și a parametrilor de analiză a variabilității frecvenței cardiace. Prin studiul de față, ne-am propus evaluarea riscului aritmic la pacienții diabetici, evaluarea factorilor de risc aritmic și a neuropatiei autonome cardiovasculare la această categorie de pacienți.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Ipoteză generală/Obiective

Ipoteza generală

Pacienții diabetici care prezintă tulburări de ritm constituie un grup cu risc crescut de mortalitate cardiovasculară, reprezintă o categorie aparte datorită contextului etiologic complex și al particularităților terapeutice. Studiul monitorizării Holter EKG poate furniza informații noi și complexe în ceea ce privește tipul și severitatea evenimentelor aritmice atât atriale cât și ventriculare la pacienții diabetici, asociind elemente de analiză prin monitorizare electrocardiografică continuă de tipul duratei intervalului QTc și a parametrilor de variabilității frecvenței cardiace.

Obiective

Obiectivul general al studiului îl reprezintă evaluarea riscului aritmic la pacienții diabetici și dislipidemici, având în vedere premisele fiziopatologice precum și datele din literatură privitoare la această categorie de pacienți cu risc cardiovascular înalt.

Obiectivele specifice:

- Evaluarea incidenței și tipurilor tulburărilor de ritm la pacienții cu DZ tip 2.
- Evaluarea parametrilor variabilității frecvenței cardiace la pacienții cu DZ tip2 în comparație cu populația generală.
- Evaluarea duratei intervalului QTc la pacienții cu DZ tip2 diabetici în comparație cu populația generală.
- Evaluarea factorilor de risc pentru evenimentele aritmice atriale și ventriculare la pacienții diabetici.
- Studiul tulburărilor de ritm la pacienții DZ tip 2 insulinoțrați.
- Evaluarea relației dintre parametrii variabilității frecvenței cardiace și lipidele serice la pacienții cu DZ tip 2 aflați în tratament cu statine

Metodologia generală de cercetare

Studiul a fost de tip caz control al unei cohorte de 97 pacienți cu diabet zaharat de tip 2 care au fost evaluați prin monitorizare electrocardiografică Holter. În paralel s-a studiat un lot de control constituit din 44

de pacienți nediabetici. Pacienții au fost internați în secțiile de cardiologie ale Clinicii de Recuperare Cluj Napoca și ale SCJU Brașov între 2011-2013. Durata studiului a fost de 2 ani. Protocolul studiului a fost evaluat și avizat de comitetul de etică al UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca. În momentul recrutării, fiecare pacient a semnat consimțământul informat conform declarației de la Helsinki.

În ceea ce privește distribuția pe sexe în cadrul lotului studiat de 97 de pacienți cu DZ tip 2, aceasta a fost: 44 bărbați (45.36%) și 53 femei (54.64%). Vârsta medie a fost de 65.71 ± 8.66 ani (de la 48 ani la 83 ani) Distribuția pe sexe în cadrul lotului martor compus din 44 de pacienți a fost de 12 (27.27%) bărbați și 32 femei (72.72%). Vârsta medie a fost de 62.89 ± 10.34 (de la 44 ani la 89 ani)

Pacienții au fost definiți ca diabetici pe baza istoricului de diabet zaharat, pe baza valorilor glicemiei bazale ≥ 126 mg/dl la două determinări sau a administrării terapiei hipoglicemizante orale și/sau a insulinei și a dietei hipoglicidice. Criteriile de excludere au fost reprezentate de: malformații cardiace congenitale (cunoscute anterior sau decelate prin ecografia cardiacă efectuată la momentul intrării în studiu), sindromul coronarian acut ischemic, alterarea hepatică severă (ASAT, ALAT $\geq 2 \times$ VN), afectarea renală severă (creatinina ≥ 2 mg %), au fost excluși de asemenea pacienții fumători și etilici.

Evaluarea biochimică s-a efectuat prin recoltarea probelor de sânge venos în vacumtainere fără gel separator, probele au fost recoltate în condiții bazale, după repaus alimentar de 12 ore. Probele sanguine au fost depozitate la 4°C , au fost ulterior centrifugate pentru colectarea serului. Determinarea parametrilor biochimici s-a efectuat cu aparatul Olympus AU 680. Concentrațiile serice ale LDL-C și HDL-C s-au determinat după precipitare, prin metode enzimatiche specifice. Concentrațiile TG serice, CST-T, glicemiei, acidului uric s-au determinat prin metode colorimetrice enzimatiche. Funcția hepatică s-a evaluat prin dozarea ASAT și ALAT utilizându-se metoda kinetică standardizată IFCC (International Federation for Clinical Chemistry) cu piridoxal fosfat. Funcția renală s-a evaluat prin dozarea creatininei serice prin metoda Jaffe. Evaluarea completă a funcției renale s-a efectuat prin calcularea eGFR fiecărui pacient, folosind ecuația MDRD [$e\text{GFR} = 175 \times \text{creatinina}^{-1.154} \times \text{varsta}^{-0.203} \times 0.742$ (pentru femei)]. IMC s-a calculat pe baza formulei greutate (kg)/înălțime² (m²).

Pentru monitorizarea Holter EKG am utilizat sistemul de monitorizare Labtech cu 3 canale V1, V5 și aVF. Software-ul utilizat pentru analiza datelor a fost Cardiospy PC SW/EV 5.02.06.02 Evaluarea automată a înregistrărilor a presupus că la finalul primei analize softul aparatului să clasifice în mod automat complexe normale și toate complexe considerate patologice. La finalul primei analize am verificat selectarea, am marcat artefactele și am clasificat evenimentele patologice.

Analiza vizuală a înregistrărilor a reprezentat etapa esențială în vederea interpretării corecte a monitorizărilor. Analiza vizuală a constat în stabilirea ritmului cardiac de bază, marcarea extrasistolelor supraventriculare și ventriculare. Analiza monitorizărilor Holter EKG s-a efectuat cu privire la variabilitatea frecvenței cardiace, evenimentele aritmice și ischemia miocardică. Participanții au fost sfătuiți să nu consume alimente/ băuturi cu conținut de cafeină și să-și mențină activitățile zilnice obișnuite.

Analiza automată a extrasistolelor supraventriculare și ventriculare s-a efectuat prin setările aparatului care ulterior a marcat evenimentele precoce, le-a clasificat și le-a numărat raportându-le în tabele și grafice pe interval orare. Diagnosticul extrasistolelor supraventriculare a fost efectuat pe precocitatea apariției complexelor QRS înguste, cu morfologie normală. Complexele ectopice ventriculare au fost considerate complexe QRS cu morfologie anormală, largi, acestea au fost analizate vizual în vederea eliminării artefactelor. Monitorizările Holter EKG au fost analizate în privința apariției și frecvenței evenimentelor aritmice. Ischemia miocardică a fost diagnosticată pe baza modificărilor segmentului ST (subdenivelarea descendentă sau orizontalizată) ≥ 0.1 mV cu o durată de 1 minut cu minimum două episoade pe 24h.

Evaluarea rapoartelor monitorizării Holter EKG a vizat următorii parametri ai variabilității frecvenței cardiace în domeniul de timp: SDNN (deviația standard a intervalelor NN), rMSSD (media geometrică a diferențelor dintre intervalele NN successive), SDANN (deviația standard a mediei intervalelor

NN pe durata de 5 min) ale căror valori sunt raportate în ms și pNN50 (procentul diferențelor de intervale NN successive mai mari de 50 ms). Parametrii variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de frecvență au fost: puterea totală (TP), raportul LF/HF, LF (domeniul de frecvență joasă 0.04-0.15 Hz), HF (domeniul de frecvență înaltă 0.15-0.5 Hz). Parametrul HF reflectă în special activitatea sistemului nervos parasimpatic în timp ce LF este în principal legat de activitatea vegetativă simpatică (33) Raportul LF/HF a fost calculat pentru fiecare pacient, măsurând dezechilibrul simpatovagal. (33) Valorile HF, LF sunt raportate în unități normalizate (n.u.) și în cifre absolute (c.a.).

Baza de date s-a realizat cu ajutorul aplicației Microsoft Office Excel 2007. Pentru analiza statistică și descrierea datelor s-a utilizat programul SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, USA). Normalitatea distribuției datelor cantitative s-a verificat cu testul Kolmogorov - Smirnov. Pragul acceptat de eroare a fost $\alpha=0.05$.

Pentru descrierea datelor cantitative continue, normal distribuite s-a folosit media aritmetică \pm deviația standard (DS), iar pentru cele care nu au avut o distribuție gaussiană s-au folosit, pe lângă media aritmetică și deviația standard, mediana și cuartilele 1 și 3. Datele calitative sunt exprimate ca frecvențe (numeric și/sau în procente).

Pentru compararea mediilor variabilelor cantitative corespunzătoare a două grupuri independente s-a folosit testul t Student (t-test) în cazul în care variabilele au fost normal distribuite. Testele nonparametrice Mann - Whithney și Kruskal - Wallis au fost utilizate pentru a compara mediile a două grupuri independente, în care variabilele au avut o distribuție anormală.

Testele Chi-Square (pentru frecvențe peste 5 în tabelul de contingență) sau Fisher Exact (pentru frecvențe sub 5 în tabelul de contingență) s-au folosit pentru compararea variabilelor calitative. S-a calculat rata șansei (OD-odds ratio) și intervalul de încredere asociat (95% CI) corespunzător pragului de eroare acceptat.

Pentru analiza corelațiilor s-a calculat coeficientul de corelație Pearson (pentru variabile calitative continue normal distribuite) și respectiv coeficientul de corelație Spearman (pentru variabile calitative continue care nu au o distribuție gaussiană). Coeficientul de corelație al lui Kendall s-a calculat pentru situațiile în care peste 25% din valori au fost egale. S-au folosit testele de semnificație pentru estimarea coeficienților de corelație (cu $\alpha=0.05$) și s-au utilizat regulile lui Colton pentru interpretarea empirică. Graficele au fost realizate în SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, USA) și Microsoft Excel 2010.

Studiul 1. Evaluarea prin monitorizare Holter EKG a tulburărilor de ritm și a neuropatiei autonome cardiovasculare la pacienții cu diabet zaharat tip 2

Ipoteza de lucru

Monitorizarea ambulatorie Holter EKG permite evaluarea ritmului cardiac, a frecvenței cardiace, a prezenței și dinamicii aritmiilor cardiace oferind o perspectivă asupra activității electrice cardiace atât în timpul activităților zilnice cât și în timpul nopții.

Obiectivele studiului

- Evaluarea incidenței fibrilației atriale la pacienții cu DZ tip 2 în raport cu populația generală
- Evaluarea incidenței și tipului tulburărilor de ritm ventriculare la pacienții cu DZ tip 2
- Evaluarea duratei intervalului QTc la pacienții DZ tip 2 comparativ cu populația generală.
- Evaluarea parametrilor variabilității frecvenței cardiace la pacienții cu DZ tip 2 comparativ cu populația generală.
- Determinarea factorilor predictivi ai tulburărilor de ritm ventriculare și ai fibrilației atriale la pacienții cu DZ tip 2

Material și metodă

Studiul s-a efectuat pe un lot de studiu de 97 de pacienți diabetici tip 2 și un lot martor de 44 de pacienți nediabetici. Toți pacienții au fost evaluați prin monitorizare Holter EKG (Labtech 3 canale) pe o durată de cca 24 ore, conform protocolului amintit. Evaluarea rapoartelor monitorizării Holter EKG a vizat: parametrii variabilității frecvenței cardiace în domeniul de timp și de frecvență, evenimentele aritmice atriale și ventriculare, durata intervalului QTc.

Tipul studiului observațional

Rezultate

În ceea ce privește rezultatele analizei evenimentelor aritmice atriale totale se constată că pacienții diabetici au prezentat un număr mai mare al evenimentelor atriale totale (497.75 ± 1036.57) comparativ cu pacienții nediabetici (109.96 ± 362.45) diferența fiind semnificativă statistic cu valoarea $p = 0.05$. Nu se constată diferențe semnificative statistic între cele două loturi în privința numărului CPL A și al episoadelor de TPSV, deși numărul mediu al acestora a fost mai mare pentru lotul pacienților diabetici.

FiA a avut o incidență de cca două ori mai mare în lotul pacienților diabetici, fiind prezentă la 35 (36.08%) pacienți diabetici și la 8 (18.18%) pacienți din grupul martor, $p = 0.032$. Pacienții diabetici au prezentat un număr semnificativ mai mare de ESV izolate (1105.69 ± 3211.16) comparativ cu lotul martor (112.07 ± 147.8), cu valoarea $p = 0.03$.

Numărul mediu al episoadelor de BIG a fost semnificativ mai mare pentru lotul pacienților diabetici (78.98 ± 367.21) comparativ cu lotul martor (1.45 ± 3.02), valoarea $p = 0.01$. În lotul pacienților diabetici s-a constatat de asemenea prezența unui număr semnificativ mai mare al CPL V în perioada de veghe 3.59 ± 12.05 în comparație cu lotul martor 0.34 ± 1.57 , valoare $p = 0.02$. Numărul mediu al episoadelor de TVNS a fost scăzut la ambele loturi de pacienți, dar a fost semnificativ mai mare pentru lotul pacienților diabetici 0.29 ± 1.59 comparativ cu lotul martor 0.03 ± 0.17 , cu o valoare $p = 0.04$.

Analiza parametrilor variabilității frecvenței cardiace analizați pentru cele două loturi de pacienți cu ritm sinus indică valori semnificativ mai reduse pentru lotul pacienților diabetici a tuturor parametrilor analizați în domeniul de timp cu excepția rMSSD 24h, rMSSD somn, rMSSD veghe.

Se constată că valorile indicilor variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de frecvență (HF și LF) exprimate în cifre absolute sunt mai reduse în lotul pacienților diabetici. Nu se constată diferențe semnificative statistic între valorile indicilor HF și LF exprimate în unități normalizate, nici în privința raportului LF/HF pentru cele două loturi. Valorile puterii totale (T.P.) exprimate în cifre absolute sunt semnificativ mai reduse pentru lotul pacienților diabetici.

S-a constatat că AV medie/24 h a fost semnificativ mai crescută pentru lotul studiat (66.47 ± 12.22) comparativ cu cea a lotului martor (60.32 ± 13.53), diferența fiind semnificativă statistică, cu valoarea $p = 0.02$.

În urma analizei duratei intervalului QTc pentru cele două loturi se constată că pacienții diabetici prezintă interval QTc prelungit (443.61 ± 38.69), pacienții lotului martor având o valoare medie normală a duratei intervalului QTc (433.48 ± 23.64), diferența având semnificație clinică și statistică cu o valoare $p = 0.02$

A fost aplicat testul de regresie logistică pentru a determina impactul mai multor parametrii biochimici și parametrii determinați prin monitorizare Holter EKG asupra numărului de evenimente ventriculare (fiziologice ≤ 6 ESV/h versus patologice ≥ 6 ESV/h) pentru lotul de 97 pacienți diabetici. Modelul conține patru variabile independente (vârsta, QTc, acid uric, HDL-C). Modelul care conține acești predictorii este semnificativ statistic, $\chi^2(5) = 25.19$, $p < 0.001$. (tabel I) Modelul poate explica între 23.3 și 31.3% din varianța statusului fiziologic/patologic și poate clasifica corect 67.4% din cazuri.

Primul predictor semnificativ a fost acidul uric, cu OR=1.43, $p = 0.02$. Vârsta a fost al doilea predictor semnificativ, cu OR=1.15, $p = 0.001$. Al treilea predictor semnificativ a fost durata intervalului QTc, cu OR=1.04, $p = 0.008$. OR pentru HDL-C are valoare subunitară de 0.98, determinând o relație inversă.

Modelul cu cea mai bună capacitate predictivă pentru diagnosticul fibrilației atriale a fost unul multimarker care a cuprins cinci variabile independente (vârsta, acid uric, TG, HDL-C, și p NN50). Modelul

care conține acești predictorii este semnificativ statistic, $\chi^2(5)=62.35$, $p<0.001$. Modelul poate explica între 48.1 și 65.8% din varianța statusului de fibrilație atrială și poate clasifica corect 86.3% din cazuri. (tabel II)

Cel mai puternic predictor al statusului de fibrilație atrială (FiA) este acidul uric cu OR=1.63, $p=0.014$. Acest rezultat înseamnă că la creșterea valorii acidului uric cu o unitate, probabilitatea ca pacientul să fie diagnosticat cu FiA crește de 1.63 ori. Al doilea predictor semnificativ este vârsta, cu OR=1.1, $p=0.031$. Al treilea predictor semnificativ este pNN50, cu OR=1.07, $p=0.001$. Predictorii care nu au contribuit semnificativ statistic la model sunt valorile TG și ale HDL-C.

Tabel I. Predictorii ai evenimentelor aritmice ventriculare în lotul pacienților diabetici

PARAMETRII	β	S.E.	df	Sig. (p)	Exp(β)OR	95% CI
Vârsta (ani)	.13	.04	1	.001	1.14	1.05-1.24
HDL-C (mg/dl)	-.01	.008	1	.03	.98	.96-.99
Acid uric (mg/dl)	.36	.16	1	.02	1.43	1.04-1.96
QTc (ms)	.048	.01	1	.008	1.04	1.01-1.08

Tabel II. Predictorii ai fibrilației atriale în lotul pacienților diabetici

PARAMETRII	β	S.E.	df	Sig. (p)	Exp(β)OR	95% CI
Acid uric (mg/dl)	.48	.19	1	.01	1.62	1.10-2.39
Vârsta (ani)	.09	.04	1	.03	1.09	1.10-1.19
HDL-C (mg/dl)	-.02	.03	1	.05	.98	.99-1.04
pNN50 (%)	.06	.01	1	.000	1.07	1.03-1.10
TG (mg/dl)	-.007	.006	1	.20	.99	.98-1.00

Concluzii.

- Bolnavii diabetici reprezintă un grup de subiecți cu risc cardiovascular crescut.
- Prevalența hipertensiunii arteriale este mult mai mare în lotul pacienților diabetici în comparație cu lotul martor. Aceeași constatare este adevărată pentru supragreutate și hiperuricemie, în schimb dislipidemia și valorile LDL colesterolului sunt similare pentru cele două grupuri.
- Boala cardiacă ischemică, sub diversele sale forme, predomină la pacienții diabetici, chiar dacă datorită numărului mic de cazuri diferența incidenței infarctului miocardic sechelar nu este semnificativă statistic.
- Insuficiența cardiacă este constatată la un procent aproximativ dublu în cazul bolnavilor cu diabet zaharat, sugerând existența unei componente semnificative datorate cardiomiopatiei diabetice.
- Tulburările de ritm, atât atriale cât și ventriculare au o prevalență crescută la bolnavii cu diabet zaharat.
- Tulburările supraventriculare de ritm sunt dominate de fibrilația atrială, a cărei prevalență este aproximativ de două ori mai mare pentru lotul de pacienți diabetici.
- Tulburările ventriculare de ritm sunt reprezentate, în marea lor majoritate, de extrasistolele ventriculare izolate și sistematizate, mult mai frecvente la bolnavii diabetici. Aceeași constatare este valabilă în cazul TV nesuținute, dar numărul de cazuri cu TV este mic pentru a putea trage concluzii valabile.
- Atât tulburările de ritm ventriculare cât și cele supraventriculare predomină în starea de veghe, susținând rolul hiperactivității simpatice în apariția lor.
- În același sens pledează variabilitatea frecvenței cardiace atât în domeniul de timp cât și în cel de frecvență, variabilitatea frecvenței cardiace fiind semnificativ redusă la pacienții diabetici prin majoritatea parametrilor investigați.
- Scăderea variabilității frecvenței cardiace este cu mare probabilitate, și un indicator al existenței neuropatiei diabetice.
- Scăderea variabilității frecvenței cardiace se corelează atât cu prezența tulburărilor de ritm atriale cât și cu cele ventriculare, reprezentând un predictor al acestora.
- Bolnavii cu diabet zaharat prezintă o creștere a duratei medii a intervalului QT având o medie a QTc peste 440 msec, în timp ce pentru lotul de pacienți nediabetici media duratei intervalului QTc se situează sub aceasta valoare.
- Durata intervalului QTc a reprezentat pentru lotul studiat un predictor independent al evenimentelor aritmice ventriculare.
- Variabilitatea scăzută a frecvenței cardiace și prelungirea intervalului QT ar putea avea un efect sinergic proaritmogen la bolnavii cu diabet zaharat.
- Acidul uric a reprezentat un predictor al evenimentelor aritmice în general cu OR 1.44 (95%CI 1.04-1.97) pentru evenimentele aritmice ventriculare, valoarea predictivă pentru FiA fiind chiar mai mare cu OR 1.62 (95%CI.1.10-2.39)
- Frecvența cardiacă de repaus crescută împreună cu frecvența cardiacă maximă și rezerva cronotropă scăzute, reprezintă în același timp, elemente de diagnostic pentru neuropatia vegetativă diabetică.

Studiu 2. Evenimente aritmice la pacienții diabetici tip2 insulinoțratiți

Ipoțeza de lucru.

S-a demonstrat cã insulina este un hormon cu acțiune pleiotropã, cu multiple efecte nu numai metabolice ci și la nivelul sistemului nervos central și la nivel cardiovascular. (34) Studiile experimentale pe preparatele izolate de cord-pulmon au demonstrat cã insulina are efect de creștere a contractilitãții cardiace și de creștere a tensiunii arteriale, dar în prezent mecanismele care stau la baza efectului inotrop pozitiv al insulinei sunt doar parțial cunoscute. (32)

S-a demonstrat ca în diabetul zaharat anomalia de repolarizare manifestatã prin prelungirea intervalului Qtc este datoratã reducerii capacitãții de semnal a PIK3, enzima responsabilã de reglarea duratei potențialului de acțiune la nivelul cardiomiocitelor. Este cunoscut efectul aritmogen al radicalilor liberi de oxigen care altereazã funcția pompelor ionice producând astfel tulburãri electrofiziologice care constituie trigger pentru instalarea aritmiilor maligne. (35) Studiile au demonstrat cã insulina are rolul de a preveni leziunile datorate stresului oxidativ prin reducerea formãrii radicalilor liberi pe calea PIK3-Akt exercitând astfel și un efect antiapoptotic. (13)(35)(36)

Obiectivele studiului:

- Evaluarea incidenței și tipului evenimentelor aritmice la pacienții diabetici de tip 2 aflați în terapie insulinicã
- Evaluarea parametrilor variabilitãții frecvenței cardiace la pacienții diabetici insulinoțratiți.
- Evaluarea duratei intervalului QTc la pacienții diabetici insulinoțratiți
- Evaluarea corelațiilor între evenimentele ventriculare patologice (≥ 6 ESV/h) și parametrii biochimici (glicemie, LDL-C, HDL-C, CST-T, TG), insulinoțrapie și terapia ADO/dietã

Material și metodã

Din lotul inițial de 97 pacienți cu diabet zaharat tip 2 s-a extras un lot de 71 de pacienți. Toți pacienții au fost monitorizați Holter EKG conform protocolului amintit. Tuturor pacienților le-au fost recoltate probe de sânge în condiții bazale în vederea dozãrii parametrilor biochimici și metabolici. În funcție de terapia hipoglicemiantã urmatã, grupul studiat a fost împãrțit în două subgrupuri. Primul subgrup a cuprins pacienții cu terapie insulinicã, al doilea subgrup a cuprins pacienții cu dietã hipocaloricã și/sau terapie hipoglicemiantã oralã. Au fost excluși din studiu: pacienții care urmau terapie antiaritmiciã (inclusiv digoxin), pacienții care prezentau stadiu avansat de boala renalã cronicã, afectare hepaticã severã precum și pacienții cu manifestãri clinice de insuficiență cardiacã NYHA III și IV.

Rezultate

În urma analizei rapoartelor monitorizãrilor urmãrind tipul și incidența tulburãrilor aritmice s-a constatat cã numãrul total de evenimente aritmice ventriculare a fost semnificativ mai redus în grupul pacienților insulinoțratiți (201.81 ± 392.17) comparativ cu cel al grupului pacienților care urmau dieta hipocaloricã și/sau se aflau în terapie cu antidiabetice orale (976.98 ± 2358.09 , valoarea $p=0.01$). Pacienții diabetici aflați în terapie insulinicã au prezentat un numãr mediu semnificativ mai redus al extrasistolelor ventriculare izolate (192.27 ± 367.17) comparativ cu pacienții grupului fãrã terapie insulinicã (960.55 ± 2339.95)

Numãrul mediu al cupletelor ventriculare a fost semnificativ mai redus pentru pacienții insulinoțratiți comparativ cu pacienții fãrã terapie insulinicã (1.09 ± 2.38 versus 7.35 ± 27.15 , $p=0.04$). Numãrul episoadelor de bigeminism a fost semnificativ mai redus în grupul insulinoțratat comparativ cu grupul aflat în regim hipocaloric și/sau medicație antidiabeticã oralã (3.45 ± 11.12 vs. 50.03 ± 244.47 , valoarea $p=0.05$). În privința numãrului mediu al episoadelor de tahicardie ventricularã nesuștinutã nu s-a constatat o diferență semnificativã între cele două grupuri. Ambele grupuri au prezentat un numãr redus de episoade de tahicardie ventricularã.

Durata medie a intervalului QTc a depășit valoarea considerată patologică de 440 ms în grupul pacienților diabetici cu dietă hipoglicemiantă și/sau antidiabetice orale (442.1 ±26.9). Durata medie a intervalului QTc pentru grupul pacienților aflați în terapie insulinică a fost de 438±27.3. Diferența nu a fost statistic semnificativă între cele două grupuri, această diferență având însă semnificație clinică.

Evenimentele aritmice ventriculare patologice (≥6 ESV/h) au prezentat o corelație slab pozitivă cu valorile LDL-C (r= 0.12, p=0.03) și de asemenea o corelație slab pozitivă cu valorile glicemiei (r= 0.11 p= 0.04). La grupul studiat a fost găsită o corelație slab negativă între numărul evenimentelor aritmice ventriculare patologice și terapia insulinică (r=-0.10, p=0.04). Dieta hipocalorică și terapia cu antidiabetice orale nu s-au corelat cu numărul evenimentelor aritmice ventriculare patologice.

Concluzii

- Patologia cardiovasculară (hipertensiunea arterială, boala cardiacă ischemică, insuficiența cardiacă) nu diferă semnificativ la diabeticii cu și fără tratament cu insulină.
- Spectrul dislipidemic este similar pentru cele două subgrupuri, cu excepția trigliceridelor, net scăzute la bolnavii insulinotratați.
- Frecvența cardiacă de reapus a fost net scăzută la grupul pacienților diabetici tratați cu insulină sugerând efectul protector miocardic al acesteia.
- Numărul extrasistolelor supraventriculare a fost semnificativ mai redus la diabeticii tratați cu insulină, dar nu și prevalența FiA care a fost similară pentru cele două subgrupuri.
- Prevalența aritmiilor ventriculare a fost semnificativ scăzută la bolnavii tratați cu insulină.
- Valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace atât în domeniul de timp cât și în cel de frecvență nu au prezentat diferențe semnificative între cele două subgrupuri, neexplicând diferențele înregistrate pentru prevalența aritmiilor.
- Intervalul QTc, a cărui durată a fost net prelungită la subiecții tratați cu ADO, a fost normalizat la diabeticii tratați cu insulină, oferind o posibilă explicație pentru protecția antiaritmică.
- Rezultatele obținute sugerează că tratamentul cu insulină ar putea fi benefic nu doar pentru prevenirea cardiomiopatiei diabetice și a neuropatiei vegetative autonome, dar și pentru protecția antiaritmică.
- Reducerea riscului cardiovascular necesită evaluarea completă a tuturor factorilor de risc. De aceea, terapia hipoglicemiantă individualizată devine esențială în cazul pacienților diabetici cu boli cardiovasculare concomitente.
- Pe baza datelor studiului nostru putem afirma că insulina exercită efecte cardioprotectoare, constatându-se o îmbunătățire a frecvenței cardiace și o durată a intervalului QTc ≤ 440 ms la grupul pacienților diabetici tip 2 aflați în terapie cu insulină.
- Pacienții diabetici aflați în tratament cu insulină au prezentat un număr redus de evenimente aritmice ventriculare, nu s-a constatat o diferență semnificativă în privința numărului evenimentelor aritmice atriale.
- Reducerea riscului cardiovascular necesită evaluarea completă a tuturor factorilor de risc. De aceea, terapia hipoglicemiantă individualizată devine esențială în cazul pacienților diabetici cu boli cardiovasculare concomitente.

Studiu 3. Relația dintre fracțiunile lipidelor serice și variabilitatea frecvenței cardiace la pacienții cu diabet zaharat tip 2 în tratament cu statine

Ipoteza de lucru

Scăderea variabilității frecvenței cardiace s-a dovedit a fi legată de prezența bolii cardiovasculare, de incidența și severitatea bolii cardiace ischemice, de prezența insuficienței cardiace sistolice dar și de factorii de risc cardiovasculari. (6) (18)(29)

Printre factorii de risc studiați s-au regăsit și diferitele componente ale lipidelor serice, însă studiile cu privire la legătura dintre fracțiunile lipidelor serice și variabilitatea frecvenței cardiace au oferit rezultate mai puțin concludente. Ne-am pus problema dacă rezultatele discordante din literatură cu privire la relația dintre fracțiunile lipidelor serice și variabilitatea frecvenței cardiace pot fi datorate medicației hipolipemiente aplicate pacienților diabetici și dislipidemici.

Obiectivul studiului

Obiectivul studiului a constat în evaluarea relației dintre profilul lipidic și variabilitatea frecvenței cardiace la pacienții diabetici și dislipidemici aflați în tratament cu statine.

Material. Metodă

Din cohorta inițială (de 97 de pacienți cu diabet zaharat tip 2) am extras un lot alcătuit din 81 de pacienți care se aflau în tratament hipolipemiant cu statine. Toți pacienții au fost monitorizați Holter EKG conform protocolului.

Criteriile de excludere au fost reprezentate de existența bolii renale și hepatice în stadii avansate, insuficiența cardiacă NYHA stadiile III și IV, sindromul coronarian acut ischemic.

Rezultate

Valorile medii ale LDL-C au depășit valorile recomandate de ghidurile ADA (37) și AHA(38), respectiv 100 mg/dl și au depășit substanțial valoarea optimă de 70 mg/dl recomandată de ghiduri pentru pacienții diabetici care prezintă boli cardiovasculare. Valorile LDL-C au depășit valoarea optimă recomandată de ghiduri la 77 (93%) de pacienți, iar 51 (62%) dintre pacienți au prezentat valori ale LDL-C ce au depășit valoarea de 100 mg/dl.

La analiza univariată aplicată pentru evaluarea corelațiilor dintre parametrii variabilității frecvenței cardiace (analizați în domeniile de timp și de frecvență) și valorile lipidelor plasmatice am constatat că în ceea ce privește parametrii variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de timp valoarea medie a SDNN (marker al variabilității globale) s-a corelat slab negativ cu valoarea medie a TG serice ($\rho = -0.12$, $p = 0.01$). De asemenea, valoarea medie a SDNN în perioada de veghe s-a corelat slab negativ cu valoarea medie a TG serice ($\rho = -0.19$, $p = 0.03$). Am găsit o corelație slab negativă între valorile medii ale rMSSD pe 24 h, respectiv rMSSD veghe cu valorile medii ale CST-T ($\rho = -0.19$, $p = 0.01$; respectiv $\rho = -0.2$, $p = 0.001$). Valoarea medie a LDL-C a prezentat o corelație slab negativă atât cu valorile rMSSD pe 24h cât și cu rMSSD veghe ($\rho = -0.18$, $p = 0.02$; respectiv $\rho = -0.19$, $p = 0.001$). Valoarea medie a HDL-C nu s-a corelat cu niciuna dintre valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de timp. Valorile medii ale pNN 50 pe 24h, în perioadele de somn și veghe nu s-au corelat cu niciuna dintre valorile lipidelor plasmatice.

În ceea ce privește indicii variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de frecvență s-a constatat că valoarea medie a indicelui LF/HF în veghe a prezentat corelații slab pozitive atât cu valorile medii LDL-C cât și cu valorile medii ale CST-T ($\rho = 0.16$, $p = 0.01$ respectiv $\rho = 0.17$, $p = 0.001$). Valoarea medie a indicelui LF/HF în veghe nu a prezentat corelații cu valorile medii ale TG. Nu am găsit nicio corelație între valoarea medie a LF/HF în somn și niciuna dintre valorile lipidelor plasmatice. Am găsit corelații slabe negative între valoarea medie a HF în veghe atât cu valorile CST-T cât și cu valorile LDL-C ($\rho = -0.18$, $p = 0.01$, respectiv $\rho = -0.18$, $p = 0.03$).

Concluzii

- Tratatamentul cu statine al bolnavului diabetic este conform recomandărilor ghidurilor de specialitate, din punct de vedere procentual, dar valorile fracțiunilor lipidice depășesc țintele optime la peste jumătate dintre pacienți.
- Valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace sunt scăzute la lotul tratat cu statine față de valorile raportate în studiile anterioare pentru lotul martor.
- În cazul variabilității frecvenței cardiace în domeniul de timp nu s-au înregistrat corelații semnificative cu fracțiunile lipidice, corelații raportate de alte studii la bolnavii dislipidemici cu sau fără diabet zaharat. O excepție o reprezintă corelația slab negativă înregistrată în stare de veghe, între valorile SDNN și valorile trigliceridelor serice.
- Indicii variabilității frecvenței cardiace în domeniul de frecvență s-au corelat slab pozitiv, fără semnificație înaltă, cu valorile medii ale colesterolului seric total și ale LDL colesterolului.
- Rezultatele sugerează că terapia cu statine poate reduce deprecierea funcției sistemului nervos vegetativ, secundară dislipidemieii.
- Nu poate fi exclus un efect antiaritmie direct al statinelor, pentru confirmarea acestuia fiind necesare studii ulterioare.

Studiu 4. Relația dintre durata intervalului QTc și parametrii variabilității frecvenței cardiace la pacienții diabetici cu ritm sinusal

Ipoteza de lucru

Intervalul QT reflectă durata depolarizării și repolarizării miocardice. În majoritatea studiilor clinice s-a demonstrat că prelungirea duratei intervalului QT (QTc) este un indicator specific al neuropatiei autonome cardiovasculare. (12)(39)(40) (41) De aceea prelungirea intervalului QTc poate fi utilizată ca metodă rapidă și simplă de a depista populația cu risc crescut pentru evenimente cardiovasculare.

Obiectivele studiului

- Evaluarea relației dintre factorii de risc cardiovasculari și durata intervalului QTc mediu.
- Evaluarea relației dintre durata intervalului QTc și parametrii variabilității frecvenței cardiace la pacienții diabetici tip 2.
- Evaluarea tipului și incidenței tulburărilor de ritm la pacienții în relație cu durata intervalului QTc (QTc \geq 440 ms vs. QTc < 440 ms)

Material. Metodă

Din lotul de 97 de pacienți cu diabet zaharat am extras 62 de pacienți diabetici care au întrunit criteriul de includere, respectiv pacienți diabetici cu ritm sinusal. Lotul martor a fost alcătuit din 36 de pacienți fără diabet zaharat. Criteriile de excludere au fost reprezentate de: fibrilația atrială paroxistică sau cronică, existența bolii renale sau hepatice în stadii avansate, insuficiența cardiacă NYHA stadiile III și IV și sindromul coronarian acut ischemic.

Toți pacienții au fost monitorizați Holter EKG pe durata a 24 de ore, conform protocolului amintit. Măsurarea intervalului QT s-a efectuat automat, intervalul QT fiind măsurat de la începutul complexului QRS la sfârșitul undei T. Durata intervalului QT este dependentă de frecvența cardiacă iar această valoare este corectată pe baza formulei Bazett, $QTc = QT + 0.00175$ (frecvența cardiacă - 60). Datorită faptului că datele din literatura sunt controversate în privința duratei maxime normale a intervalului QTc, am considerat ca patologic intervalul QTc mediu cu durata \geq 440msec.

Rezultate

La repartiția pacienților în funcție de durata intervalului QTc mediu se constată că un număr semnificativ mai mare de femei au prezentat o durată medie a intervalului QTc mediu ≥ 440 ms, cu OR 3.42 (95% CI 1.2 – 9.79), $p=0.02$.

În urma analizei monitorizărilor Holter EKG în ceea ce privește tipul și media evenimentelor aritmice s-a constatat că numărul mediu al extrasistolelor ventriculare izolate (> 6 ESV/h) a fost mai mare în lotul pacienților diabetici cu QTc ≥ 440 ms comparativ cu lotul pacienților cu QTc <440 (2244.21 \pm 3724 vs 1683.31 \pm 2494.5, $p=0.04$). Numărul extrasistolelor ventriculare izolate în somn a fost de asemenea mai mare pentru pacienții cu QTc mediu ≥ 440 ms (676.8 \pm 998 vs. 432 \pm 502, $p=0.05$). Se constată că numărul mediu al episoadelor de bigeminism pe toată durata monitorizării a fost mai mare în grupul pacienților cu QTc ≥ 440 ms. (74.1 \pm 343.34 vs. 15.39 \pm 35.98, $p=0.03$). În perioada de veghe pacienții diabetici cu durata QTc ≥ 440 ms au prezentat un număr semnificativ mai mare al episoadelor de bigeminism (57.15 \pm 255.58 vs. 12.6 \pm 27.01, $p=0.04$). Numărul mediu al cupletelor ventriculare în perioada de veghe a fost semnificativ mai mare pentru lotul pacienților diabetici cu durata QTc ≥ 440 ms (7.3 \pm 23.42 vs. 5.32 \pm 15.12, $p=0.05$). Nu s-au constatat diferențe semnificative între cele două grupuri în privința numărului episoadelor de bigeminism și al cupletelor ventriculare pe durata somnului.

În ceea ce privește valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace se constată că valoarea medie ale SDNN pe toată durata monitorizării, marker al variabilității globale, a fost mai scăzută pentru grupul pacienților cu durata intervalului QTc mediu ≥ 440 ms (112.45 \pm 38 vs. 122.64 \pm 45.41, $p= 0.05$). De asemenea se constată că valoarea medie a SDNN atât în perioada de somn cât și în veghe a fost mai redusă la grupul pacienților cu durata QTc ≥ 440 ms. Valorile medii ale celorlalți parametri analizați în domeniul timp (rMMSD, pNN 50) nu diferă între cele două grupuri. Nu s-au constatat diferențe semnificative între cele două grupuri în privința valorilor parametrilor variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de frecvență.

La analiza univariată pentru evaluarea corelațiilor între parametrii variabilității frecvenței cardiace și durata intervalului QTc, am constatat că valoarea medie a SDNN în perioada de veghe a prezentat o corelație negativă cu durata intervalului QTc mediu ($r=-0.25$, $p=0.01$). De asemenea între valoarea medie a SDNN pe toată durata monitorizării și durata intervalului QTc am găsit o corelație slab negativă ($r=-0.14$, $p=0.04$). Valoarea medie a SDANN în veghe a prezentat o corelație slab negativă cu durata QTc mediu ($r=-0.18$, $p=0.03$). Valorile celorlalți parametri ai variabilității frecvenței cardiace analizați în domeniul de timp (rMMSD și pNN50) nu s-au corelat cu durata intervalului QTc.

Analizând corelațiile dintre parametrii variabilității frecvenței cardiace și durata QTc mediu ≥ 440 ms am găsit o corelație slab negativă între valoarea medie a SDNN în veghe și durata QTc mediu ≥ 440 ($r=-0.32$, $p=0.04$). Am găsit de această dată o corelație moderată negativă între valoarea medie a SDNN în veghe și durata intervalului QTc ≥ 460 ms ($r= -0.58$, $p=0.01$). Între valoarea medie a SDNN pe toată durata monitorizării și durata QTc ≥ 460 ms am găsit de asemenea o corelație moderat negativă ($r=-0.5$, $p=0.03$). Între valoarea medie a SDANN în veghe și durata QTc ≥ 460 ms am găsit de această dată o corelație moderată negativă ($r=-0.59$, $p=0.02$). Valoarea medie a SDANN pe toată durata monitorizării a prezentat de această dată o corelație moderat negativă cu durata QTc ≥ 460 ms ($r=-0.5$, $p=0.04$). Între pNN50, rMSSD și durata intervalului QTc nu am găsit nicio corelație.

Se constată că, la o durată QTc mai mare, puterea corelațiilor crește, aceasta constatându-se pentru ambii parametri ai domeniului de timp (SDNN, SDANN) atât pe toată durata monitorizării cât și în veghe. Între valorile pNN50, rMSSD și durata intervalului QTc nu am găsit nicio corelație.

Concluzii

- Creșterea duratei intervalului QTc s-a corelat cu scăderea variabilității frecvenței cardiace la pacienții diabetici.
- Datele noastre evidențiază existența unei relații lineare între severitatea neuropatiei autonome cardiovasculare și gradul prelungirii intervalului QTc la pacienții cu diabet zaharat tip 2.

- Pacienții diabetici cu durata QTc ≥ 440 ms au prezentat un număr mai mare al evenimentelor aritmice ventriculare (extrasistole ventriculare izolate, cuplete ventriculare, episoade de bigeminism).
- Nu s-a constatat o diferență semnificativă în privința numărului episoadelor de tahicardie ventriculară între lotul pacienților diabetici cu QTc ≥ 440 ms și lotul pacienților diabetici cu QTc < 440 ms.
- Creșterea duratei QTc ≥ 440 ms s-a constatat în special la femei comparativ cu bărbații cu OR 3.42 (95% CI 1.2 – 9.79), p=0.02.

Concluzii generale

- Bolnavii diabetici reprezintă un grup de subiecți cu risc cardiovascular crescut. Prevalența patologiei cardiovasculare (hipertensiunea arterială, cardiopatia ischemică și insuficiența cardiacă) este mult mai mare în lotul pacienților diabetici în comparație cu lotul martor.
- Tulburările de ritm, atât atriale cât și ventriculare au o prevalență crescută la bolnavii cu diabet zaharat.
- Tulburările supraventriculare de ritm sunt dominate de fibrilația atrială, a cărei prevalență este aproximativ de două ori mai mare pentru lotul de pacienți diabetici.
- Tulburările ventriculare de ritm sunt reprezentate, în marea lor majoritate, de extrasistolele ventriculare izolate și sistematizate, mult mai frecvente la bolnavii diabetici. Aceeași constatare este valabilă în cazul TV nesuținute, dar numărul de cazuri cu TV este mic pentru a putea trage concluzii valabile.
- Atât tulburările de ritm ventriculare cât și cele supraventriculare predomină în starea de veghe, susținând rolul hiperactivității simpatică în apariția lor.
- În același sens pledează variabilitatea frecvenței cardiace atât în domeniul de timp cât și în cel de frecvență, variabilitatea frecvenței cardiace fiind semnificativ redusă la pacienții diabetici prin majoritatea parametrilor investigați.
- Scăderea variabilității frecvenței cardiace se corelează atât cu prezența tulburărilor de ritm atriale cât și ventriculare, reprezentând un predictor al acestora.
- Bolnavii cu diabet zaharat prezintă o creștere a duratei medii a intervalului QT având o medie a QTc peste 440 msec, în timp ce pentru lotul de pacienți nedietici media duratei intervalului QTc se situează sub această valoare.
- Durata intervalului QTc a reprezentat pentru lotul studiat de pacienți diabetici un predictor independent al evenimentelor aritmice ventriculare.
- Variabilitatea scăzută a frecvenței cardiace și prelungirea intervalului QT ar putea avea un efect sinergic proaritmogen la bolnavii cu diabet zaharat.
- Acidul uric a reprezentat un predictor al evenimentelor aritmice în general cu OR 1.44 pentru evenimentele aritmice ventriculare, valoarea predictivă pentru FiA fiind chiar mai mare OR 1.62.
- Frecvența cardiacă de repaus a fost net scăzută la diabeticii tratați cu insulină, sugerând efectul protector miocardic al acesteia.
- Numărul extrasistolelor supraventriculare a fost semnificativ mai redus la diabeticii tratați cu insulină, dar nu și prevalența FiA care a fost similară pentru cele două subgrupuri (insulină vs dietă și /sau ADO).
- Prevalența aritmiilor ventriculare a fost semnificativ scăzută la bolnavii tratați cu insulină vs dietă și /sau ADO.

- Valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace atât în domeniul de timp cât și în cel de frecvență nu au prezentat diferențe semnificative între cele două subgrupuri (insulină vs dietă și /sau ADO), neexplicând diferențele înregistrate pentru prevalența aritmiilor.
- Intervalul QTc, a cărui durată a fost net prelungită la subiecții tratați cu ADO, a fost normalizat la diabeticii tratați cu insulină, oferind o posibilă explicație pentru protecția antiaritmică.
- Rezultatele obținute sugerează că tratamentul cu insulină ar putea fi benefic nu doar pentru prevenirea cardiomiopatiei diabetice și a neuropatiei vegetative autonome, dar și pentru protecția antiaritmică.
- În cazul variabilității frecvenței cardiace în domeniul de timp la pacienții aflați în terapie cu statine, nu s-au înregistrat corelații semnificative cu fracțiunile lipidice, corelații raportate de alte studii la bolnavii dislipidemici cu sau fără diabet zaharat. O excepție o reprezintă corelația slab negativă înregistrată în stare de veghe, între valorile SDNN și valorile trigliceridelor serice.
- La pacienții aflați în terapie cu statine indicii variabilității frecvenței cardiace în domeniul de frecvență s-au corelat slab pozitiv, fără semnificație înaltă, cu valorile medii ale colesterolului seric total și ale LDL colesterolului.
- Rezultatele sugerează că terapia cu statine poate reduce deprecierea funcției sistemului nervos vegetativ, secundară dislipidemiei.
- Nu poate fi exclus un efect antiaritmie direct al statinelor, pentru confirmarea acestuia fiind necesare studii ulterioare.
- Durata intervalului QTc s-a corelat negativ cu valorile parametrilor variabilității frecvenței cardiace.
- Rezultatele evidențiază existența unei relații lineare între reducerea variabilității frecvenței cardiace și gradul prelungirii intervalului QTc la pacienții cu diabet zaharat tip 2.
- Pacienții diabetici cu durata QTc ≥ 440 ms au prezentat un număr mai mare al evenimentelor aritmice ventriculare (extrasistole ventriculare izolate, cuplete ventriculare, episoade de bigeminism).
- Nu s-a constatat o diferență semnificativă în privința numărului episoadelor de tahicardie ventriculară între lotul pacienților diabetici cu QTc ≥ 440 ms și lotul pacienților diabetici cu QTc < 440 ms.

Bibliografie

1. Bergner DW, Goldberger JJ. Diabetes mellitus and sudden cardiac death: what are the data? *Cardiol J.* 2010;17:117-129.
2. Thomas KE, Josephson ME. The role of electrophysiology study in risk stratification of sudden cardiac death. *Prog Cardiovasc Dis.* 2008;51:97-105.
3. Gaede P, Vedel P, Larsen N Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348:383-93.
4. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SEM Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 2005; 352:341-50.
5. Gerritsen J, Dekker JM, TenVoorde BJ Impaired autonomic function is associated with increased mortality, especially in subjects with diabetes, hypertension, or a history of cardiovascular disease. The HOORN Study. *Diabetes Care* 2001; 24:1793-8.
6. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; 26: 1553–1579.
7. Tarvainen MP, Cornforth DJ, Kuoppa P, Lipponen JA, Jelinek HF. Complexity of heart rate variability in type 2 diabetes - effect of hyperglycemia *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2013;2013:5558-61.

8. Tarvainen MP, Laitinen TP, Lipponen JA, Cornforth DJ, Jelinek HF. Cardiac autonomic dysfunction in type 2 diabetes – effect of hyperglycemia and duration disease *Front Endocrinol* 2014 Aug 8;5:130. doi: 10.3389/fendo.2014.00130. eCollection 2014.
9. Bellmann B, Tschöpe C. Heart failure. Cardiovascular autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *Herz*. 2014; 39(3):306-11. doi: 10.1007/s00059-014-4093-2.
10. Navarro X, Kennedy WR, Sutherland DE. Autonomic neuropathy and survival in diabetes mellitus: effects of pancreas transplantation. *Diabetologia*. 1991; 34(Suppl 1):S108–S112.
11. DCCT. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *Diabetologia*. 1998; 41:416–423.
12. Dimitropoulos G, Tahrani AA, Stevens MJ. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2014 15;5(1):17-39.
13. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2003;6:1895–1901.
14. Zaccardi F, Khan H, Laukkanen JA. Diabetes mellitus and risk of sudden cardiac death: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2014 Aug 26. pii: S0167-5273(14)01650-7. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.08.105.
15. Van Hoeven KH, Factor SM A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 1998; 82:848–855.
16. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA Advanced glycation end products. Sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 2006;114:597–605.
17. Falcao-Pires I, Hamdani N, Borbely A, Gavina C, Schalkwijk CG, van der Velden J, et al. Diabetes mellitus worsens diastolic left ventricular dysfunction in aortic stenosis through altered myocardial structure and cardiomyocyte stiffness. *Circulation* 2011;124:1151–1159.
18. Farrell C, Moran J. Comparison of comorbidities in patients with pre-diabetes to those with diabetes mellitus type 2. *Ir Med J*. 2014;3:72-4.
19. Gallego M, Alday A, Urrutia J, Casis O Transient outward potassium channel regulation in healthy and diabetic hearts. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87:77–83.
20. Whitsel EA, Boyko EJ, Siscovick DS Reassessing the role of QT(c) in the diagnosis of autonomic failure among patients with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2000; 23: 241–247.
21. Li X, Jiang YH, Jiang P, Yang JL, Ma DF, Yang CH. Effect of Guizhi Decoction ([symbols; see text]) on heart rate variability and regulation of cardiac autonomic nervous imbalance in diabetes mellitus rats. *Chin J Integr Med*. 2014; 20(7):524-33.
22. Veglio M, Bruno G, Borra M. Prevalence of increased QT interval duration and dispersion in type 2 diabetic patients and its relationship with coronary heart disease: A population-based cohort. *J Intern Med*, 2002; 251: 317–324.
23. Veglio M, Sivieri R, Chinaglia A, Scaglione L, Cavallo- Perin P QT interval prolongation and mortality in type 1 diabetic patients: a 5-year cohort prospective study. *Diabetes Care*. 2000; 23:1381–1383.
24. Veglio M, Giunti S, Stevens LK, Fuller JH, Perin PC Prevalence of Q-T interval dispersion in type 1 diabetes and its relation with cardiac ischemia: the EURODIAB IDDM complications study group. *Diabetes Care* 2002; 25:702–707.
25. Nagy K, Sipos E, El Hadj Othmane T. Heart rate variability is significantly reduced in non-diabetic patients with hypertension. *Orv Hetil*. 2014;155(22):865-70. doi: 10.1556/OH.2014.29886.

26. Festa A, D'Agostino R, Rautaharju R, Mykkänen L, Haffner SM. Relation of systemic blood pressure, left ventricular mass, insulin sensitivity, and coronary artery disease to QT interval duration in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *American Journal of Cardiology*. 2000; 86: 1117–1122.
27. Rolim LC, SáJ R, Chacra AR, Dib SA. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: risk factors, clinical impact and early diagnosis. *Arq Bras Cardiol* 2008; 90:23–31.
28. Rolim LC, deSouza JST, Dib SA. Tests for early diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy: critical analysis and relevance. *Front. Endocrinol*. 2013; 4:173-178.
29. Chow E, Bernjak A, Williams S, Fawdry RA, Hibbert S, Freeman J, Sheridan PJ, Heller SR. Risk of cardiac arrhythmias during hypoglycemia in patients with type 2 diabetes and cardiovascular risk. *Diabetes*. 2014 May; 63(5):1738-47. doi: 10.2337/db13-0468.
30. Eagle KA, Berger PB, Calkins H, Chaitman BR, Ewy GA, Fleischmann KE et al. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task force of European society of cardiology and the north American society of pacing and electrophysiology. *Eur Heart J*. 1996; 17:354–381.
31. Malliani A, Pagani M, Lombardi F. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84:1482- 92.
32. Pop-Busui R. What Do We Know and We Do Not Know About Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Diabetes. *J Cardiovasc Transl Res*. 2012; 5:463–478.
33. Pagani M, Lombardi F, Malliani A. Heart rate variability: disagreement on the markers of sympathetic and parasympathetic activities. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:951-953.
34. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovascular Research*. 2004; 61: 448–460.
35. Da-Silva WS, Gomez-Puyou A. Mitochondrial bound hexokinase activity as a preventive antioxidant defense: steady-state ADP formation as a regulatory mechanism of membrane potential and reactive oxygen species generation in mitochondria. *J. Biol. Chem*. 2004; 279: 39846–39855.
36. Zobali F, Avci A. Effects of vitamin A and insulin on the antioxidative state of diabetic rat heart: a comparison study with combination treatment. *Cell Biochem Funct*. 2002; 20: 75– 80.
37. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2013. *Diabetes Care*. 2013 ;36(suppl 1):S11-S66.
38. Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, Bairey M, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol.
39. Bianco HT, Izar MC, Póvoa RM, Bombig MT, Fonseca HA, Helfenstein T et al. Left ventricular hypertrophy and QTc dispersion are predictors of long-term mortality in subjects with type 2 diabetes. *Int J Cardiol*. 2014 Aug 12. pii: S0167-5273(14)01461-2. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.07.251.
40. El-Menyar AA. Dysrhythmia and electrocardiographic changes in diabetes mellitus: pathophysiology and impact on the incidence of sudden cardiac death. *J Cardiovasc Med*. 2006;7:580-585.
41. Ewing DJ, Boland O, Neilson JM, Cho CG, Clarke BF. Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients. *Diabetologia* 1991; 34: 182–185.

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ –NAPOCA

DOCTORAL SCHOOL

PhD THESIS ABSTRACT

ARRHYTHMIC RISK IN TYPE 2 DIABETIC AND DYSLIPIDAEMIC PATIENTS

PhD student **Anamaria Raluca Badea**

PhD coordinator **Prof.Dr.DumitruZdrenghea**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	15
1. Arrhythmogenesis and arrhythmic risk	17
1.1. Principles of electrophysiology	17
1.2. Mechanisms of cardiac arrhythmias	18
1.3. Classification of ventricular arrhythmias according to the developing mechanisms	19
1.4. Arrhythmic risk	19
1.4.1. Assessment of arrhythmic risk	19
1.4.1.1. Pathophysiological factors evaluation	19
1.4.1.2. Noninvasive markers of myocardial vulnerability used for arrhythmogenic risk evaluation	20
1.4.2. Types of clinical trials targeting arrhythmogenic risk	20
2. Arrhythmogenic substrate in diabetes mellitus	23
2.1. Risk factors that constitute arrhythmogenic substrate in diabetes	23
2.2. The etiology of myocardial electrical instability in diabetes	23
2.3. Pathophysiological mechanisms of sudden arrhythmic death in diabetes	24
2.4. Arrhythmogenic changes in myocardial metabolism in diabetes	24
2.4.1. Electrical instability due to alteration of Ca and Na homeostasis	24
2.4.2. Altered expression and function of repolarization K currents	25
2.4.3. Excitation contraction coupling in relation to altered Ca homeostasis	26
2.4.4. Myocardial excitability in relation to metabolic activity via K-ATP dependent channels	27
2.4.5. Genetic factor in the relationship between non-ionic channels, metabolic activity and arrhythmias	28
2.4.6. Nonexcitability areas due to mitochondrial collapse	29
2.5. Diabetic cardiomyopathy the arrhythmogenic structural factor	29
2.5.1. Remodeling extracellular matrix	29
2.5.2. Microvascular damage	31
2.5.3. Metabolic particular aspects	32
2.5.4. Specific electrophysiological changes	32
2.5.5. Clinical phenotype	33
2.6. Cardiovascular autonomic diabetic neuropathy the functional arrhythmogenic factor	34
2.6.1. Impact of cardiovascular autonomic neuropathy on sudden arrhythmic death risk	34
2.6.2. Pathogenic involved mechanisms	35
2.6.3. Myocardial dysfunction in the presence of cardiovascular autonomic neuropathy	36
2.6.4. Clinical significance of heart rate variability reduction	37
3. Ambulatory electrocardiographic Holter monitoring	39
3.1. Recording technique	39
3.2. Advantages of the method	39
3.3. Clinical implications	40
3.4. Normal changes on electrocardiographic Holter monitoring	40
3.5. Particular indications	41
3.6. Assessment of heart rate variability	41
3.6.1. Importance of heart rate variability analysis	41
3.6.2. Algorithms used to determine heart rate variability indices	42
3.6.2.1. Linear algorithms	42
3.6.2.2. Non-linear algorithms	43
3.7. QTc interval	43
3.8. Electrocardiographic classification of malignant ventricular arrhythmias	45
3.9. Low classification of ventricular arrhythmias	45
PERSONAL CONTRIBUTION	47
1. General hypothesis / general objectives	49
2. General research methodology	50
	25

2.1. Study design	50
2.2. Working definitions	50
2.3. Inclusion and exclusion criteria	51
2.4. Demographic characteristics of the groups	51
2.5. Monitoring, evaluation, data acquisition	51
2.5.1. Evaluation of biochemical parameters	51
2.5.2 Data acquisition	52
2.6. Holter ECG monitoring protocol	52
2.6.1. Equipment and technique	52
2.6.2. Recording of ECG Holter monitoring	53
2.6.3. Automatic analysis of Holter ECG recordings, prevalidation phase of monitoring reports	55
2.6.4. Visual analysis of Holter ECG recordings, validation phase of monitoring reports	55
2.6.4.1. Analysis of basic cardiac rhythm	55
2.6.4.2. Analysis and diagnosis of arrhythmic events	57
2.7. Statistical methodology	62
3. Study 1 – ECG Holter monitoring evaluation of cardiac arrhythmias and cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes	63
3.1. Introduction	63
3.2. Hypotesis/Objectives	64
3.3. Material and method	65
3.4. Results	65
3.5. Discussion	78
3.6. Conclusions	84
4. Study 2 – Arrhythmic events in type 2 diabetic patients on insulin therapy	87
4.1. Introduction	87
4.2. Hypotesis/Objectives	88
4.3. Material and method	88
4.4. Results	89
4.5. Discussion	94
4.6. Conclusions	96
5. Study 3 – Relationship between heart rate variability indexes and lipid profile in type 2 diabetic patients on statin therapy	99
5.1. Introduction	99
5.2. Hypotesis/Objectives	100
5.3. Material and method	101
5.4. Results	102
5.5. Discussion	106
5.6. Conclusions	110
6. Study 4 – Relationship between QTc duration and heart rate variability parameters in diabetic patients with sinus rhythm	111
6.1. Introduction	111
6.2. Hypotesis/Objectives	112
6.3. Material and method	113
6.4. Results	114
6.5. Discussion	122
6.6. Conclusions	126
7. General conclusions	127
8. Originality. Inovative contributions	129
REFERENCES	131
ABBREVIATIONS	11
APPENDIX	xx

Key words: ventricular arrhythmias, atrial fibrillation, cardiovascular autonomic neuropathy, diabetic cardiomyopathy, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia, heart rate variability, QTc interval

THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

The first part of the thesis presents a synthesis of the literature referring to diabetic cardiomyopathy and cardiovascular autonomic neuropathy concepts in relation to ventricular electric instability leading to an increased arrhythmic risk in type 2 diabetic patients.

Malignant arrhythmias and sudden cardiac arrhythmic death have been associated with diabetes. It is still unclear whether diabetes represents a risk factor for sudden cardiac arrhythmic death. Diabetes is also considered a risk factor for most of all morbidities associated with arrhythmias, including heart failure, coronary artery disease and myocardial infarction. Researchers are trying to find methods for measuring this susceptibility to cardiac arrhythmic death. Because malignant arrhythmias have a multifactorial development, till present no single test is capable to identify individuals at risk. Coronary artery disease was found in 90% of sudden arrhythmic death cases but even it has been shown that coronary artery disease exhibits a direct role in the development of fatal arrhythmias, it is till unknown the exact mechanism which provoke this condition which may be also multifactorial. (1) (2) (3) (4)

Cardiac autonomic neuropathy (CAN), the functional arrhythmogenic substrate is one of the most common and severe complications associated with diabetes mellitus and it is defined as an impairment of autonomic control of the cardiovascular system in the setting of diabetes mellitus. Chronic hyperglycemic status contributes to progressive autonomic dysfunction. (5) (6) (7) (8) In early stages CAN is characterized by an increased cardiac sympathetic activity leading to cardiomyocytes apoptosis and myocardial injury. Diabetic patients with CAN are at higher risk to develop cardiomyopathy, malignant arrhythmias and silent ischemia with silent myocardial infarction. (5) (6) (9) As a result of the impaired function of the cardiac autonomic system the main manifestation of CAN is a decreased heart rate variability (HRV). Clinical manifestations of CAN are represented by a decreased HRV at rest and during exercise and typically by resting tachycardia. (10) DCCT trial results have shown that an intensive glycemic control reduced CAN progression and also slowed microvascular disease and coronary atherosclerosis in diabetic patients type 1. For diabetic patients type 2 this has not been demonstrated. (4) (11). At advanced stages further symptoms as orthostatic hypotension, exercise intolerance become apparent. Vagus nerve is damaged first and since sympathetic activity becomes dominant, the resting tachycardia is the first clinical sign. In progression, after five years of latency, even if the heart rate remains higher, it may be observed a regression of tachycardia due to the damaged sympathetic fibres. (4) (12) Ventricular electrical instability is a result from a sympathetic stimulation unopposed by vagal activity. The results of a meta-analysis which included twelve studies, have shown that patients with CAN had a double risk for development of silent ischemia and myocardial infarction in comparison with patients without CAN. (4) (5) (13)

Diabetic cardiomyopathy, the structural arrhythmogenic substrate in diabetes mellitus, is a particular disease with an independent development from coronary artery disease and is leading to heart failure in diabetic patients. The concept of diabetic cardiomyopathy was introduced by Rubler in 1972. The actual definition of diabetic cardiomyopathy includes all functional and structural abnormalities of the diabetic myocardium in diabetic patients which do not present coronary artery disease and /or hypertension. The histological mark of diabetic cardiomyopathy is represented by the perivascular and interstitial fibrosis. (15) Diabetic cardiomyopathy is characterized by a cross-linking of collagen fibers in addition to an increased collagen deposition, leading to a decreased ventricular compliance. (16) Till present, for supporting this notion the clinical evidence are insufficient but some research showed that in diabetic myocardium the collagen fibres are indeed increased. (17) The contribution of myocytes hypertrophy in the development of ventricular hypertrophy is not elucidated in present. Biopsy fragments of human myocardium showed an increased cross sectional area of cardiomyocytes and interstitial fibrosis in diabetic myocardium compared with general population. (17) (18) These structural changes in diabetic myocardium are leading to an impaired excitation and contraction coupling.

Diabetes has a major impact on cardiomyocytes, modifying their action potential. In diabetic cardiomyocytes was observed a prolongation of action potential duration and also a slower decay of Ca^{2+} transient. A reduction in outward transient of K^+ was also demonstrated on animal models. (19) The QT interval reflects the duration of ventricular myocardial depolarization and repolarization. Most studies have shown that a prolongation of QT interval has proven to be a strong indicator of CAN. (12) (20) An increased intracellular Ca^{2+} concentration and the sympathovagal imbalance are two of the underlying mechanisms leading to electrical instability in diabetic myocardium during hyperglycemia. Also, the hyperglycemic status is leading to an increased free radical products and to a decreased NO production. (21) Due to NO reduction the K-ATPase and Ca^{2+} -ATPase are inhibited, this is leading to an increased free cytosolic calcium level. QTc prolongation in diabetes was associated with an increased intracellular Ca level. (14)

QTc interval duration is considered predictive of all cause cardiovascular mortality in both diabetic and healthy patients. (9) (22) (23). In present, QTc duration could be utilized as an objective and simple method in order to assess patients at high risk for cardiovascular events. In several studies QTc prolongation has been associated with ventricular fibrillation and sudden arrhythmic death. (4) (12) (14) It has been shown that the prevalence of QTc prolongation is higher in diabetic patients as compared with general population. (24) Studies regarding QTc prolongation and various risk factors have reported inconsistent results but hypertension has been identified as an independent risk factor. (25) Other risk factors for prolongation QTc interval mentioned in literature are age, gender, hyperglycemic status, insulin concentration, coronary artery disease and diabetes microvascular complications. (26)

Analysis of heart rate variability (HRV) represents one of the most important methods for diagnosing cardiac autonomic cardiomyopathy. Variations of the heart rate are due to the interactions between long/short term cardiovascular control mechanisms. A reduced HRV is a sign of an impaired autonomic function. (4) (21) The QRS complexes are registered on Holter ECG monitoring and the distances between them (RR intervals) are measured. The RR intervals are irregular if are measured in ms, and this variation becomes significant and is related to various physiological and pathological conditions.

Fluctuation in HRV reflects the autonomic activity. Mechanisms involved in regulation of cardiovascular function are interacting in a nonlinear way. This makes it possible to study these mechanisms using some mathematical algorithms. (7) HRV can be analyzed in both time and frequency domains. Time domain indexes (SDNN, SDANN, rMSSD, pNN50) are represented by statistical calculations of successive RR. Frequency domain indexes are the most elaborated parameters and their evaluation is based on spectral analysis, which is used to assess the contribution of the autonomic function on HRV. Frequency domain indexes are HF, LF, HF/LF. Studies have strongly suggest that a decreased HRV reflects the sympathetic dominance due to a suppressed vagal modulation. (27) (28) Decreased HRV is an early manifestation of CAN related to an increased arrhythmic risk and higher mortality risk. (9) (29) HRV normal values in different population by age or gender are not defined. (6) (9) (30) The accuracy of HRV indexes is affected by arrhythmias, such as atrial fibrillation or frequent ventricular extrasystoles. The analysis requires normal atrioventricular nodal function and sinus rhythm. (30) Researchers have suggested that high frequency (HF) component (0.15-0.4 Hz) is modulated by vagal tone while low frequency (LF) component (0.04-0.15 Hz) is modulated by both sympathetic and vagal tones but mostly reflects the sympathetic activity. (31) (32) In latest years CAN was proven to be a predictive risk factor for cardiovascular events such as myocardial infarction, stroke and sudden death, its predictive power showed to be greater than other traditional risk factors. (4) (10) (32) Therefore, diagnosis of CAN plays a major role for risk stratification.

Behind of the choice of this theme was the assumption that the study of Holter ECG monitoring can provide new and complex information regarding the type and severity of both atrial and ventricular arrhythmic events, involving complex elements of analysis as QT interval duration and parameters of heart rate variability analysis. With the present study we aimed to evaluate the arrhythmic risk in diabetic patients, to assess the arrhythmic risk factors and to evaluate the cardiovascular autonomic neuropathy in type 2 diabetic patients.

PERSONAL CONTRIBUTION

General hypothesis

Diabetic patients exhibiting rhythm disorders constitute a group at high risk of cardiovascular mortality and represents a particular category because of the complex etiological context and therapeutical peculiarities. ECG Holter monitoring study can provide new and complex information regarding the type and the severity of both atrial and ventricular arrhythmic events in diabetic subjects, involving complex elements of analysis by continuous electrocardiographic monitoring such as QTc duration and analysis of heart rate variability parameters.

General objective

The aim of the research is to assess the arrhythmic risk in patients with diabetes mellitus type 2 and dyslipidemia, considering the pathophysiological premises and the literature research regarding this high cardiovascular risk category.

Specific objectives

- Evaluation of type and incidence of arrhythmic events in type 2 diabetic and dyslipidemic patients.
- Evaluation of HRV indexes in type 2 diabetic patients compared with general population
- Evaluation of QTc duration in type 2 diabetic patients compared with general population
- Assessment of risk factors for atrial and ventricular arrhythmic events in diabetic patients
- Study of arrhythmic events in diabetic patients on insulin therapy
- Study of the relationship between heart rate variability indexes and the lipid profile in type 2 diabetic patients on statin therapy

To achieve these goals, the second part of the thesis is dedicated to the personal research which included four studies that meet the main objectives of the thesis.

Material and general research methodology

The study design was a case-control type, of a cohort of 97 patients with type 2 diabetes were evaluated by Holter ECG monitoring. In same time we studied a control group consisting of 44 non-diabetic patients. Patients were admitted to the cardiology departments of Rehabilitation Hospital Cluj Napoca and SCJU Brasov Hospital between 2011-2013. The study lasted two years. The study protocol was reviewed and approved by the ethics committee of University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca. At the time of recruitment each patient has signed the informed consent according to the Declaration of Helsinki.

Regarding the gender distribution in the studied group of 97 diabetic patients, this was: 44 males (45.36%) and 53 women (54.64%). Mean age was 65.71 ± 8.66 years (ranging from 48 years to 83 years). The gender distribution in the control group consisting of 44 patients, was: 12 (27.27%) men and 32 women (72.72%). Mean age of the control group was 62.89 ± 10.34 (ranging from 44 years to 89 years).

Patients were classified as diabetic patients on the basis of history regarding the duration of the disease or need for antidiabetic therapy. The diagnosis has been based on a previous diagnostic of diabetes based on: fasting glucose level >126 mg/dl on two measures or receiving diet therapy or taking oral antidiabetic therapy or receiving insulin therapy. Exclusion criteria were as following: congenital heart malformations (previously known or detected by echocardiography performed at study entry), ischemic acute coronary syndrome, severe liver damage ($AST, ALT \geq 2 \times VN$), severe renal function impairment (creatinine ≥ 2 mg%), smokers and drinkers.

The biochemical evaluation was performed by venous blood collecting samples in simple tubes; samples were collected in basal conditions, after 12 hours fast. Blood samples were stored at 4°C and were subsequently centrifuged to collect the serum. The determination of biochemical parameters was performed

with Olympus AU 680 analyzer. Serum HDL-C and LDL-C levels were determined after precipitation, by enzymatic method. Serum TG, CST-T levels, glycemia and serum uric acid levels were determined by colorimetric enzymatic method. The liver function was assessed by determination of ASAT and ALAT levels using the standard kinetic method IFCC (International Federation for Clinical Chemistry) with pyridoxal phosphate. The renal function was assessed by determination of serum creatinine by Jaffe method. The complete assessment of renal function was performed by calculating the eGFR (estimated glomerular filtration rate) for each patient, using MDRD equation [$eGFR = 175 \times \text{serum creatinine}^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203} \times 0.742$ (if female)] The body mass index (BMI) was calculated as $\text{weight (kg)}/\text{height}^2 \text{ (m}^2\text{)}$

All patients were Holter ECG 24 hours monitored with three channel monitor V1, V5, aVF (Labtech ECG Holter monitor), and data were analyzed on a commercially available software (CardiospyPC SW/EV 5.02.06.02). The automatic assessment of the monitoring records assumed that after the first analysis, the device software automatically has classified the normal complexes and all the complexes considered pathological. The visual analysis consisted in establishing the basic heart rate and marking supraventricular and ventricular extrasystoles. At the end of the first analysis we checked the selection, we marked the artefacts and we classified the pathological events.

The essential phase for a correct interpretation of monitoring consisted in a visual analysis of the recordings. In studied patients, we analyzed Holter/24 hours monitoring reports with respect to heart rate variability indexes, arrhythmic events and myocardial ischemia. Participants were instructed not to consume caffeinated food and beverages on the day of assessment and were also advised to maintain their usual daily activities.

The automatic analysis of supraventricular and ventricular extrasystoles has been made by the device settings. The device subsequently marked the early events and classified and counted them, finally all the cardiac events have been reported in tables and graphics on hourly intervals. Supraventricular extrasystoles diagnosis has been performed on precocity occurrence of normal, narrow QRS complexes. Ventricular ectopic complexes were considered the morphologically abnormal, large QRS complexes, which were visual analyzed in order to eliminate the artefacts. ECG Holter monitoring were analyzed regarding occurrence and frequency of arrhythmic events. Myocardial ischemia was diagnosed based on electrocardiographic ST changes, including ST depression (descendent or horizontal depression) more than 0.1mV and 1 min duration, at least two episodes/24 hours

HRV was assessed in time and frequency domains. Time domain HRV indexes were calculated from 24 h ECG recordings: SDNN (standard deviation of all NN intervals), SDANN (standard deviation of the averages of NN intervals in 5-minute segments), rMSSD (square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent NN intervals), pNN50 (NN count divided by the total number of all NN intervals). Following frequency domain (spectral) indexes were assessed: total power (TP), high frequency power HF (0.15-0.5 Hz), low frequency power LF (0.04-0.15 Hz), and the ratio of low frequency to high frequency (LF/HF ratio). HF component reflects mostly parasympathetic activity and LF component is mainly related to the sympathetic tone. (33) LF/HF ratio (during night and day periods) was calculated for each patient as a measure of sympatovagal balance (33) The results of LF and HF are shown in normalized units and absolute numbers.

Database was performed using the Microsoft Office Excel 2010. For statistical analysis and data description was used SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, USA). Normal distribution of quantitative data was tested with Kolmogorov - Smirnov. Accepted error threshold was $\alpha = 0.05$ Data with normal distribution are shown as a mean \pm standard deviation (SD), and for data without a Gaussian distribution we used in addition to the arithmetic mean and standard deviation, median and quartiles 1 and 3. Qualitative data are expressed as frequencies (number and / or percentages).

Student's t-test was used for comparison of variables with normal distribution. Nonparametric tests as Mann - Whithney and Kruskal - Wallis were used for comparison of variables with abnormal distribution. Chi-square tests (for frequencies above 5 contingency table) or Fisher Exact (for frequencies below 5

contingency table) were used to compare qualitative variables. Rate chance was calculated (OD-odds ratio) and it was also determined the associated confidence interval (95% CI) lower limit of acceptable error.

For the correlations analysis Pearson correlation coefficient was calculated for continuous qualitative variables with normal distribution and Spearman correlation coefficient was determined for qualitative continue variables with a nongaussian distribution. Kendall's correlation coefficient was calculated in thoes situations in which more than 25% of the values were equal. Significance tests were used to estimate the significance of the correlation coefficients (with $\alpha = 0.05$). Colton rules were used forthe empirical interpretation. The charts were made in SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) and Microsoft Excel 2010.

Study 1 – ECG Holter monitoring evaluation of cardiac arrhythmias and cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes

Hypotesis

Ambulatory ECG Holter monitoring allows the assessment of heart rhythm, heart rate and cardiac arrhythmias dynamics, providing insight into cardiac electrical activity both during daily activities and night time.

Objectives

- Assessment of atrial fibrillation incidence in type 2 diabetic patients compared with the general population
- Evaluation of the incidence and type of ventricular arrhythmias in diabetic patients
- Assessment of QTc duration in type 2 diabetic patients compared with the general population
- Assessment of heart rate variability parameters in type 2 diabetic patients compared with the general population.
- Finding the predictors of ventricular arrhythmias and atrial fibrillation in type 2 diabetic patients.

Material and method

The study was conducted on a sample study of 97 type 2 diabetic patients and a control group of 44 non-diabetic patients. All patients were evaluated by Holter ECG (Labtech 3 channels) over a period of about 24 hours, according to the mentioned protocol. Holter ECG monitoring evaluation reports included: heart rate variability parameters in time and frequency domains, atrial and ventricular arrhythmic events, QTc interval duration.

Study type Observational

Results

Regarding the results of the analysis of total atrial arrhythmic events,we found that diabetic patients showed a higher number of total atrial arrhythmic events (1036.57 ± 497.75) compared with nondiabetic patients (109.96 ± 362.45), difference is statistically significant with p-value = 0.05. We have not found statistically significant differences between the two groups regarding the number CPL A and supraventricular tachycardia episodes, although their average number was higher for the group of diabetic patients.AF had an incidence of approximately two fold higher in diabetic patients, it has been diagnosed in 35 (36.08%) diabetic patients and in 8 (18.18%) patients in the control group, p = 0.032.

Diabetic patients showed a significantly higher number of isolated PVCs (1105.69 ± 3211.16) compared with controls (112.07 ± 147.8), the value p = 0.03. The mean number of BIG episodes was significantly higher for the group of diabetic patients (78.98 ± 367.21) compared with controls (1.45 ± 3.02), p-value = 0.01. In the group of diabetic patients was also found a significantly higher mean number of CPL V to 3.59 ± 5.12 during day time when compared with controls 0.34 ± 1.57 , p-value = 0.02. The mean number of

VT episodes was decreased in both groups of patients, but it was significantly higher for the group of diabetic patients 0.29 ± 1.59 compared with controls 0.03 ± 0.17 , p value = 0.04

The analysis of heart rate variability parameters evaluated for the two groups of patients with sinus rhythm indicates that diabetic patients had significantly lower values of all HRV parameters analyzed in the time domain excepting: 24h rMSSD, rMSSD sleep, rMSSD day. We found that the values of heart rate variability indexes analyzed in frequency domain (HF and LF) expressed in absolute figures were decreased in the diabetic group. No statistically significant differences were found between HF and LF values expressed in normalized units, nor about the ratio LF / HF for the two groups. The values of total power (TP) expressed in absolute figures were significantly lower for the group of diabetic patients. We found that the average HR/24 h was significantly higher for the study group (66.47 ± 12.22) compared with the control group (60.32 ± 13.53), the difference being statistically significant with p -value = 0.02. Analyzing QTc interval duration for the two groups, we found that diabetic patients had a prolonged QTc interval (443.61 ± 38.69) and the control group patients had a normal mean QTc duration (433.48 ± 23.64), with clinical and statistical significance, p value = 0.02.

Logistic regression test was applied in order to determine the impact of several biochemical and Holter ECG parameters on the number of pathological ventricular events (≥ 6 PVC / h) for the group of 97 diabetic patients. The model contains four independent variables (age, QTc, uric acid and HDL-C value). The model that contains these predictors is statistically significant, $\chi^2 (5) = 25.19$, $p < 0.001$. (Table I) First significant predictor was uric acid, with OR = 1.43, $p = 0.02$. Age was the second significant predictor, with OR = 1.15, $p = 0.001$. The third significant predictor was the QTc interval duration, with OR = 1.04, $p = 0.008$. OR for HDL-C presented a subunitary value of 0.98, resulting in an inverse relationship.

The best predictive power of atrial fibrillation was a multimarker model which comprised five independent variables (age, uric acid, TG, HDL-C and p NN50). The model that contains these predictors is statistically significant, $\chi^2 (5) = 62.35$, $p < 0.001$. The model can explain between 48.1 and 65.8% of the variance status of atrial fibrillation and can correctly classify 86.3% of cases. The strongest predictor of the status of atrial fibrillation (AF) was uric acid with OR = 1.63, $p = 0.014$. The second significant predictor was age, with OR = 1.1, $p = 0.031$. The third significant predictor was pNN50, with OR = 1.07, $p = 0.001$. Predictors that did not contribute significantly to the model were TG and HDL-C. (Table II)

Table I. Predictors of pathological ventricular arrhythmic events in diabetic group

PARAMETERS	β	S.E.	df	Sig. (p)	Exp(β)OR	95% CI
Age (years)	.13	.04	1	.001	1.14	1.05-1.24
HDL-C (mg/dl)	-.01	.008	1	.03	.98	.96-.99
Uric acid (mg/dl)	.36	.16	1	.02	1.43	1.04-1.96
QTc (ms)	.048	.01	1	.008	1.04	1.01-1.08

Table II. Predictors for atrial fibrillation in diabetic group

PARAMETRII	β	S.E.	df	Sig. (p)	Exp(β) OR	95% CI
Uric acid (mg/dl)	.48	.19	1	.01	1.62	1.10-2.39
Age (years)	.09	.04	1	.03	1.09	1.10-1.19
HDL-C (mg/dl)	-.02	.03	1	.05	.98	.99-1.04
pNN50 (%)	.06	.01	1	.000	1.07	1.03-1.10
TG (mg/dl)	-.007	.006	1	.20	.99	.98-1.00

Conclusions

- Diabetic patients represent a group of subjects with an increased cardiovascular risk. The prevalence of hypertension is much higher in diabetic patients compared with controls. The same finding is true for overweight and hyperuricemia, instead dyslipidemia and LDL cholesterol were similar for the two groups.
- Ischemic heart disease in its various forms, prevalent in diabetic patients, although due to the small difference in the incidence of myocardial infarction is not statistically significant.
- Incidence of heart failure was two fold higher in patients with diabetes, suggesting the existence of a significant component due to diabetic cardiomyopathy.
- Both atrial and ventricular arrhythmias have a high prevalence in patients with diabetes.
- Supraventricular rhythm disorders are dominated by atrial fibrillation, the prevalence of atrial fibrillation is about two fold higher in diabetic patients group.
- Ventricular arrhythmias are represented mostly by isolated ventricular extrasystoles and systematized extrasystoles and were more common in diabetic patients. The same finding applies to nonsustained VT, but the number of cases with VT is small to draw valid conclusions.
- Both ventricular arrhythmias and supraventricular prevails during day time, supporting the role of sympathetic hyperactivity in their appearance.
- Likewise pleads the heart rate variability both in time and in the frequency domains, the heart rate variability was significantly reduced in diabetic patients with most investigated parameters.
- Decreased heart rate variability is most probably an indicator of the existence of diabetic neuropathy.
- Decreased heart rate variability correlates with both ventricular arrhythmias and atrial fibrillation, representing a predictor for atrial fibrillation.
- Patients with diabetes show an increase in the average duration of the QT interval with a mean QTc over 440 ms, while the mean QTc duration in non-diabetic group is below this value
- QTc duration for the study group was an independent predictor of ventricular arrhythmic events.
- Reduced heart rate variability and QT prolongation may have a synergic proarrhythmic effect in patients with diabetes.
- Uric acid was a predictor of arrhythmic events in general, with OR 1.44 (95% CI 1.04-1.97) for ventricular arrhythmic events, the predictive value for AF is even greater with OR 1.62 (95% CI.1.10-2.39)
- An increased resting heart rate, the maximum heart rate and the decreased chronotropic reserve, are at the same time elements of diagnosis for diabetic autonomic neuropathy

Study 2 – Arrhythmic events in type 2 diabetic patients on insulin therapy

Hypotesis

It has been shown that insulin is a pleiotropic hormone with multiple effects on glucose metabolism, on the immune system, on central nervous system and on cardiovascular system (34) Studies have demonstrated that insulin increased cardiac contractility in isolated lung-heart preparations and increased arterial blood pressure in animals, but at present the underlying mechanisms of insulin positive inotropy are just partially known. (32)

In diabetes, repolarization abnormality manifested by the QTc prolongation, is due to a decreased signaling capacity of PIK3. It is well known the arrhythmogenic role of oxygen free radicals, that compromise the activity of ion pumps and leads to electrophysiological damages that trigger malignant arrhythmias. (35) Studies have shown that insulin can prevent oxidative damage by reducing the formation of free radicals through the PI3K-Akt pathway and has an antiapoptotic effect. (13) (35) (36)

Objectives

- To evaluate the incidence and type of arrhythmias in diabetic patients on insulin therapy compared with diabetic patients on diet/oral antidiabetic medication
- To evaluate HRV parameters in diabetic patients on insulin therapy
- To assess QTc duration in diabetic patients on insulin therapy
- To evaluate the correlations between pathological ventricular events (≥ 6 ESV / h) and biochemical parameters (glucose, LDL-C, HDL-C, CST-T, TG), insulin therapy and diet/oral medication

Material and method

From the initial group of 97 diabetic patients we extracted a sample of 71 patients. All patients were Holter ECG monitored, in accordance to the mentioned protocol. Blood samples were collected in basal conditions in order to determine the metabolic and biochemical parameters. According to hypoglycemic therapy the study group was divided into two subgroups. The first subgroup included patients with insulin therapy, the second subgroup included patients on diet and / or oral antidiabetic therapy. Were excluded from the study: patients on antiarrhythmic therapy (including digoxin), patients with late stage of chronic kidney disease, late stage of liver disease and patients with clinical symptoms of heart failure (NYHA III and IV).

Results

The analysis of monitoring reports on the type and incidence of arrhythmic disorders showed that the total number of ventricular arrhythmic events was significantly lower in patients on insulin therapy group (201.81 ± 392.17) compared to the group of patients who were following diet and / or oral antidiabetic therapy (2358.09 ± 976.98 , p-value = 0.01). Diabetic patients on insulin therapy had a significantly lower mean number of isolated PVCs (192.27 ± 367.17) compared to patients without insulin therapy group (960.55 ± 2339.95).

The mean number of ventricular couplets was significantly lower for patients on insulin therapy compared with patients on diet/oral medication (1.09 ± 2.38 versus 7.35 ± 27.15 , p = 0.04). The mean number of bigeminy episodes was significantly decreased in the insulin group compared with diet/oral therapy group (11.12 ± 3.45 vs. 50.03 ± 244.47 , p-value = 0.05). Regarding the mean number of nonsustained ventricular tachycardia episodes, we found no significant difference between the two groups. Both groups showed a decreased number of ventricular tachycardia episodes.

The mean duration of the QTc interval exceeded 440 ms (considered pathological) in the group of diabetic patients on diet and / or oral therapy (442.1 ± 26.9). The mean duration of the QTc interval in patients on insulin therapy group was 438 ± 27.3 . The difference is of clinical significance and without statistical significance.

Pathological ventricular arrhythmic events (≥ 6 ESV / h) showed a small positive correlation with LDL-C ($r = 0.12$, $p = 0.03$) and also a small positive correlation with blood glucose ($r = 0.11$, $p = 0.04$). In the studied group we found a small negative correlation between the number of pathological ventricular arrhythmic events and insulin therapy ($r = -0.10$, $p = 0.04$). We found no correlation between CST-T, HDL-C, diet / oral therapy and ventricular arrhythmic events.

Conclusions

- Cardiovascular disease (hypertension, ischemic heart disease, heart failure) did not differ significantly in diabetics with and without insulin therapy.
- The dyslipidaemic spectrum is similar for the two subgroups, except triglycerides which were significantly lower in diabetic patients on insulin therapy.
- The resting heart rate was significantly lower in the group of diabetic patients treated with insulin, suggesting its myocardial protective effect.
- The number supraventricular extrasystoles was significantly decreased in diabetics treated with insulin, but not the prevalence of AF which was similar in the two subgroups.
- The prevalence of ventricular arrhythmias was significantly decreased in patients on insulin therapy.
- The values of the heart rate variability parameters (both in time and in the frequency domains) showed no significant differences between the two subgroups, the differences do not explain the prevalence of arrhythmias.
- QTc interval, which duration was significantly prolonged in subjects treated with OAD was normalized in diabetics treated with insulin, providing a possible explanation for the antiarrhythmic protection.
- The results suggest that insulin therapy could be beneficial not only for the prevention of diabetic cardiomyopathy and autonomic neuropathy, but it may provide an antiarrhythmic protection.
- The reduction of cardiovascular risk requires full assessment of all risk factors. Therefore, individual hypoglycaemic therapy is essential in diabetic patients with concomitant cardiovascular disease.

Study 3 – Relationship between heart rate variability indexes and lipid profile in type 2 diabetic patients on statin therapy

Hypotesis

Decreased HRV has been shown to be linked with the presence of cardiovascular disease, with the incidence and severity of ischemic heart disease, with the systolic heart failure and has been related with some cardiovascular risk factors. (16) (18) (29) Among the studied risk factors are the different components of serum lipids, but the relationship between plasma lipid fractions and HRV have provided less consistent results. We raised the question whether these discordant results regarding the relationship between plasma lipid fractions and HRV could be in relation to lipid-lowering therapy applied to the diabetic and dyslipidemic patients.

Objective

The aim of this study is to identify and highlight the relationship between serum lipid fractions and heart rate variability in diabetic patients with statin therapy

Material and method

The study has been performed on a group of 87 type 2 diabetic patients on statin associated therapy. All patients were Holter ECG 24 hours monitored with three channel monitor (Labtech ECG Holter monitor), and data were analyzed on a commercially available software (CardiospyPC SW/EV 5.02.06.02). Concentrations of biochemical parameters were determined using specific enzymatic assays on an

autoanalyser Olympus AU 680. In studied patients, we analyzed Holter/24hours monitoring reports with respect to heart rate variability indexes, arrhythmic events and myocardial ischemia

Results

Serum LDL-C mean values exceeded the levels recommended by ADA (37) and AHA (38) guidelines (100mg/dl) and substantially exceeded 70 mg/dl recommended as the optimal value for diabetic and cardiovascular patients. Serum LDL-C levels were found to be higher than 70 mg/dl in 77 (93%) patients while in 51 (62%) patients LDL-C levels were found to be higher than 100 mg/dl.

Overall SDNN showed a small negative correlation with TG ($\rho=-0.19$, $p=0.003$). SDNN day showed a small negative correlation with TG ($\rho -0.12$, $p= 0.01$). We found a small negative correlation between rMSSD 24 h, respectively rMSSD day and CST-T ($\rho = -0.19$, $p = 0.01$, respectively $\rho = -0.2$, $p = 0.001$). Mean LDL-C showed a small negative correlation with both rMSSD 24h and the rMSSD night ($\rho = -0.18$, $p = 0.02$, respectively $\rho = -0.19$, $p = 0.001$). Regarding indices of heart rate variability analyzed in frequency domain we found that LF / HF day ratio showed a small positive correlation with LDL-C and CST-T ($\rho = 0.16$, $p = 0.01$ respectively $\rho = 0.17$, $p = 0.001$). LF/HF ratio showed no correlation with TG. We found no correlation between LF/HF night with any of the lipid fractions. We found a small negative correlations between HF day with both CST-T and LDL-C ($\rho= -0.18$, $p=0.01$, respectively $\rho=-0.18$, $p=0.03$). HDL-C did not correlate with any of the heart rate variability parameters analyzed in time and frequency domains.

Conclusions

- Statin therapy of diabetic patients in percentage terms is as recommended by the guidelines, but the serum lipid levels are exceeding the optimal targets in more than half of patients.
- The values of the heart rate variability parameters are decreased in the group treated with statins compared to values reported in previous studies for the control group.
- The heart rate variability in the time domain has not shown significant correlations with serum lipid fractions (correlations reported by other studies in dyslipidemic patients with or without diabetes) An exception is the small negative correlation between SDNN values and serum triglycerides.
- The indices of heart rate variability in the frequency domain have shown a small positive correlation withought high significance with the mean values of total serum cholesterol and LDL cholesterol.
- The results suggest that statin therapy may reduce the impairment of the autonomic nervous system function due to dyslipidemia.
- It can not be excluded a direct antiarrhythmic effect of statin therapy, futher research are needed to confirm this potential effect.

Study 4 – Relationship between QTc duration and heart rate variability parameters in diabetic patients with sinus rhythm

Hypotesis

The QTc interval reflects the duration of the ventricular myocardial depolarization and repolarization. Prolonged QT (QTc) interval has been shown in most clinical trials, that it is a specific indicator of cardiovascular autonomic neuropathy. (12) (39) (40) (41) Therefore, QTc prolongation may be used as a fast and simple method to detect high risk population for cardiovascular events.

Objectives

- To evaluate the relationship between cardiovascular risk factors and QTc interval duration
- To evaluate the relationship between QTc interval duration and heart rate variability parameters in type 2 diabetic patients.

- To evaluate the type and incidence of arrhythmic events in diabetic patients in relation to QTc interval duration (QTc \geq 440 ms vs. QTc < 440 ms)

Material and method

From the group of 97 patients with diabetes we extracted 62 diabetic patients who met inclusion criteria respectively diabetic patients with sinus rhythm. The control group consisted of 36 patients without diabetes. Exclusion criteria were represented by: paroxysmal or chronic atrial fibrillation, late stage of renal and hepatic diseases, advanced heart failure NYHA III and IV, acute ischemic coronary syndrome. All patients were Holter ECG monitored during 24 hours, according to the mentioned protocol. QT measurement was performed automatically; the QT interval was measured from the beginning of QRS complex to the end of T wave. The duration of QT interval is dependent on heart rate and its value is corrected with Bazett's formula, $QTc = QT + 0.00175 (\text{heart rate} - 60)$. Given that the literature is controversial about the normal maximum duration of the QTc interval, we considered QTc duration \geq 440 msec as pathologic QTc interval.

Results

In distribution of patients according to QTc interval duration we found that a significant number of women had a mean QTc duration \geq 440 ms, with OR 3.42 (95% CI 1.2 - 9.79), $p = 0.02$.

Following the analysis of Holter ECG monitoring regarding the type and the mean number of arrhythmic events we found that the mean number of PVCs (> 6 PVCs / h) was higher in diabetic patients with prolonged QTc \geq 440 ms when compared to the group of patients with QTc < 440 (2244.21 \pm 1683.31 \pm 2494.5 vs 3724, $p = 0.04$). Mean number of PVCs during night was also higher for patients with QTc \geq 440 ms (676.8 \pm 998 vs. 432 \pm 502, $p = 0.05$).

We found that the mean number of BIG episodes all over monitoring was higher in patients with QTc \geq 440 msec. (74.1 \pm 15.39 vs. 343.34 \pm 35.98, $p = 0.03$). During day, diabetic patients with QTc \geq 440 ms had a significantly higher number of BIG episodes (255.58 \pm 57.15 vs. 12.6 \pm 27.01, $p = 0.04$). Average number of ventricular CPL V during day was significantly higher in group of patients with QTc duration \geq 440 ms (7.3 \pm 5.32 vs. 23.42 \pm 15.12, $p = 0.05$). No significant differences were found between the two groups in the number of ventricular BIG episodes and CPL V during sleep.

Regarding the HRV parameters, we found that the mean values of SDNN throughout the monitoring as marker of overall variability was decreased in the group of patients with mean QTc duration \geq 440 ms (112.45 \pm 38 vs. 122.64 \pm 45.41, $p = 0.05$). We also found that the mean values of SDNN both during night and day were decreased in the group of patients with mean QTc duration \geq 440 ms. The mean values of the other HRV parameters analyzed in the time domain (rMMSD, pNN 50) did not differ in the two groups. No significant differences were found between the two groups regarding HRV parameters analyzed in frequency domain. We found that the mean values of SDNN during day showed a negative correlation with the mean QTc interval ($r = -0.25$, $p = 0.001$). We found that overall SDNN showed a small negative correlation with QTc interval duration ($r = -0.14$, $p = 0.04$). SDANN day presented a small negative correlation with QTc duration ($r = -0.18$, $p = 0.003$). We found no correlations between the other parameters of HRV in time domain analysis (rMMSD and pNN50) and QTc interval.

Analyzing correlations between HRV parameters and QTc duration \geq 440 ms, we found a small negative correlation between SDNN day and average QTc duration \geq 440 ($r = -0.32$, $p = 0.04$). We found this time a moderate negative correlation between SDNN day and \geq 460 ms QTc duration ($r = -0.58$, $p = 0.01$). Overall SDNN presented this time a moderate negative correlation with QTc duration \geq 460 ms ($r = -0.5$, $p = 0.03$). Also we found a moderate negative correlation between SDANN day and QTc duration \geq 460 ms ($r = -0.59$, $p = 0.02$). Mean overall SDANN presented this time a moderate negative correlation with QTc \geq 460 ms duration ($r = -0.5$, $p = 0.04$). Between pNN50, rMSSD and QTc interval we found no correlations.

We found that a higher QTc duration increases power correlations, it ascertaining for both time domain parameters (SDNN, SDANN).

Conclusions

- Increased QTc duration has shown a strong correlation with the reduced heart rate variability in diabetic patients.
- Our data highlight the existence of a linear relationship between the severity of cardiovascular autonomic neuropathy and the degree of QTc prolongation in type 2 diabetic patients.
- Diabetic patients with QTc duration ≥ 440 ms had an increased number of ventricular arrhythmic events (isolated PVCs, CPL V, BIG episodes).
- There was no significant difference in the number of episodes of ventricular tachycardia between the group of diabetic patients with QTc ≥ 440 ms and the group of diabetic patients with QTc <440 ms

General conclusions

- Diabetic patients represent a group of subjects with an increased cardiovascular risk. The prevalence of hypertension is much higher in diabetic patients compared with controls. The same finding is true for overweight and hyperuricemia, instead dyslipidemia and LDL cholesterol were similar for the two groups.
- Ischemic heart disease in its various forms was prevalent in diabetic patients although due to the small difference in the incidence of myocardial infarction is not statistically significant.
- Incidence of heart failure was two fold higher in patients with diabetes, suggesting the existence of a significant component due to diabetic cardiomyopathy.
- Both atrial and ventricular arrhythmias have a high prevalence in patients with diabetes
- Supraventricular rhythm disorders are dominated by atrial fibrillation, the prevalence of atrial fibrillation is about two fold higher in diabetic patients group.
- Ventricular arrhythmias are represented mostly by isolated ventricular extrasystoles and systematized extrasystoles and were more common in diabetic patients. The same finding applies to non-sustained VT, but the number of cases with VT is small to draw valid conclusions.
- Both ventricular arrhythmias and supraventricular prevails during day time, supporting the role of sympathetic hyperactivity in their appearance.
- Likewise pleads the heart rate variability both in time and frequency domains, the heart rate variability was significantly reduced in diabetic patients with most investigated parameters.
- Decreased heart rate variability is most probably an indicator of the existence of diabetic neuropathy.
- Decreased heart rate variability correlates with both ventricular arrhythmias and atrial fibrillation, representing a predictor for atrial fibrillation.
- Patients with diabetes show an increase in the average duration of the QT interval with a mean QTc over 440 ms, while the mean QTc duration in non-diabetic group is below this value.
- QTc duration for the study group was an independent predictor of ventricular arrhythmic events.
- Reduced heart rate variability and QT prolongation may have a synergic proarrhythmic effect in patients with diabetes.
- Uric acid was a predictor of arrhythmic events in general, with OR 1.44 (95% CI 1.04-1.97) for ventricular arrhythmic events, the predictive value for AF is even greater with OR 1.62 (95% CI 1.10-2.39)
- An increased resting heart rate, the maximum heart rate and low chronotropic reserve, are at the same time elements of diagnosis for diabetic autonomic neuropathy.
- Cardiovascular disease (hypertension, ischemic heart disease, heart failure) did not differ significantly in diabetics with and without insulin therapy.
- The dyslipidemic spectrum is similar for the two subgroups, except triglycerides which were significantly lower in diabetic patients on insulin therapy (vs oral medication/ diet).

- The resting heart rate was significantly lower in the group of diabetic patients treated with insulin (vs oral medication/ diet), suggesting its myocardial protective effect.
- The number of supraventricular extrasystoles was significantly decreased in diabetics treated with insulin, but not the prevalence of AF which was similar in the two subgroups(insulin therapy group vs oral medication/ diet group).
- The prevalence of ventricular arrhythmias was significantly decreased in patients on insulin therapy.
- The values of the heart rate variability parameters (both in time and in the frequency domains) showed no significant differences between the two subgroups, the differences do not explain the prevalence of arrhythmias (in oral medication/ diet group vs insulin therapy group).
- QTc interval, which duration was significantly prolonged in subjects treated with oral medication/ diet was normalized in diabetics treated with insulin, providing a possible explanation for the antiarrhythmic protection.
- The results suggest that insulin therapy could be beneficial not only for the prevention of diabetic cardiomyopathy and autonomic neuropathy, but it may provide an antiarrhythmic protection.
- The reduction of cardiovascular risk requires full assessment of all risk factors. Therefore, individual hypoglycaemic therapy is essential in diabetic patients with concomitant cardiovascular disease.
- Statin therapy of diabetic patients in percentage terms is as recommended by the guidelines, but the serum lipid levels are exceeding the optimal targets in more than half of patients.
- The values of the heart rate variability parameters are decreased in the group treated with statins compared to values reported in previous studies for the control group.
- The heart rate variability in the time domain has not shown significant correlations with serum lipid fractions (correlations reported by other studies in dyslipidemic patients with or without diabetes) An exception is the small negative correlation between SDNN values and serum triglycerides.
- For the diabetic patients on statin therapy the indices of heart rate variability in the frequency domain have shown a small positive correlation without high significance with the mean values of total serum cholesterol and LDL cholesterol.
- The results suggest that statin therapy may reduce the impairment of the autonomic nervous system function due to dyslipidemia.
- It can not be excluded a direct antiarrhythmic effect of statin therapy, further research are needed confirm this potential effect.
- Increased QTc duration has shown a strong correlation with the reduced heart rate variability in diabetic patients.
- Our data highlight the existence of a linear relationship between the severity of cardiovascular autonomic neuropathy and the degree of QTc prolongation in type 2 diabetic patients.
- Diabetic patients with QTc duration ≥ 440 ms had an increased number of ventricular arrhythmic events (isolated PVCs, CPL V, BIG episodes).
- There was no significant difference in the number of episodes of ventricular tachycardia between the group of diabetic patients with QTc ≥ 440 ms and the group of diabetic patients with QTc <440 ms.

References

1. Bergner DW, Goldberger JJ. Diabetes mellitus and sudden cardiac death: what are the data? *Cardiol J*. 2010;17:117-129.
2. Thomas KE, Josephson ME. The role of electrophysiology study in risk stratification of sudden cardiac death. *Prog Cardiovasc Dis*. 2008;51:97-105.
3. Gaede P, Vedel P, Larsen N Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348:383-93.
4. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SEM Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 2005; 352:341-50.
5. Gerritsen J, Dekker JM, TenVoorde BJ Impaired autonomic function is associated with increased mortality, especially in subjects with diabetes, hypertension, or a history of cardiovascular disease. The HOORN Study. *Diabetes Care* 2001; 24:1793-8.
6. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; 26: 1553–1579.
7. Tarvainen MP, Cornforth DJ, Kuoppa P, Lipponen JA, Jelinek HF. Complexity of heart rate variability in type 2 diabetes - effect of hyperglycemia *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2013;2013:5558-61.
8. Tarvainen MP, Laitinen TP, Lipponen JA, Cornforth DJ, Jelinek HF. Cardiac autonomic dysfunction in type 2 diabetes – effect of hyperglycemia and duration disease *Front Endocrinol* 2014 Aug 8;5:130. doi: 10.3389/fendo.2014.00130. eCollection 2014.
9. Bellmann B, Tschöpe C. Heart failure. Cardiovascular autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *Herz*. 2014; 39(3):306-11. doi: 10.1007/s00059-014-4093-2.
10. Navarro X, Kennedy WR, Sutherland DE. Autonomic neuropathy and survival in diabetes mellitus: effects of pancreas transplantation. *Diabetologia*. 1991; 34(Suppl 1):S108–S112.
11. DCCT. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *Diabetologia*. 1998; 41:416–423.
12. Dimitropoulos G, Tahrani AA, Stevens MJ. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2014 15;5(1):17-39.
13. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2003;6:1895–1901.
14. Zaccardi F, Khan H, Laukkanen JA. Diabetes mellitus and risk of sudden cardiac death: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2014 Aug 26. pii: S0167-5273(14)01650-7. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.08.105.
15. Van Hoeven KH, Factor SM A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 1998; 82:848–855.
16. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA Advanced glycation end products. Sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 2006;114:597–605.
17. Falcao-Pires I, Hamdani N, Borbély A, Gavina C, Schalkwijk CG, van der Velden J, et al. Diabetes mellitus worsens diastolic left ventricular dysfunction in aortic stenosis through altered myocardial structure and cardiomyocyte stiffness. *Circulation* 2011;124:1151–1159.

18. Farrell C, Moran J. Comparison of comorbidities in patients with pre-diabetes to those with diabetes mellitus type 2. *Ir Med J.* 2014;3:72-4.
19. Gallego M, Alday A, Urrutia J, Casis O Transient outward potassium channel regulation in healthy and diabetic hearts. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87:77–83.
20. Whitsel EA, Boyko EJ, Siscovick DS Reassessing the role of QT(c) in the diagnosis of autonomic failure among patients with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2000; 23: 241–247.
21. Li X, Jiang YH, Jiang P, Yang JL, Ma DF, Yang CH. Effect of Guizhi Decoction ([symbols; see text]) on heart rate variability and regulation of cardiac autonomic nervous imbalance in diabetes mellitus rats. *Chin J Integr Med.* 2014; 20(7):524-33.
22. Veglio M, Bruno G, Borra M. Prevalence of increased QT interval duration and dispersion in type 2 diabetic patients and its relationship with coronary heart disease: A population-based cohort. *J Intern Med*, 2002; 251: 317–324.
23. Veglio M, Sivieri R, Chinaglia A, Scaglione L, Cavallo- Perin P QT interval prolongation and mortality in type 1 diabetic patients: a 5-year cohort prospective study. *Diabetes Care.* 2000; 23:1381–1383.
24. Veglio M, Giunti S, Stevens LK, Fuller JH, Perin PC Prevalence of Q-T interval dispersion in type 1 diabetes and its relation with cardiac ischemia: the EURODIAB IDDM complications study group. *Diabetes Care* 2002; 25:702–707.
25. Nagy K, Sipos E, El Hadj Othmane T. Heart rate variability is significantly reduced in non-diabetic patients with hypertension. *Orv Hetil.* 2014;155(22):865-70. doi: 10.1556/OH.2014.29886.
26. Festa A, D’Agostino R, Rautaharju R, Mykkänen L, Haffner SM. Relation of systemic blood pressure, left ventricular mass, insulin sensitivity, and coronary artery disease to QT interval duration in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *American Journal of Cardiology.* 2000; 86: 1117–1122.
27. Rolim LC, SáJ R, Chacra AR, Dib SA. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: risk factors, clinical impact and early diagnosis. *Arq Bras Cardiol* 2008; 90:23–31.
28. Rolim LC, deSouza JST, Dib SA Tests for early diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy: critical analysis and relevance. *Front. Endocrinol.* 2013; 4:173-178.
29. Chow E, Bernjak A, Williams S, Fawdry RA, Hibbert S, Freeman J, Sheridan PJ, Heller SR. Risk of cardiac arrhythmias during hypoglycemia in patients with type 2 diabetes and cardiovascular risk. *Diabetes.* 2014 May; 63(5):1738-47. doi: 10.2337/db13-0468.
30. Eagle KA, Berger PB, Calkins H, Chaitman BR, Ewy GA, Fleischmann KE et al. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task force of European society of cardiology and the north American society of pacing and electrophysiology. *Eur Heart J.* 1996; 17:354–381.
31. Malliani A, Pagani M, Lombardi F. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84:1482- 92.
32. Pop-Busui R. What Do We Know and We Do Not Know About Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Diabetes. *J Cardiovasc Transl Res.* 2012; 5:463–478.
33. Pagani M, Lombardi F, Malliani A. Heart rate variability: disagreement on the markers of sympathetic and parasympathetic activities. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22:951-953.
34. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovascular Research.* 2004; 61: 448–460.

35. Da-Silva WS, Gomez-Puyou A .Mitochondrial bound hexokinase activity as a preventive antioxidant defense: steady-state ADP formation as a regulatory mechanism of membrane potential and reactive oxygen species generation in mitochondria. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 39846–39855.
36. Zobali F, Avci A. Effects of vitamin A and insulin on the antioxidative state of diabetic rat heart: a comparison study with combination treatment. *Cell Biochem Funct.* 2002; 20: 75– 80.
37. AmericanDiabetesAssociation. Standards of medical care in diabetes 2013. *Diabetes Care.* 2013 ;36(suppl 1):S11-S66.
38. Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, Bairey M, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol.
39. Bianco HT, Izar MC, Póvoa RM, Bombig MT, Fonseca HA, Helfenstein T, et al Left ventricular hypertrophy and QTc dispersion are predictors of long-term mortality in subjects with type 2 diabetes. *Int J Cardiol.* 2014 Aug 12. pii: S0167-5273(14)01461-2. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.07.251.
40. El-Menyar AA. Dysrhythmia and electrocardiographic changes in diabetes mellitus: pathophysiology and impact on the incidence of sudden cardiac death. *J Cardiovasc Med.* 2006;7:580-585.
41. Ewing DJ, Boland O, Neilson JM, Cho CG, Clarke BF. Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients. *Diabetologia* 1991; 34: 182–185.