



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO"

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

**DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA CLINICA
E MEDICINA SPERIMENTALE
XXII CICLO**

Coordinatore: prof. Gianni Marone

TESI DI DOTTORATO

**LA VASOREATTIVITA' CORONARICA NON E' ALTERATA NEI
GIOVANI DIABETICI DI TIPO I**

TUTOR

Ch.mo Prof.
Oreste de Divitiis

CANDIDATO

Dott. ssa Milena Sidiropulos

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

INDICE

Introduzione.....	3
Metodi.....	6
Popolazione dello studio.....	6
Procedure.....	7
Analisi Statistica.....	12
Risultati.....	13
Dati clinici, metabolici ed ecocardiografici.....	13
Valutazione CFR e parametri emodinamici.....	14
Discussione.....	17
Bibliografia.....	23

Introduzione

Le malattie cardiovascolari colpiscono la popolazione diabetica con una frequenza quattro-cinque volte superiore rispetto ai non diabetici (1-2). La causa dell'accelerata aterosclerosi coronarica presente nei diabetici non è stata ancora completamente individuata, dal momento che i fattori di rischio cardiovascolari non spiegano del tutto questo aumentato rischio.

Recentemente nei pazienti diabetici, sono state individuate anomalie del microcircolo coronarico anche in presenza di coronarie epicardiche normali, questo suggerirebbe l'esistenza di una disfunzione del microcircolo coronarico isolata (3-5). Dal momento che i pazienti diabetici spesso sviluppano microangiopatia, è supponibile che il microcircolo coronarico possa essere un target degli effetti sfavorevoli indotti dalle anomalie metaboliche tipiche della patologia diabetica. Nei pazienti con Diabete mellito tipo II, la ridotta vasoreattività coronarica è stata ampiamente documentata e sembrerebbe essere legata dal punto di vista patogenetico alla resistenza insulinica e ai concomitanti fattori di rischio cardiovascolare. Gli aumentati livelli plasmatici di

acidi grassi associati ad un aumento dei trigliceridi e delle piccole e dense LDL, andrebbero a ridurre all'interno delle cellule endoteliali, la biodisponibilità di ossido nitrico, riducendo in questo modo la capacità vasodilatante (5-7). Nei diabetici di tipo I, informazioni simili sono più dibattute a causa dell'interferenza di altri potenziali fattori confondenti, come la presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare e l'estensione delle complicanze microangiopatiche (8-12). E' noto infatti che la vasoreattività coronarica è alterata nei pazienti con Diabete Mellito tipo I e con neuropatia autonoma (8-10) o retinopatia (12); invece c'è una scarsa evidenza di risposta vasomotrice coronarica in pazienti senza evidenza di complicanze croniche o di altre patologie quali l'ipertensione arteriosa e la dislipidemia, che è noto riducono la vasoreattività coronarica.

La funzione del circolo coronarico, può essere clinicamente valutata andando a quantizzare la riserva di flusso coronarico (CFR), che rappresenta il rapporto tra flusso coronarico iperemico e flusso coronarico a riposo. Oggi, la CFR può essere valutata in maniera non invasiva con ecocardiografia doppler transtoracica, che è in

grado di misurare le velocità di flusso coronarico a livello del tratto distale dell'arteria discendente anteriore (13). In assenza di stenosi delle coronarie epicardiche, il valore di CFR individuato ecocardiograficamente, rappresenta un valido marker di capacità vasodilatatoria del microcircolo coronarico (14). Nel nostro studio, abbiamo valutato la vasoreattività coronarica con metodica non invasiva in un campione di giovani diabetici di tipo I con una durata di malattia ampia, con o senza complicanze microvascolari.

Metodi

Popolazione

Quarantotto pazienti con Diabete Mellito tipo I sono stati reclutati presso La clinica Diabetica dell'università degli Studi Federico II, dove erano seguiti e visitati ogni 3-4 mesi. La loro età media era di 34 ± 9 anni, il BMI 25 ± 3 Kg/m² e la HbA1c di $8.0\pm 1.0\%$. La durata del diabete variava da 1 a 34 anni. Il gruppo di controllo era formato da diciotto soggetti volontari comparabili per età normotesi e normoglicemici, reclutati tra i lavoratori del nostro dipartimento. Nessuno dei partecipanti aveva una storia di ipertensione arteriosa, iperlipidemia o patologie cardiovascolari. Nessuno dei soggetti di controllo assumeva farmaci. I pazienti diabetici non assumevano farmaci all'infuori dell'insulina e degli ACE-inibitori, in caso di microalbuminuria. Tutti i partecipanti (diabetici e soggetti normali) sono stati sottoposti ad un test ergometrico al treadmill massimale per escludere la presenza di malattia delle coronarie. Diciotto diabetici e sei soggetti di controllo erano dei blandi

fumatori (<10 sigarette/giorno). Ogni individuo ha dato il proprio consenso informato scritto ed il protocollo è stato approvato dalla Commissione Etica dell'Università "Federico II".

Screening per le complicanze microvascolari

La neuropatia autonoma, è stata valutata mediante tre test di funzione autonoma cardiovascolare (variazione cardiaca durante inspirazione profonda, la risposta della pressione arteriosa in risposta all'ortostatismo, il rapporto del Valsalva), e definita dalla presenza di anomalie in almeno due test. La neuropatia periferica è stata diagnosticata in base alla combinazione di sintomi tipici e alla perdita della sensibilità distale associata ad assenza di riflessi. L'esame del fondo oculare è stato eseguito da diabetologi di esperienza. La retinopatia non proliferativa è stata definita in base alla presenza di sparsi microaneurismi ed emorragia. La microalbuminuria è stata definita sulla base di un'escrezione renale $> 30 \mu\text{g}/\text{min}$ in almeno due su tre campioni di urine raccolti in un periodo di 6 mesi (15).

Esame ecocardiografico

Tutti i diabetici ed i soggetti di controllo sono stati sottoposti ad esame ecocardiografico standard e con Doppler tissutale con un apparecchio Vivid 7 (GE, Milwaukee, Wisconsin, USA) equipaggiato di una sonda a 2.5 MHz dotata di trasduttore phased-array. Le immagini M-mode sono state registrate, e le misure sono state eseguite come già riportato precedentemente in dettaglio (16). La massa ventricolare (LV) è stata normalizzata per l'altezza espressa in metri ^{2.7}. La funzione sistolica del ventricolo sinistro è stata valutata sia sull'endocardio che come frazione di accorciamento (17). Lo spessore relativo di parete è stato determinato come rapporto tra la somma degli spessori del setto e della parete posteriore e il diametro telediastolico del Ventricolo sinistro.

Riserva di flusso coronarico

La valutazione della riserva di flusso coronarico è stata eseguita dopo 12-14 h di digiuno notturno; ai partecipanti è stato chiesto di non assumere bevande contenenti caffè e di astenersi dal fumo di sigaretta e dall'esercizio fisico pesante per almeno 24

prima del test. I pazienti diabetici hanno assunto la loro dose usuale serale di insulina long acting la sera prima del test, mentre, hanno saltato l'assunzione della dose di insulina prima di colazione visto che il test era eseguito a digiuno di mattina.

L'ecocardiografia transtoracica da stress è stata eseguita con sonde multifrequenza con sector scan phased-array e con possibilità di armonica. L'ecocardiogramma bidimensionale ed il monitoraggio ECG a 12 derivazioni sono stati eseguiti in combinazione durante l'alta dose di Dipyridamolo (0.84 mg/Kg in 6 minuti). La cinesi globale e segmentaria del ventricolo sinistro è stata valutata a riposo ed immediatamente dopo l'infusione dell'alta dose di Dipyridamolo seguendo i protocolli standard dell'ecocardiografia da stress (5,18). Le immagini ecocardiografiche sono state valutate usando lo schema a 17 segmenti del ventricolo sinistro ed usando un modello di scala a 4 punti ed il wall motion score index è stato ottenuto dividendo la somma del punteggio dato ad ogni singolo segmento per il numero dei segmenti interpretabili (18). L'ischemia inducibile è stata definita dalla presenza di nuove anomalie della cinesi indotte dallo stress e/o da un peggioramento

di anomalie già esistenti. Un esame è stato giudicato negativo se non erano presenti anomalie della cinesi a riposo o dopo stress. La riserva di flusso coronarico è stata eseguita durante l' ecocardiografia da stress standard attraverso una valutazione intermittente sia delle immagini della cinesi sia del flusso dell'arteria discendente anteriore (LAD) (19). Le velocità di flusso coronarico sono state campionate usando il color doppler pulsato campionando l'arteria discendente anteriore in una finestra parasternale bassa asse lungo, nel suo tratto medio distale, seguendo gli standard del nostro laboratorio (20). In breve, il volume campione del doppler è stato posizionato sull'immagine visibile al color ed il segnale spettrale del doppler pulsato è stato registrato per analizzare le caratteristiche del tipico pattern bifasico, che presenta velocità sistoliche e diastoliche, sia a riposo che dopo Dipiridamolo. Tutte le immagini sono state registrate in un disco magneto-ottico e sono state analizzate offline da due osservatori in cieco per la sequenza degli esami, ,dopo essere state randomizzate le registrazioni sono state mischiate con gli altri esami di CFR.

Per calcolare la riserva di flusso coronarico, le velocità di picco diastolico sono state misurate considerando il picco più alto tra tre immagini campionate al doppler sia a riposo, che dopo infusione di Dipyridamolo. La CFR è stata definita come il rapporto tra velocità di picco diastolico iperemico e quelle a riposo. Un valore di CFR ≤ 2 è stato considerato anormale. Gli aspetti metodologici e la riproducibilità della CFR nel nostro laboratorio (1.9% di variabilità intra-osservatore e 4.2% di variabilità inter-osservatore) sono già stati riportati in altri studi (20).

Metodi Analitici

La glicemia totale sierica, il colesterolo, i trigliceridi e HDL colesterolo sono stati misurati attraverso Kit reperibili a livello commerciale. LDL colesterolo sierico è stato calcolato mediante la formula di Friedewald. L'emoglobina glicosilata è stata determinata con HPLC. L'albumina urinaria è stata calcolata mediante immunoturbimetria.

Analisi Statistica

La dimensione del campione in oggetto dello studio è stata basata sull'ipotesi che la CFR nei soggetti diabetici fosse ridotta del 25% rispetto a quella dei soggetti normali, questo in base a precedenti studi su diabetici di tipo II. Quindi, con una capacità del 95%, una deviazione standard di 0.6 ed un livello a due lati alfa di 0.05, il campione in esame sarebbe dovuto essere di 20 individui per ogni gruppo. I dati sono stati analizzati usando il software SPSS 12.0 (SPSS, Chicago, IL). I risultati sono stati espressi come media \pm SD. Le differenze tra i gruppi di partecipanti sono state valutate attraverso l'analisi della varianza con il test post hoc di Scheffe. L'analisi di regressione multipla è stata eseguita per valutare la relazione tra CFR e variabili del Diabete. La significatività statistica delle variabili è stata definita per valori $P < 0.05$

Risultati

Dati clinici, metabolici ed ecocardiografici

Le caratteristiche basali dei partecipanti sono riassunte nella tabella 1. I soggetti diabetici sono stati suddivisi in due gruppi in base allo stato delle complicanze microangiopatiche: Pazienti con (DC +) e pazienti senza (DC-) complicanze. Nel gruppo DC+, 10 avevano evidenza di retinopatia non proliferativa, 5 di microalbuminuria, 2 di neuropatia periferica e 6 sia di retinopatia che di microalbuminuria. I test di funzione per la neuropatia autonoma erano normali in tutti i soggetti diabetici. Da notare che circa il 40% dei diabetici aveva un BMI > 25 Kg/m² rispetto ad un 10% dei soggetti di controllo.

La durata del diabete era maggiore nei pazienti con complicanze microvascolari ($p < 0.002$). Non è stata individuata alcuna differenza nel profilo lipidico tra i pazienti diabetici, sia DC+ che DC-, ed i soggetti di controllo. Il controllo glicemico non era differente nei due sottogruppi di diabetici. I parametri ecocardiografici riguardanti la

massa ventricolare sinistra, lo spessore relativo di parete come pure le misure sia della funzione sistolica che di quella diastolica del ventricolo sinistro erano simili nei controlli e nei soggetti diabetici sia DC+ che DC- (tabella 2).

Valutazione della CFR parametri emodinamici

Durante l'infusione di dipiridamolo in nessuno dei partecipanti è stata riscontrata alcuna reazione avversa maggiore (eccetto che cefalea e arrossamento e senso di calore transitorio), né tantomeno sintomi anginosi, e nessun paziente ha mostrato modifiche significative dell'elettrocardiogramma o anomalie della cinesi segmentaria del ventricolo sinistro (il wall motion score index era di 1 sia a riposo che dopo dipiridamolo sia nei pazienti che nei controlli). Il giorno del test , la glicemia a digiuno era di 4.83 ± 0.22 mmol/l nei controlli , 10.28 ± 3.67 mmol/l nei DC- e 11.38 ± 3.45 mmol/l nei DC+. Le modifiche emodinamiche durante la valutazione della CFR sono riportate nella tabella 3. La pressione arteriosa sistolica e diastolica basale era simile nei tre gruppi e rimaneva sostanzialmente immodificata durante infusione di Dipiridamolo. La frequenza cardiaca a riposo era di 74 ± 10 , 74 ± 12 ,

74±11 battiti /min rispettivamente nei controlli, nei DC+ e nei DC-, ed incrementava in maniera simile (di circa il 40%) durante iperemia (Tab 3). Di conseguenza , non è stata individuata alcuna differenza tra le popolazioni in esame nei valori pressori a riposo e durante infusione di dipiridamolo. La velocità di flusso coronarico a riposo era di 0.21±0.05 m/sec nei controlli, 0.22±0.05 m/sec nei DC+ e 0.23±0.06 m/sec nei DC- (p=NS). Il Dipiridamolo induceva una crescita delle velocità di picco coronarico diastolico pari a tre volte il valore basale in tutti e tre gruppi. Pertanto le velocità di picco coronarico dopo Dipiridamolo raggiungevano valori simili nei soggetti di controllo (0.69 ±0.16 m/sec) nei DC+ (0.66±0.11 m/sec) e nei DC- (0.69±0.18 m/sec).

Il valore di CFR era simile nei controlli (3.33±0.66) e nei soggetti diabetici, sia DC + (3.24±0.60) che nei DC- (3.30±0.51). In base all'analisi dei valori individuali, due pazienti DC+ e due DC- avevano valori di riserva sotto i 2.5, ma nessuno al di sotto dei 2. Per eliminare il possibile effetto confondente sulla riserva , è stata poi eseguita l'analisi di regressione lineare multipla usando come variabili indipendenti l'età, il

nesso, il BMI, Hba1c, la durata del diabete e le complicanze. Nessuna delle variabili considerata è risultata associata in maniera significativa ai valori di CFR .

Discussione

Il presente studio dimostra che la risposta vasomotoria coronarica è preservata nei giovani diabetici di tipo I senza fattori di rischio cardiovascolari, ciò dimostrato dal fatto che il valore di CFR è simile a quello dei soggetti di controllo. Da notare, che lo stesso avveniva anche nei diabetici tipo I con iniziali segni di microangiopatia. E'anche giusto considerare che nei nostri pazienti la ricerca di ischemia silente si basava sia su un test al treadmill massimale normale che su una normale risposta della cinesi segmentaria del ventricolo sinistro alla alta dose di dipiridamolo.

Anomalie funzionali e strutturali del microcircolo coronarico sono già state evidenziate nei pazienti diabetici con evidenza angiografica di coronarie normali (3-5). Queste anomalie potrebbero giocare un ruolo cruciale nel determinare alterazioni della riserva di flusso coronarico e potrebbero interferire con l'abilità del circolo coronarico ad autoregolare il flusso ematico in risposta alle esigenze metaboliche. L'ipoperfusione cronica miocardica, associata agli effetti sfavorevoli del diabete

mellito (l'iperglicemia e l'insulino resistenza), potrebbero influenzare negativamente la funzione ventricolare sistolica e diastolica (21), determinando un circolo vizioso auto-perpetuante nel quale la vasoreattività coronarica e la funzione miocardica peggiorano l'una con l'altra causando la cardiomiopatia diabetica (7,21,22). Su queste basi, appare rilevante la recente scoperta del ruolo prognostico indipendente svolto dalla riserva di flusso coronarico nei pazienti diabetici (23).

Finora , era stata individuata l'alterazione dei piccoli vasi coronarici sia nei diabetici di tipo I che di tipo II, con complicanze microangiopatiche in fase avanzata e/o in presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare (6-12). Nel nostro studio, la cinetica regionale e la vasoreattività coronarica erano preservate nei diabetici di tipo I, anche in quelli con iniziale microangiopatia, ciò suggerirebbe il fatto che l'alterazione delle coronarie si svilupperebbe in una fase tardiva di malattia e/o in presenza di alterazioni microangiopatiche più avanzate in altri organi. I nostri risultati differiscono da quelli di Pitkanen et al (11) e Sundell et al (12) che hanno riscontrato un'alterata riserva di flusso coronarico in giovani adulti diabetici di tipo I con

retinopatia. Comunque in questi due studi il flusso miocardico basale e quello iperemico erano misurati durante clamp insulinico euglicemico, e quindi veniva sostanzialmente studiato l'effetto vasodilatatore sul circolo miocardico indotto dall'insulina. Nel nostro studio, la vasoreattività coronarica veniva testata dal punto di vista clinico.

Un testo recentemente dibattuto riguarderebbe le possibili differenze nel coinvolgimento microvascolare coronarico tra diabetici di tipo I e II, alla luce delle loro specificità patofisiologiche e metaboliche. Le alterazioni del microcircolo coronarico sarebbero precoci nel Diabete Mellito tipo II, probabilmente a causa della coesistenza di altri fattori di rischio cardiovascolare che influenzerebbero negativamente la vaso reattività coronarica (5,25, 26). Nei pazienti con Diabete Mellito tipo I, l'assenza di fattori di rischio cardiovascolare per molto tempo potrebbe invece spiegare il motivo per cui il deterioramento della microcircolazione coronarica sarebbe più lento. Piuttosto che porci la questione o minimizzare l'effetto deprimente svolto dall'iperglicemia sulla cellula endoteliale, vorremmo sottolineare

con il nostro studio, che la risposta vascolare all'iperglicemia potrebbe essere diversa a seconda della regione vascolare e al grado, durata e pattern dell'iperglicemia stessa (28-30).

Inoltre dal momento che il Dipiridamolo induce una vasodilatazione sia endotelio dipendente che non endotelio dipendente, una normale risposta al dipiridamolo non può escludere la presenza di disfunzione endoteliale in questi pazienti.

La misurazione della CFR attraverso ecocardiografiadoppler transtoracica presenta alcuni limiti di cui va discusso. L'approccio Doppler non misura un flusso assoluto, ma un gradiente di velocità del flusso dell'arteria discendente anteriore, che rappresenta un indice affidabile del flusso coronarico, comprovante il fatto che il diametro del vaso rimane costante, specialmente durante l'iperemia. Comunque, studi eseguiti con metodiche invasive ultrasonografiche intracoronariche hanno dimostrato che la variazione del diametro dei vasi epicardici in risposta a stimoli iperemici è trascurabili (circa 5%) (31). Inoltre, è stata riscontrata un'ottima concordanza tra le misure ottenute mediante ecocardiografia transtoracica e quelle ottenute mediante

ultrasonografia doppler intracoronarica invasiva, che rappresenta tutt'ora la metodica gold standard(13).

La possibilità che nei pazienti diabetici la terapia insulinica possa aver mascherato una potenziale alterazione nella vasodilatazione coronaria dovrebbe essere considerata. Questa ipotesi, comunque, appare piuttosto remota dal momento che la vasodilatazione da insulina si verifica per concentrazioni plasmatiche al di sopra dei 30-35 IU/L (32), livello molto più alto di quello riscontrato nei pazienti trattati con insulina.

I Limiti del nostro studio sono anche legati al tipo di studio trasversale, che non permette di capire le modifiche patofisiologiche alla base dell'alterazione del microcircolo coronarico. La valutazione prospettica di questi pazienti ci aiuterà ad approfondire tale aspetto.

In conclusione, la vasoreattività coronaria è preservata nei giovani diabetici di tipo I, persino in quelli con lunga durata di malattia e con complicanze microangiopatiche non estese. Queste osservazioni indirettamente supportano l'idea che i fattori di

rischio associati alla resistenza insulinica avrebbero un maggiore impatto avverso sul microcircolo coronarico rispetto all'iperglicemia stessa da sola.

Bibliografia

1. Wei M, Gaskill SP, Haffner SM, Stern MP. Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality. The San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1998; 21: 1167-72.
2. Morrish NJ, Wang S-L, Stevens LK, Fuller JH, Keen H and the WHO Multinational Study Group. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia* 2001; 44 (Suppl 2): S14-S21
3. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptecar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and Ach-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 1993; 42:1017-25,
4. Nahser PJ, Brown RE, Oskarsson H, Winniford MD, Rossen JD. Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilatation in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1995; 91: 635-40-
5. Galderisi M, Capaldo B, Sidiropulos M., D'Errico A, Ferrara L, AA Turco et al.

Determinants of reduction of coronary flow reserve in patients with type 2 diabetes mellitus or arterial hypertension without angiographically determined epicardial coronary stenosis. *Am J Hypertens* 2007; 20:1283-90

6. Akasaka T, Yoshida K, Hozumi T, Tagagi T, Kaji S, Kawamoto T et al. Retinopathy identifies marked restriction of coronary flow reserve in patients with diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1997;30: 935-41

7. Strauer B, Motz W, Vogt N, Schwartzkopff B. Impaired coronary flow reserve in NIDDM. A possible role for diabetic cardiopathy in humans. *Diabetes* 1997;46:119-24.

8. Di Carli MF, Bianco-Batles D, Landa ME, Kazmers A, Groehn A, Muzik O et al. Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1999; 100: 813-19.

9. Taskiran M, Fritz-Hansen T, Rasmussen V, Larsson HBW, Hilsted J. Decreased myocardial perfusion reserve in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 2002; 51:306-10.

10. Pop-Busui R, Kirkwood I, Schmid H, Marinescu V, Schroeder J, Larkin D et al. Sympathetic dysfunction in type 1 diabetes. Association with impaired myocardial blood flow reserve and diastolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44, 2368-74.
11. Pitkanen OP, Nuutila P, Raitakari OT, Ronnema T, Koskinen PJ, Iida H et al. Coronary flow reserve is reduced in young men with IDDM. *Diabetes* 1998; 47:248-54.
12. Sundell J, Janatuinen T, Ronnema T, Raitakari OT, Toikka J, Nuutila P. Diabetic background retinopathy is associated with impaired coronary vasoreactivity in people with Type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004; **47**:725-31.
13. Caiati C, Montaldo C, Zedda N, Montisci R, Ruscazio M, Lai G, et al. Validation of a new noninvasive method (contrast-enhanced transthoracic second harmonic echo Doppler for the evaluation of coronary flow reserve. Comparison with intracoronary Doppler flow wire. *J Am Coll Cardiol* 1999;**34**:1193-200.

14. Dimitrow PP, Galderisi M, Rigo F. The non invasive documentation of coronary microvascular impairment: role of transthoracic echocardiography. *Cardiovasc Ultrasound* 2005; **3**: 18-23.
15. Position Statement of American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 32: S13-S61, 2009.
16. de Simone G, Scalfi L, Galderisi M, Celentano A, Di Biase G, Tammaro P. Cardiac abnormalities in young women with anorexia nervosa. *Br Heart J* 1994; 71:287-92.
17. de Simone G, Devereux RB, Roman MJ, Ganau A, Saba PS, Alderman MH. Assessment of left ventricular function by the midwall function shortening/end-systolic stress relation in human hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:1444-51.
18. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, Kasprzak J, Lancellotti P, Poldermans D, Voigt JU, Zamorano JL for the European Association of Echocardiography. Stress Echocardiography Expert Consensus Statement--Executive

Summary: European Association of Echocardiography. EUR Heart J 0(3):278-89,

2009.

19. Rigo F, Richieri M, Pasanisi E, Cutaia V, Zanella C, Della Valentina P et al.

Usefulness of coronary flow reserve over regional wall motion when added to dual-imaging dipyridamole echocardiography. Am J Cardiol 2003; 91:269-273.

20. Galderisi M, Cicala S, Caso P, De Simone L, D'Errico A, Petrocelli A et al.

Coronary flow reserve and myocardial diastolic dysfunction in arterial systemic hypertension. Am J Cardiol 2002; 90:860:64.

21. Galderisi M. Diastolic dysfunction and diabetic cardiomyopathy. J Am Coll

Cardiol 2006; 48:1548-1551.

22. Standl E, Schnell O. A new look at the heart in diabetes mellitus: from ailing to

failing. Diabetologia 2002; 43:1455-69.

23. Cortigiani L, Rigo F, Gherardi S, Sicari R, Galderisi M, Bovenzi F et al.

Additional prognostic value of coronary flow reserve in diabetic and nondiabetic patients with negative dipyridamole stress echocardiography by wall motion criteria.

J Am Coll Cardiol 2007; 50:1354-1561.

24. Nitenberg A, Ledoux S, Valensi P, Sachs R, Attali JR, Antony I. Impairment of coronary microvascular dilation in response to cold pressor-induced sympathetic stimulation in type 2 diabetic patients with abnormal stress thallium imaging.

Diabetes 2001; 50:1180-5

25. Di Carli M, Janisse J, Grunberger G, Ager J. Role of chronic hyperglycemia in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in diabetes. J Am Coll

Cardiol 2003; 41:1387-93.

26. Prior JO, Quiñones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Facta AD, Schindler TH, Sayre JW et al. Coronary circulation dysfunction in insulin resistance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. Circulation 2005; 111, 2291-8

27. Quiñones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Schelbert H, Bulnes-Enriquez I, Jimenez X, Hernandez G et al. Coronary vasomotor abnormalities in insulin-resistant individuals. Ann Intern Med 2004; 140:700-8.

28. Sorensen VR, Mathiesen ER, Clausen P, Flyvbjerg A, Feldt-Rasmussen B. Impaired vascular function during short-term poor glycaemic control in Type 1 diabetic patients. *Diabet Med* 2005; 22:871-876.
29. Capaldo B, Galderisi G, Turco AA, D'Errico A, Turco S, Rivellese AA et al. Acute hyperglycemia does not affect the reactivity of coronary microcirculation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:3871-76.
30. Sundell J, Laine H, Nuutila P, Ronnema T, Luotolahti M, Raitakari O et al. The effect of insulin and short-term hyperglycemia on myocardial blood flow in young men with uncomplicated Type 1 diabetes. *Diabetologia* 2002;45:775-782.
31. Sudhir K, MacGregor JS, Barbant SD. Assessment of coronary conductance and resistance vessel reactivity in response to nitroglycerin, ergonovine and adenosine: in vivo studies with simultaneous intravascular two-dimension and Doppler ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21:1261-1268.

32. Scherrer U, Sartori C. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone.

Implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity, and cardiovascular morbidity. *Circulation* 1997; 96: 4104-13.

TABLE 1 Clinical and biochemical characteristics of control, DC- and DC+ type 1 diabetic subjects

	Controls	DC -	DC +
<i>n</i>	18	25	23
Sex (men /women)	12/4	18/7	12/11
Age (years)	35±8	33±9	35±9
Duration of diabetes (years)	---	11±8	19±9 *
BMI (Kg/m ²)	25±2	25±3	24±2
Fasting plasma glucose (mmo/l)	4.83±0.22	10.28±3.67	11.38±3.45
Total Cholesterol (mmol/l)	4.3±0.6	4.7± 0.8	5.1±0.9
Triglycerides (mmol/l)	1.0±0.6	0.9±0.5	0.9±0.4
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.4±0.2	1.5±0.4	1.6 ±0.4
HbA1c (%)	---	7.7±1	8.3±1
Current smoke	6 (30%)	8 (32%)	10 (43%)

Values are mean±SD

*p<0.002

TABLE 2 Echocardiographic characteristics of control and diabetic subjects

	Controls	DC -	DC +
<i>n</i>	18	25	23
Cardiac geometry			
Left ventricular mass (g/m ^{2.7})	31±8	34±6	32±7
Relative wall thickness	0.33±0.07	0.35±0.06	0.33±0.07
Systolic function			
Endocardial fractional shortening (%)	32±4	36±5	35±5
Ejection fraction (%)	61±7	66±9	65±9
Diastolic function			
Isovolumic relaxation time (ms)	78±9	78±12	77±13
E/A ratio	1.39±0.38	1.46±0.43	1.50±0.34
Deceleration time (ms)	190±15	191±36	186±34

TABLE 3 Hemodynamic data during CFR measurement in control, DC- and DC+

	Controls	DC –	DC +
<i>n</i>	18	25	23
Rest			
HR (beats /min)	74±10	72±11	74±12
SBP (mmHg)	121±11	122±13	119±16
DBP (mmHg)	78±7	73±9	76±9
RPP(mmHg x beats/min)	8867±1687	8749±1586	8858±2430
DCFV (m/s)	0.21±0.05	0.23±0.06	0.22±0.05
Dipyridamole			
HR (beats /min)	94±15	103±12	103±12
SBP (mmHg)	119±12	115±14	113±12
DBP (mmHg)	75±7	66±12	67±9
RPP(mmHg x beats/min)	11234±1828	11829±1961	11660±2031
DCFV	0.69±0.16	0.69±0.18	0.66±0.11
CFR	3.33±0.66	3.30±0.51	3.24±0.60

Values are mean ± SD; HR, heart rate; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; RPP, rate-pressure product ; DCFV, diastolic coronary flow velocity