

a 10 anni, un BMI < 34 kg/m<sup>2</sup> ed erano in terapia con la sola metformina.

La constatazione che l'efficacia e la durata nel tempo della terapia con Liraglutide siano influenzate da una migliore riserva beta cellulare dovrebbero indurre quindi, anche e soprattutto nella pratica clinica abituale, ad abbandonare l'inerzia terapeutica e ad effettuare una precisa fenotipizzazione del paziente candidato ad un determinato trattamento terapeutico per ottenere un miglior risultato anche in termini di costo efficacia.

**Conflitto di interessi:** nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y, et al. Beta-cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 90:493-500, 2005.
2. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 352: 837-853, 1998.
3. Hermansen K, Mortensen LS. Body weight changes associated with anti hyperglycaemic agents in type 2 diabetes mellitus. *Drug Saf* 30: 1127- 42, 2007.
4. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 29: 1963-72, 2006.
5. Inzucchi SE, Bergenstal R M, Buse JB, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* 35: 1364-1379, 2012.
6. Cryer PE Hypoglycaemia: the limiting factor in the glycaemic management of type I and type II diabetes. *Diabetologia* 45:937-948, 2002.
7. Nauck MA Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *Am J Med* 124:S3-S18, 2011.
8. Russell-Jones D. Molecular, pharmacological and clinical aspects of liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue. *Mol Cell Endocrinol* 297:137- 40, 2009.
9. Vilsboll T, Zdravkovic M, Le-Thi T, et al. Liraglutide, a long-acting human glucagon-like peptide-1 analog, given as monotherapy significantly improves glycaemic control and lowers body weight without risk of hypoglycemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 6 : 1608-1610, 2007.
10. Marre M, Shaw J, Brandle M, et al. LEAD-1 SU study group. Liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, added to a sulphonylurea over 26 weeks produces greater improvements in glycaemic and weight control compared with adding rosiglitazone or placebo in subjects with Type 2 diabetes (LEAD-1 SU). *Diabet Med*, 26:268-78, 2009.
11. Nauck MA, Frid A, Hermansen K, et al. LEAD-2 Study Group. Efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride, and placebo, all in combination with metformin, in type 2 diabetes: the LEAD (liraglutide effect and action in diabetes)-2 study. *Diabetes Care* 3:84-90, 2009.
12. Zinman B, Gerich J, Buse JB, et al. Efficacy and safety of the human GLP- 1 analog liraglutide in combination with metformin and TZD in patients with type 2 diabetes mellitus (LEAD-4 Met + TZD). *Diabetes Care* 32:1224- 30, 2009.
13. Russell-Jones D, Vaag A, Schmitz O, et al. Liraglutide Effect and Action in Diabetes 5 (LEAD-5) met+SU Study Group. Liraglutide vs. insulin glargine and placebo in combination with metformin and sulfonylurea therapy in type 2 diabetes mellitus (LEAD-5 met+SU): a randomised controller trial. *Diabetologia* 52:2046-55, 2009.
14. Buse J, Rosenstock J, Sesti G, et al. for the LEAD-6 Study Group. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomized, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). *Lancet* 374:39-47, 2009.
15. Nauck MA, Hompesch M, Filipczak R, et al. NN2211499 Study Group. Five weeks of treatment with the GLP-1 analogue liraglutide improves glycaemic control and lowers body weight in subjects with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 9:417- 423, 2006.
16. Feinglos MN, Saad MF, Pi-Sunyer FX, et al. Liraglutide Dose-Response Study Group. Effects of liraglutide (NN2211), a long-acting GLP-1 analogue, on glycaemic control and body weight in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 8:1016-1023, 2005.
17. Garber A, Henry R, Ratner R, Garcia-Hernandez PA, et al. LEAD-3 (Mono) Study Group. Liraglutide versus glimepiride monotherapy for type 2 diabetes (LEAD-3 Mono): a randomised, 52-week, phase III, double-blind, parallel-treatment trial. *Lancet* 373:473-81, 2009.

## La struttura circadiana della pressione arteriosa diastolica nel diabete mellito e nell'ipertensione arteriosa essenziale



E. Matteucci, L. Della Bartola, C. Giampietro, C. Consani, O. Giampietro

elena.matteucci@med.unipi.it

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

**Parole chiave:** Diabete tipo 1, Diabete tipo 2, Ipertensione essenziale, Monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa, Ritmo circadiano

**Key words:** Type 1 diabetes, Type 2 diabetes, Essential hypertension, Ambulatory blood pressure monitoring, Circadian rhythm

## Riassunto

*Anomalie del profilo circadiano della pressione arteriosa sono state associate alla patologia cardiovascolare nel diabete mellito. Abbiamo precedentemente osservato che l'acrofase della pressione diastolica (DBP) di pazienti diabetici tipo 1 (T1D) era anticipata rispetto alla norma e tale ecfasia era più pronunciata nei pazienti con minore variabilità della frequenza cardiaca durante deep breathing test. Scopo del lavoro era*

Basato sul contributo presentato al XIX Congresso Nazionale AMD, svoltosi a Roma dal 29 maggio al 1 giugno 2013.

confrontare le caratteristiche del ritmo circadiano della BP in 4 gruppi di soggetti: controlli sani normotesi (NT), pazienti con T1D e diabete tipo 2 (T2D), pazienti con ipertensione essenziale (HT). Sono stati analizzati retrospettivamente i monitoraggi ambulatoriali 24 ore (ABPM) di 30 NT, 20 T1D, 20 T2D e 20 HT dei quali erano stati dosati contemporaneamente glicemia e HbA1c. I 4 gruppi erano confrontabili per età, sesso e BMI.

Il valore MESOR (midline-estimating statistic of rhythm) della pressione sistolica (SBP) e della DBP erano maggiori nei T1D, T2D e HT. L'ecfasia della DBP era riscontrabile solo nei pazienti diabetici: l'acrofase della DBP era anticipata di 4 ore nei T1D e di 2 ore nei T2D rispetto ai NT. Nell'analisi di regressione multipla, solo HbA1c e acrofase della SBP erano correlate con l'acrofase della DBP.

I soggetti affetti da diabete mellito, sia tipo 1 che tipo 2, presentano un'acrofase della DBP anticipata di 2-4 ore rispetto ai normotesi di controllo e agli ipertesi essenziali. Un'alterazione del ritmo circadiano della DBP, potenziale innesco di eventi cardiovascolari, sembra essere un aspetto distintivo del diabete mellito e correla con l'indice di controllo glicemico dei mesi precedenti.

## Summary

*Abnormal circadian blood pressure patterns have been associated with cardiovascular disease in diabetes mellitus. We have described that the acrophase of diastolic blood pressure (DBP) registered in type 1 diabetes (T1D) patients was significantly earlier than normal and DBP ecphasia was more pronounced in patients with lower heart rate variability during deep breathing. The aim of this study was to compare the circadian rhythm characteristics of BP among different groups: normotensive (NT) control subjects, patients affected by T1D and type 2 diabetes (T2D), and essential hypertensive patients (HT). We retrospectively evaluated ambulatory blood pressure monitoring records in 30 NT, 20 T1D, 20 T2D, 20 HT whose fasting plasma glucose and HbA1c were contemporaneously measured. The four groups were well matched regarding age, gender, and BMI.*

*Systolic blood pressure (SBP) and DBP midline-estimating statistic of rhythm were higher in T1D, T2D, and HT groups. DBP ecphasia was present only in the diabetic individuals: the acrophase of DBP occurred four hours earlier than normal in T1D group, whereas two hours earlier in T2D group. In a multiple regression analysis, only HbA1c and SBP acrophase were statistically significant correlates of DBP acrophase.*

*People with diabetes mellitus, both type 1 and type 2, have their circadian acrophase of DBP occurring 2-4 hours earlier than normotensive and hypertensive subjects. Altered circadian timing of DBP, potential trigger of cardiovascular events, seems to be a distinguishing feature of diabetes mellitus and correlates with the previous 2-3 months of glycemic control.*

## Scopo del lavoro

La pressione arteriosa (blood pressure, BP) presenta fluttuazioni a breve e a lungo termine, che riflettono l'interazione di molteplici fattori comporta-

mentali, ambientali, umorali e neurologici (centrali e riflessi)<sup>(1)</sup>. Le variazioni a breve termine comprendono il ritmo circadiano della BP, caratterizzato da un decremento medio del 10-20% durante il sonno<sup>(1)</sup>. Nei mammiferi, l'orologio circadiano centrale è situato nei nuclei soprachiasmatici dell'ipotalamo anteriore ma oscillatori simili sono stati riscontrati anche in altri tessuti, inclusi i cardiomiociti<sup>(2,3)</sup>. Anomalie del profilo circadiano della BP, esaminate mediante monitoraggio ambulatoriale (ambulatory blood pressure monitoring, ABPM), predicono la prognosi cardiovascolare non solo nel paziente iperteso<sup>(4)</sup> ma anche nel paziente diabetico, nel quale studi di follow up hanno dimostrato che l'ABPM è associata a danno d'organo, predice la prognosi cardiovascolare e precede le complicanze macro e microvascolari del diabete<sup>(5-14)</sup>. In uno studio precedente, abbiamo osservato che l'acrofase della pressione diastolica (DBP) di pazienti diabetici tipo 1 (T1D) era anticipata rispetto alla norma e tale ecfasia era più pronunciata nei pazienti con minore variabilità della frequenza cardiaca durante deep breathing test<sup>(15)</sup>.

Scopo della presente ricerca era individuare le caratteristiche cronobiologiche della curva pressoria circadiana specifiche della patologia diabetica mediante il confronto dei monitoraggi dinamici della pressione arteriosa in 4 gruppi di soggetti: controlli sani normotesi (NT), pazienti con T1D e diabete tipo 2 (T2D), pazienti con ipertensione essenziale (HT).

## Materiali e metodi

Abbiamo analizzato retrospettivamente i monitoraggi ambulatoriali 24 ore (ABPM) di 270 soggetti, eseguiti con apparecchio automatico oscillometrico (Takeda TM-2430) come già descritto<sup>(15)</sup>. Sono stati esclusi i soggetti che avevano dati clinici incompleti o privi della determinazione contemporanea di glicemia a digiuno (FPG) e HbA1c. Sono stati inclusi i soggetti di età compresa fra 20 e 78 anni che avevano >70% di misurazioni valide nelle 24 ore, in totale 90 soggetti: 30 NT, 20 T1D, 20 T2D e 20 HT. I 4 gruppi erano confrontabili per età, sesso e BMI (Tabella 1). I soggetti normotesi di controllo non stavano assumendo alcuna terapia nè presentavano evidenza clinica di malattia. La percentuale di fumatori non differiva tra i 4 gruppi (17-20%). La durata media del diabete era 29 14 anni nei T1D e 9 8 anni nei T2D. La terapia ipotensiva includeva: inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina o antagonisti del recettore dell'angiotensina II (10 T1D, 14 T2D, 12 HT), calcio antagonisti (3 T1D, 4 T2D, 5 HT), beta bloccanti (2 T1D, 4 T2D, 3 HT), alfa bloccanti (1 T1D, 2 T2D, 1 HT), e/o diuretici (2 T1D, 5 T2D, 5 HT). Quattordici T1D e 4 T2D avevano retinopatia diabetica (background o proliferativa, diagnosticata mediante esame del fundus e fluorangiografia). Un T1D e 1

**Tabella 1** Caratteristiche clinico-biochimiche e risultati del monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa nei vari gruppi.

Caratteristica	NT	T1D	T2D	HT	P
Sesso (F/M)	17/13	13/7	10/10	10/10	0.678
Età (anni)	55±10	53±7	57±7	54±7	0.230
BMI (Kg/m2)	26±5	26±4	29±4*	28±4	0.125
FPG (mmol/l)	5.0±0.5	10.8±4.5*	9.0±3.4*	5.4±0.6*#	<0.0001
HbA1c (%)	5.5±0.3	8.7±1.2*	7.2±1.4*°	5.7±0.3*#	<0.0001
SBP MESOR (mmHg)	123±8	136±11*	134±15*	139±13*	<0.0001
SBP Amplitude (mmHg)	9±5	11±4	8±4°	10±5	0.168
SBP Acrophase (hour)	14±4	14±5	13±4	15±4	0.523
DBP MESOR (mmHg)	75±5	76±5	79±7*	83±9*°#	0.0003
DBP Amplitude (mmHg)	7±4	6±4	6±2	7±3	0.265
DBP Acrophase (hour)	14±3	10±4*	12±4*	14±2°#	0.0002

Dati espressi come media±DS e confrontati mediante ANOVA. NT, soggetti sani di controllo; T1D, pazienti con diabete tipo 1; T2D, pazienti con diabete tipo 2; HT, ipertesi essenziali; BMI, indice di massa corporea; FPG, glicemia a digiuno; SBP, pressione sistolica; DBP, pressione diastolica; MESOR, midline-estimating statistic of rhythm. \* P < 0.05 vs controlli sani; ° P < 0.05 vs T1D; # P < 0.05 vs T2D.

T2D avevano microalbuminuria persistente, mentre 3 T1D e 2 T2D avevano macroalbuminuria (tutti con creatinemia < 133 µmol/l). Riguardo alla presenza di neuropatia autonoma non è stato possibile inserire dati in merito per la non confrontabilità dei gruppi esaminati. Infatti, mentre la neuropatia diabetica era diagnosticata nel 25% dei T1D e nello 0% dei NT, la batteria completa delle indagini neurofisiologiche non era disponibile nei T2D molti dei quali, per motivi di età e patologie associate, non erano riusciti a completarla. Questo bias non permetteva un corretto confronto statistico. L'accuratezza della registrazione ABPM era confermata dalla misurazione iniziale della BP mediante metodo auscultatorio. I pazienti registravano su un diario l'orario della sveglia e i periodi di riposo diurno e notturno. L'analisi statistica è stata eseguita mediante Aabel 3 (Gigawiz, Oklahoma City, Oklahoma, USA): i risultati sono espressi come mean±SD; il confronto statistico ha impiegato chi-square test, ANOVA o Kruskal-Wallis tests; la correlazione tra le variabili è stata valutata mediante Pearson's correlation coefficient o Spearman's rho; i predittori indipendenti delle variabili di interesse sono stati determinati mediante analisi di regressione multipla.

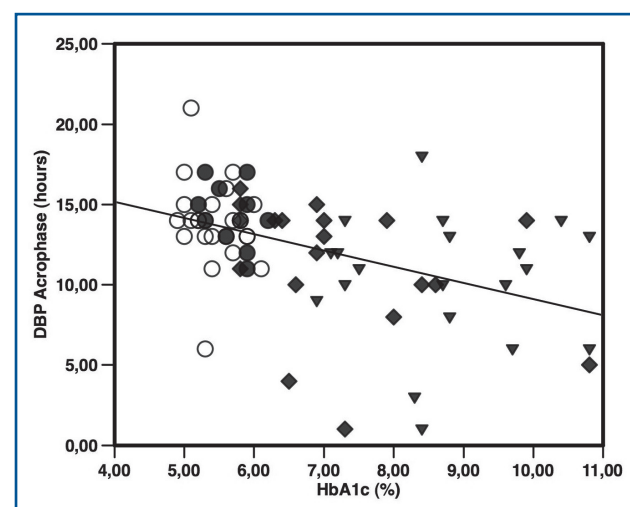
## Risultati

I pazienti con T1D e T2D avevano valori di FPG significativamente maggiori di NT e HT: i livelli maggiori di HbA1c erano riscontrati nei T1D (Tabella 1).

Il valore MESOR (midline-estimating statistic of

rhythm) della pressione sistolica (SBP) e della DBP erano maggiori nei T1D, T2D e HT. L'ecfasia della DBP era riscontrabile solo nei pazienti diabetici: l'acrofase della DBP era anticipata di 4 ore nei T1D e di 2 ore nei T2D rispetto ai NT.

Nell'analisi bivariata, l'acrofase della DBP correlava negativamente con HbA1c (r=0.46, p<0.0001, Figura 1) e FPG (r=0.30, p<0.01), e positivamente con l'acrofase della SBP (r=0.31, p<0.01) e l'ampiezza della DBP (DBP amplitude, r=0.21, p<0.05)



**Figura 1.** Retta di regressione della variabile dipendente DBP acrophase (hours) al variare della variabile esplicativa HbA1c (%) nei 4 gruppi di soggetti: NT (cerchio vuoto), T1D (triangolo capovolto pieno), T2D (rombo pieno), HT (cerchio pieno).

Nell'analisi di regressione multipla, solo HbA1c (beta coefficient = -1.1,  $p < 0.0001$ ) e acrofase della SBP (beta coefficient = 0.31,  $p < 0.01$ ) erano correlate con l'acrofase della DBP ( $r = 0.56$ ,  $p < 0.0001$ ).

## Conclusioni

I soggetti affetti da diabete mellito, sia tipo 1 che tipo 2, presentano un'acrofase della DBP anticipata di 2-4 ore rispetto ai normotesi di controllo e agli ipertesi essenziali. Un'alterazione del ritmo circadiano della DBP, potenziale innesco di eventi cardiovascolari, sembra essere un aspetto distintivo del diabete mellito e correla con l'indice di controllo glicemico dei 2-3 mesi precedenti, espresso dai livelli di HbA1c. È improbabile che la terapia farmacologica in corso spieghi lo spostamento di fase osservato perché: 1) la percentuale di pazienti in terapia ipotensiva era simile fra T1D, T2D e HT e 2) l'analisi cosinor ha generalmente dimostrato la preservazione del ritmo circadiano nei pazienti in terapia ipotensiva<sup>(16,17)</sup>. L'elevazione dei valori pressori nei soggetti diabetici può essere il ragionevole risultato dell'effetto cumulativo di molteplici fattori, come suggerito dai modelli animali<sup>(18)</sup>. Al contrario, non c'è ragione di pensare che alterazioni della viscoelasticità e/o della rigidità del sistema circolatorio (secondarie alle modificazioni post-translazionali delle proteine strutturali) possano di per sé spiegare questo spostamento di fase della DBP. Sembra più probabile che fattori circadiani contribuiscano all'alterazione del profilo giorno/notte che abbiamo osservato. A tale riguardo, è da notare che 1) l'iperglicemia inibisce l'espressione di *Per1* e *Per2* nei fibroblasti coltivati<sup>(19)</sup> e il fenomeno della protein O-GlcNAcylation riduce i livelli della proteina *Per2*, induce l'espressione del gene *bmal1* e induce cambiamenti di fase del ritmo circadiano del nucleo soprachiasmatico<sup>(20)</sup>.

Per comprendere le ragioni dell'alterata struttura circadiana della DBP nel diabete mellito, sono necessari altri studi che analizzino contemporaneamente i ritmi circadiani di molteplici parametri (quali la reattività simpato-vagale, l'aggregabilità piastrinica, la viscosità ematica, l'attività reninica plasmatica ecc.) alla ricerca di correlazioni fra predittori e la variabile cronobiologica in esame.

**Conflitto di interessi:** nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

1. Parati G, Ochoa JE, Bilo G. Blood pressure variability, cardiovascular risk, and risk for renal disease progression. *Curr Hypertens Rep* 14:421-31, 2012.
2. Takeda N, Maemura K. Circadian clock and cardiovascular disease. *J Cardiol* 57:249-56, 2011.
3. Durgan DJ, Young ME. The cardiomyocyte circadian clock: emerging roles in health and disease. *Circ Res* 106:647-58, 2010.
4. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 31:1281-357, 2013.
5. Mannucci E, Lambertucci L, Monami M et al. Pulse pressure and mortality in hypertensive type 2 diabetic patients. A cohort study. *Diabetes Metab Res Rev* 22:172-5, 2006.
6. Bouhanick B, Bongard V, Amar J et al. Prognostic value of nocturnal blood pressure and reverse-dipping status on the occurrence of cardiovascular events in hypertensive diabetic patients. *Diabetes Metab* 34:560-7, 2008.
7. Eguchi K, Pickering TG, Hoshida S et al. Ambulatory blood pressure is a better marker than clinic blood pressure in predicting cardiovascular events in patients with/without type 2 diabetes. *Am J Hypertens* 21:443-50, 2008.
8. Eguchi K, Ishikawa J, Hoshida S et al. Night time blood pressure variability is a strong predictor for cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Am J Hypertens* 22:46-51, 2009.
9. Eguchi K. Ambulatory blood pressure monitoring in diabetes and obesity – a review. *Int J Hypertens* 2011:954757, 2011.
10. Guntzsch Z, Saraví FD, Reynolds EA et al. Parental hypertension and 24 h-blood pressure in children prior to diabetic nephropathy. *Pediatr Nephrol* 17: 157-64, 2002.
11. Lengyel Z, Rosivall L, Németh C et al. Diurnal blood pressure pattern may predict the increase of urinary albumin excretion in normotensive normoalbuminuric type 1 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract* 62:159-67, 2003.
12. Marcovecchio ML, Dalton RN, Schwarze CP et al. Ambulatory blood pressure measurements are related to albumin excretion and are predictive for risk of microalbuminuria in young people with type 1 diabetes. *Diabetologia* 52: 1173-81, 2009.
13. Rodrigues TC, Canani LH, Viatroski RS et al. Masked hypertension, nocturnal blood pressure and retinopathy in normotensive patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 87:240-5, 2010.
14. Matteucci E, Giampietro O. Circadian rhythm pressure in diabetes mellitus: evidence, mechanisms and implications. *Curr Diabetes Rev* 8:355-61, 2012.
15. Matteucci E, Consani C, Masoni MC et al. Circadian blood pressure variability in type 1 diabetes subjects and their nondiabetic sibs - influence of erythrocyte electron transfer. *Cardiovasc Diabetol* 9:61, 2010.
16. Munakata M, Imai Y, Hashimoto J et al. The influence of antihypertensive agents on circadian rhythms of blood pressure and heart rate in patients with essential hypertension. *Tohoku J Exp Med* 166:217-27, 1992.
17. Germanò G, Federico L, Angotti S et al. Analysis of blood pressure rhythms for drug efficacy evaluation. *Ann N Y Acad Sci* 783:254-62, 1996.
18. Radovits T, Korkmaz S, Loganathan S et al. Comparative investigation of the left ventricular pressure-volume relationship in rat models of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297:H125-33, 2009.
19. Hirota T, Okano T, Kokame K et al. Glucose down-regulates *Per1* and *Per2* mRNA levels and induces circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts. *J Biol Chem* 277:44244-51, 2002.
20. Durgan DJ, Pat BM, Laczy B et al. O-GlcNAcylation: a novel post-translational modification linking myocardial metabolism and the cardiomyocyte circadian clock. *J Biol Chem* 286:44606-19, 2011.