

## Lavoro originale

# Funzione del microcircolo coronarico nel diabete mellito tipo 1

## RIASSUNTO

**Scopo dello studio.** Diverse evidenze cliniche e sperimentali hanno dimostrato che il diabete mellito di lunga durata si associa allo sviluppo di alterazioni funzionali dei piccoli vasi di resistenza coronarici. Non è noto se in pazienti con malattia di breve durata esenti da fattori di rischio cardiovascolare siano già riscontrabili alterazioni del microcircolo coronarico. Scopo dello studio è stato quello di valutare la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico, espressa dalla riserva di flusso coronarico (RFC) in giovani pazienti con diabete mellito tipo 1, con breve durata di malattia e assenza di complicanze micro- e macrovascolari.

**Disegno e metodi.** In 31 pazienti diabetici di tipo 1 (D) e in 11 soggetti di controllo (C) di entrambi i sessi, comparabili per età e indice di massa corporea, abbiamo valutato la velocità di flusso coronarico nell'arteria discendente anteriore sia a riposo sia dopo stimolo iperemico (infusione di dipiridamolo alla dose di 0,56 mg/kg in 4 minuti, seguita da intervallo libero e da una dose ulteriore di 0,28 mg/kg in 2 minuti) mediante ecocardiografia transtoracica Doppler color guidata. La RFC è stata calcolata come rapporto tra la velocità di picco diastolico dopo dipiridamolo e la velocità di flusso diastolico a riposo.

**Risultati.** L'età media dei soggetti era  $31 \pm 8$  anni nei D e  $32 \pm 7$  anni nei C; l'IMC era  $24,2 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> nei D e  $23,5 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup> nei C. La pressione arteriosa media, comparabile nei due gruppi in condizioni basali, rimaneva sostanzialmente invariata durante l'infusione di dipiridamolo [ $84 \pm 10$  (D) e  $89 \pm 8$  mmHg (C)]. La frequenza cardiaca, simile nei due gruppi in condizioni di riposo, aumentava della stessa entità (~35%) durante dipiridamolo. La velocità di flusso coronarico a riposo era simile nei due gruppi e aumentava dopo dipiridamolo a  $0,69 \pm 0,16$  nei D e  $0,80 \pm 0,19$  m/sec nei C ( $p = ns$ ). La RFC media era  $3,15 \pm 0,75$  nei soggetti diabetici e  $3,20 \pm 0,76$  nel gruppo di controllo ( $p = ns$ ).

**Conclusioni.** In una casistica ambulatoriale di giovani pazienti con diabete mellito di tipo 1 la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico, espressa dalla RFC, è risultata nella norma, suggerendo che le alterazioni del microcircolo coronarico si sviluppano in una fase più avanzata della malattia diabetica e/o in presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare.

## SUMMARY

**Coronary microcirculation in type 1 diabetes mellitus**

**Aim of the study.** Several studies have shown an impaired function of coronary microcirculation in patients with diabetes of long duration. No information is available on coronary vasodilatation in young type 1 diabetic patients free of micro- and macrovascular complications in the absence of other vascular risk factors. The present study was undertaken to explore this issue. The vasodilatory function of coronary microcirculation was evaluated by the coronary flow reserve (CFR).

**Research design and methods.** Thirty-one type 1 diabetic patients (D) and 11 control subjects (C) participated in the study.

**G. Nosso, M. Galderisi, G. Donnarumma, A.A. Turco, G. Riccardi, B. Capaldo**

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università "Federico II, Napoli"

Corrispondenza: dott.ssa Brunella Capaldo,  
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,  
Università degli Studi di Napoli "Federico II",  
via Pansini 5, 80131 Napoli  
e-mail: bcapaldo@unina.it

G It Diabetol Metab 2006;26:148-153

Pervenuto in Redazione il 5-5-2006  
Accettato per la pubblicazione il 31-5-2006

Parole chiave: riserva di flusso coronarico, diabete mellito tipo 1, microcircolo

Key-words: coronary flow reserve, type 1 diabetes mellitus, microcirculation

*The two groups were similar for blood pressure and lipid profile. Blood flow velocity in the left anterior descending coronary artery was measured at rest and after dipiridamole (0.56 mg/kg over 4 min followed by a further dose of 0.28 mg/kg in 2 min) using transthoracic color-guided pulsed Doppler echocardiography. CFR was defined as the ratio of hyperaemic to resting diastolic peak flow velocities. CFR assessment was performed in the fasting state before administration of the morning insulin dose.*

*Results.* Mean age was  $31 \pm 8$  years in D and  $32 \pm 7$  years in C; BMI was  $24,2 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> in D and  $23,5 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup> in C. Resting mean blood pressure was similar in the two groups and remained substantially unchanged during dipiridamole infusion [ $84 \pm 10$  (D) and  $89 \pm 8$  mmHg (C)]. Heart rate at rest was similar in D and C and increased to the same extent (~35%) after dipiridamole. Resting coronary flow velocity was comparable in two groups and increased after dipiridamole to  $0.69 \pm 0.16$  in D and  $0.80 \pm 0.19$  m/sec in C ( $p = ns$ ). CFR was  $3.15 \pm 0.75$  in D and  $3.20 \pm 0.76$  in C ( $p = ns$ ).

*Conclusions.* The vasodilatory response of coronary microcirculation is well preserved in type 1 diabetic patients suggesting that the impairment of coronary vasodilatation occurs in a more advanced stage of the disease and/or in the presence of other cardiovascular risk factors.

## Introduzione e scopo dello studio

Numerosi studi hanno dimostrato che la malattia cardiovascolare colpisce i pazienti diabetici con una frequenza 4-5 volte maggiore rispetto agli individui non diabetici<sup>1,2</sup>. Le più comuni manifestazioni del danno cardiaco sono: la miocardiopatia diabetica, la neuropatia autonoma cardiaca e la malattia dei vasi coronarici che si manifesta principalmente come aterosclerosi dei grossi rami epicardici. È noto, inoltre, che il diabete mellito determina alterazioni anche a carico dei piccoli vasi in diversi distretti dell'organismo (retina, reni, nervi), per cui è ragionevole ipotizzare che anche il microcircolo coronarico possa essere bersaglio degli effetti sfavorevoli dell'iperglicemia cronica e delle altre alterazioni metaboliche associate alla malattia diabetica. Diversi studi<sup>3,4</sup> hanno dimostrato una ridotta capacità di vasodilatazione del microcircolo coronarico in pazienti con diabete sia tipo 1 sia tipo 2, pur in assenza di lesioni dei grossi rami epicardici.

Più recentemente, è stata confermata la presenza di alterazioni funzionali del microcircolo coronarico nei pazienti diabetici con lunga durata di malattia e sottolineato come queste alterazioni si associno all'evidenza di complicanze microvascolari come la retinopatia<sup>5</sup> o la neuropatia autonoma cardiovascolare<sup>6,7</sup>. Resta però ancora da chiarire se le alterazioni del microcircolo coronarico siano identificabili in una fase iniziale della malattia diabetica in assenza di complicanze macrovascolari e microvascolari. Il nostro studio è stato intrapreso al fine di valutare in pazienti con diabete mellito tipo 1 senza complicanze la funzione vasodilatante del microcircolo coronarico espressa dalla riserva di flusso coronarico (RFC).

## Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 31 soggetti con diabete mellito di tipo 1 e 11 soggetti di controllo di ambedue i sessi. L'età media era di  $31 \pm 8$  anni ( $M \pm DS$ ) nei pazienti diabetici e di  $32 \pm 7$  anni nei controlli. Nessuno di essi aveva una storia familiare di malattia cardiovascolare precoce. Tutti avevano valori di pressione arteriosa nella norma e un profilo lipidico sovrapponibile. L'indice di massa corporea (IMC) era  $24,2 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> nei pazienti diabetici e  $23,5 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup> nel gruppo di controllo. Il compenso glicemico era poco soddisfacente con valori di emoglobina glicata (HbA<sub>1c</sub>) media pari a  $7,9 \pm 1\%$ . La durata di malattia era di  $11 \pm 8$  anni. Dieci soggetti nel gruppo dei diabetici e tre in quello di controllo riferivano abitudine al fumo ( $< 10$  sigarette/die). Tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato allo studio e il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II".

I soggetti diabetici sono stati sottoposti allo screening delle complicanze micro- e macroangiopatiche mediante esami di laboratorio di routine, dosaggio della microalbuminuria, misurazione dell'acuità visiva ed esame del fondo oculare, test di neuropatia periferica e autonoma e misurazione delle pressioni distali.

Sia i soggetti diabetici sia quelli di controllo sono stati sottoposti a ecocardiografia basale e a test ergometrico per valutare la funzione e la morfologia del cuore e per escludere la presenza di cardiopatia ischemica. Quindi, tutti i partecipanti sono stati sottoposti alla valutazione della RFC che è stata effettuata al mattino dopo 10-12 ore di digiuno; i pazienti diabetici non praticavano la loro dose insulinica del mattino. La pressione arteriosa e la frequenza cardiaca sono state rilevate al tempo 0 min e dopo lo stimolo iperemico.

Il flusso coronarico è stato misurato mediante ecocardiografia Doppler transtoracica, color-guidata (modello System Five Advantage della Electric Medical Systems) lungo il tratto medio-distale dell'arteria discendente anteriore o interventricolare anteriore (IVA). Con la guida del segnale color e posizionando il volume campione del Doppler pulsato sul vaso durante la fase diastolica – quando l'immagine è più stabile – è stata registrata la velocità di flusso nell'IVA. Questa procedura è stata effettuata sia in condizioni basali sia dopo vasodilatazione massimale indotta da uno stimolo iperemico. Nel nostro studio abbiamo utilizzato il dipiridamolo alla dose di 0,56 mg/kg infuso ev in 4 minuti, seguito da un intervallo libero e da una dose ulteriore di 0,28 mg/kg in due minuti<sup>8</sup>.

Non si è verificata alcuna reazione avversa durante la somministrazione di dipiridamolo a eccezione di una modesta quanto fugace cefalea. La RFC è stata calcolata come rapporto tra la velocità di flusso coronarico iperemico e la velocità di flusso coronarico a riposo, ed esprime la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico. Nel nostro laboratorio questa metodica presenta una variabilità intra-osservatore del 3% e inter-osservatore del 4%<sup>8</sup>.

## Analisi di laboratorio

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio, colesterolo, trigliceridi e HDL-colesterolo sono state determinate mediante metodo enzimatico. L'emoglobina glicosilata è stata misurata mediante HPLC. Il dosaggio della microalbuminuria è stato effettuato utilizzando la tecnica immuno-turbidimetrica.

## Analisi statistica

I risultati sono stati analizzati ed espressi come media  $\pm$  deviazione standard (DS). L'analisi statistica è stata effettuata mediante t-test di Student per dati non appaiati. È stato considerato significativo un valore di  $p < 0,05$ .

## Risultati

Le principali caratteristiche dei due gruppi studiati sono illustrate nella tabella 1. Tredici pazienti diabetici (42%) e due soggetti di controllo (18%) avevano un IMC  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>. Non si riscontravano differenze statisticamente significative nei valori medi di colesterolemia totale ( $187 \pm 34$  mg/dl nei pazienti diabetici e  $161 \pm 24$  mg/dl nel gruppo di controllo) e di trigliceridemia ( $70 \pm 26$  mg/dl nei soggetti diabetici e  $90 \pm 56$  mg/dl nei controlli). Undici soggetti diabetici (35%) presentavano valori di colesterolemia o di trigliceridemia superiori alla norma. Circa il 50% dei pazienti diabetici aveva una durata di malattia inferiore o uguale a 7 anni. Sette pazienti presentavano segni iniziali di microangiopatia (microalbuminuria e/o un microaneurisma o una microemorragia monolaterale all'esame del fondo oculare). Nessun paziente presentava segni di arteriopatia periferica degli arti inferiori. L'ECG da sforzo risultava negativo in tutti i soggetti.

La mattina dello studio, la glicemia a digiuno era  $204 \pm 16$  mg/dl nei pazienti diabetici e  $82 \pm 2$  mg/dl nei soggetti di controllo. Le pressioni arteriose sistolica (PAS) e diastolica (PAD) a riposo erano sovrapponibili nei due gruppi (PAS:  $119 \pm 10$  mmHg e PAD:  $74 \pm 8$  mmHg nei soggetti diabetici; PAS:  $121 \pm 24$  mmHg e PAD:  $78 \pm 8$  mmHg nei controlli) e

non subivano sostanziali variazioni durante l'infusione di dipiridamolo. La frequenza cardiaca a riposo era  $72 \pm 12$  e  $73 \pm 12$  b/min nei pazienti diabetici e nei soggetti di controllo rispettivamente e dopo dipiridamolo aumentava della stessa entità (circa il 35%) nei due gruppi (Tab. 2).

La figura 1 mostra i risultati relativi alle velocità di flusso coronarico durante lo studio. Il picco di flusso diastolico a riposo era  $0,23 \pm 0,07$  m/sec nei pazienti diabetici e  $0,24 \pm 0,05$  m/sec nei controlli ( $p = ns$ ) e dopo dipiridamolo subiva un incremento di circa 3 volte ( $0,69 \pm 0,16$  nei soggetti diabetici e  $0,80 \pm 0,19$  m/sec nei controlli), senza differenze significative tra i due gruppi. La riserva di flusso coronarico, espressa dal rapporto tra la velocità di flusso iperemico e la velocità di flusso basale, era comparabile nei due gruppi ( $3,15 \pm 0,75$  e  $3,20 \pm 0,76$  nei diabetici e nei controlli rispettivamente,  $p = ns$ ) (Fig. 2). Nessuna correlazione è stata trovata tra i valori della riserva di flusso coronarico, l'emoglobina glicata e la durata del diabete.

## Discussione

In questo studio abbiamo dimostrato che in giovani pazienti con diabete mellito di tipo 1, esenti da altri fattori di rischio cardiovascolari, la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico risulta ben conservata come evidenziato dai valori della RFC pressoché sovrapponibili a quelli dei soggetti di controllo. I due gruppi di studio erano comparabili per età, IMC e pressione arteriosa. È interessante notare che nel nostro campione di giovani pazienti diabetici è presente una prevalenza di sovrappeso/obesità di circa il 40%. Questa osservazione è in accordo con i dati della letteratura internazionale e con un recente studio osservazionale italiano condotto in oltre 200 centri di diabetologia che mostra nel diabete di tipo 1 una prevalenza di sovrappeso/obesità del 30% e di sindrome metabolica del 37%<sup>9</sup>.

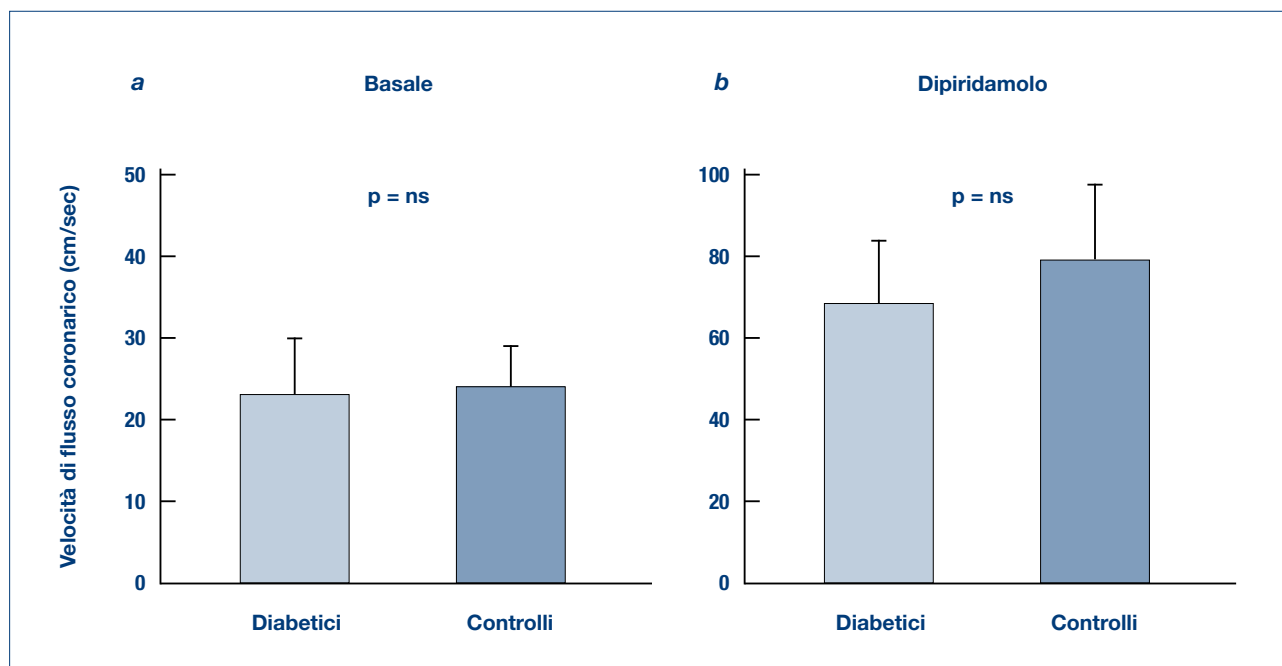
Numerose evidenze sperimentali<sup>3,4</sup> hanno dimostrato che la malattia diabetica si associa allo sviluppo di alterazioni strutturali e funzionali del microcircolo coronarico che interferiscono con la capacità del flusso miocardico di adeguarsi alle condizioni di aumentata richiesta di ossigeno. È stato ipotizzato che tali alterazioni possano giocare un ruolo importante nella induzione della cardiopatia ischemica<sup>10</sup>. Strauer et al.<sup>11</sup> hanno recentemente dimostrato che la disfunzione del

**Tabella 1** Caratteristiche cliniche della popolazione studiata (media  $\pm$  DS).

|                          | Controlli<br>(n = 11) | Diabetici<br>(n = 31) |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
| M/F                      | 7/4                   | 20/11                 |
| Età (anni)               | $32 \pm 7$            | $31 \pm 8$            |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | $23,5 \pm 2$          | $24,2 \pm 3$          |
| Colesterolemia (mg/dl)   | $161 \pm 24$          | $187 \pm 34$          |
| Trigliceridemia (mg/dl)  | $90 \pm 56$           | $70 \pm 26$           |
| HDL colesterolo (mg/dl)  | $59 \pm 9$            | $63 \pm 15$           |
| Glicemia (mg/dl)         | $82 \pm 2$            | $204 \pm 16$          |
| Emoglobina glicata (%)   | -                     | $7,9 \pm 1$           |
| Durata diabete (anni)    | -                     | $11 \pm 8$            |
| Durata diabete < 7 anni  | -                     | 15/31                 |

**Tabella 2** Principali parametri emodinamici durante la valutazione della RFC (media  $\pm$  DS).

|            | Riposo       |              | Dipiridamolo |              |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|            | Controlli    | Diabetici    | Controlli    | Diabetici    |
| PAS (mmHg) | $121 \pm 24$ | $119 \pm 10$ | $120 \pm 11$ | $113 \pm 14$ |
| PAD (mmHg) | $78 \pm 8$   | $74 \pm 8$   | $71 \pm 8$   | $68 \pm 12$  |
| FC (b/min) | $73 \pm 12$  | $72 \pm 12$  | $97 \pm 17$  | $103 \pm 14$ |



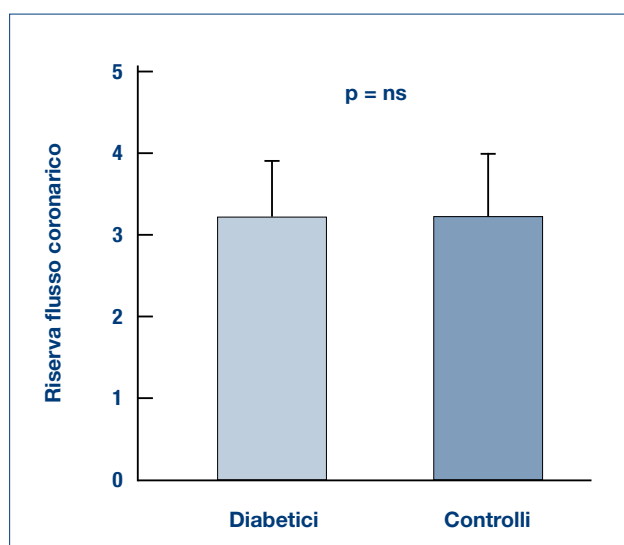
**Figura 1** Velocità di flusso coronarico (cm/sec) nei pazienti diabetici e nel gruppo di controllo, in condizioni basali (a) e dopo lo stimolo iperemico (dipiridamolo) (b).

microcircolo coronarico si associa ad anomalie della compliance ventricolare, ipotizzando che la sofferenza ischemica, associata al *milieu* diabetico (iperglicemia, resistenza insulinica), possa influenzare negativamente la funzione cardiaca diastolica e successivamente sistolica, con peggioramento della capacità vasodilatante del microcircolo coronarico e insinco di un circolo vizioso.

Le alterazioni del microcircolo coronarico sono state finora documentate in pazienti diabetici che mostravano complicanze microvascolari in altri distretti<sup>5-7</sup>.

In presenza di retinopatia diabetica, specie di grado avanzato, la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico risulta fortemente ridotta, tanto che alcuni autori suggeriscono che la presenza di retinopatia possa essere considerata un indice clinico indiretto di danno del microcircolo coronarico. Anche la neuropatia autonoma, specialmente a carico della sezione simpatica, si associa ad alterazioni della vasodilatazione coronarica<sup>6,7</sup>. È noto che il sistema nervoso simpatico costituisce un importante fattore di regolazione del flusso miocardico, in quanto agisce sia direttamente attraverso l'attivazione dei recettori adrenergici sia indirettamente mediante variazioni nell'autoregolazione metabolica e della funzione endoteliale. La stimolazione dei recettori cardiaci adrenergici aumenta il flusso coronarico e l'entità della risposta è correlata al contenuto di noradrenalina presente nelle terminazioni nervose simpatiche<sup>12</sup>. È dunque ipotizzabile che in pazienti diabetici con neuropatia autonoma l'attivazione simpatica in risposta a stimoli quali l'esposizione al freddo o l'esercizio fisico, sia ridotta e che ciò comprometta il fisiologico rilascio di ossido nitrico (NO) da parte dell'endotelio<sup>13-15</sup>.

Nei soggetti diabetici da noi studiati non abbiamo rilevato alcuna alterazione della vasoreattività coronarica sia nel gruppo *in toto* sia nei soggetti con segni iniziali di complicanze microvascolari. L'assenza di alterazioni del microcircolo coronarico in questi ultimi suggerisce che esse compaiono più



**Figura 2** Riserva di flusso coronarico nei soggetti diabetici e nel gruppo di controllo.

tardivamente nella storia della malattia e diventano clinicamente rilevabili solo per gradi più avanzati di danno microvascolare in altri distretti.

Un aspetto discusso in letteratura è quello riguardante eventuali differenze tra diabete tipo 1 e tipo 2 in considerazione delle specificità fisiopatologiche e metaboliche dei due tipi di diabete. In questo contesto, Di Carli et al.<sup>16</sup> hanno recentemente dimostrato che la riduzione della capacità vasodilatante del microcircolo coronarico a uno stimolo endoteliale (*cold pressure test*) è della stessa entità nei diabetici tipo 1 e tipo 2 (rispettivamente 65% e 71% in confronto al gruppo di controllo) concludendo che l'iperglicemia è il fattore chiave nella genesi della disfunzione vascolare del diabete. Tuttavia, i due gruppi di pazienti differivano per indice di massa corporea, livelli di HDL-colesterolo e, soprattutto, per durata di malattia (in media 15 anni nel diabete mellito tipo 1 e 6 anni nel diabete tipo 2), indicando che nel diabete tipo 2 la compromissione del microcircolo coronarico compare molto più precocemente rispetto al diabete tipo 1 probabilmente per l'aggregazione di altri fattori di rischio cardiovascolare, quali l'insulino-resistenza, l'obesità viscerale, l'ipertensione arteriosa, la dislipidemia che nel loro insieme configurano la sindrome metabolica. L'importanza dell'insulino-resistenza nella genesi della disfunzione del microcircolo coronarico è stata sottolineata in studi recenti<sup>17,18</sup> che hanno documentato la presenza di anomalie della vasoreattività coronarica in giovani soggetti insulino-resistenti senza altri fattori di rischio clinicamente evidenti. Tali anomalie correlavano strettamente con il grado di resistenza insulinica<sup>17</sup> e miglioravano dopo terapia con farmaci insulino-sensibilizzanti<sup>18</sup>.

Al contrario, i pazienti con diabete tipo 1 sono in genere per molti anni esposti alla sola iperglicemia cronica senza altri fattori di rischio cardiovascolari che possano agire sfavorevolmente sul microcircolo coronarico. L'assenza di alterazioni della vasoreattività coronarica nei soggetti da noi studiati, anche in quelli con segni iniziali di complicanze microvascolari (microalbuminuria o retinopatia non proliferante), supporta l'ipotesi che la disfunzione del microcircolo coronarico si realizzi in presenza di molteplici fattori di rischio cardiovascolare e/o alterazioni microvascolari più avanzate.

Nel nostro studio la RFC è stata valutata mediante ecocardiografia Doppler transtoracica che si fonda sulla misurazione della velocità di flusso nel tratto distale dell'IVA, punto terminale dei grandi vasi coronarici; pertanto, in assenza di stenosi delle grandi arterie epicardiche, la RFC valutata sull'IVA rappresenta un indicatore attendibile della vasodilatazione del microcircolo coronarico. Un potenziale limite di questa metodica è che essa non misura il diametro vasale e assume che il calibro vasale rimanga costante durante lo stimolo iperemico; tale assunto è stato confermato sperimentalmente da studi con ecodoppler intracoronarico<sup>19</sup>. Inoltre, esiste un'eccellente concordanza tra la misura di RFC ottenuta mediante ecografia transtoracica e quella ottenuta con

il *Doppler flow wire* intracoronarico, considerato metodica di riferimento<sup>20</sup>.

È importante ricordare che i pazienti diabetici erano in trattamento insulinico e che l'insulina esercita un'importante azione vasoattiva attraverso la stimolazione della sintesi di NO<sup>21</sup>. Si potrebbe pertanto ipotizzare che nei pazienti diabetici l'insulina abbia potuto aumentare il flusso coronarico mascherando così un eventuale difetto. Tale ipotesi è molto improbabile sia perché la mattina dello studio i pazienti non effettuavano la terapia insulinica, sia perché gli effetti vasodilatanti dell'insulina si manifestano per concentrazioni plasmatiche dell'ormone maggiori di 30-35 UI/L<sup>22</sup>, un livello decisamente superiore a quello osservato nei pazienti sottoposti a terapia insulinica.

In conclusione, in una casistica ambulatoriale di pazienti con diabete mellito di tipo 1 di giovane età e breve durata di malattia, la capacità vasodilatante del microcircolo coronarico è risultata nella norma, suggerendo che le alterazioni funzionali del microcircolo coronarico si sviluppano in una fase più tardiva della malattia diabetica e/o in presenza di complicanze micro- macrovascolari più avanzate.

## Bibliografia

1. Swerdlow AJ, Jones ME. *Mortality during 25 years of follow-up of a cohort with diabetes*. Int J Epidemiol 1996;25:1250-61.
2. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Botha JL, Burden AC, Waugh NR et al. *The British Diabetic Association Cohort Study, II: cause-specific mortality in patients with insulin-treated diabetes mellitus*. Diabet Med 1999;16:466-71.
3. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. *Impairment of coronary vascular reserve and Ach-induced coronary vasodilatation 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. Akasaka T, Yoshida K, Hozumi T, Takagi 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.
6. Di Carli MF, Bianco-Batles D, Landa ME, Kazmers A, Groehn H, Muzik O et al. *Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus*. Circulation 1999;100:813-9.
7. Taskiran M, Fritz-Hansen T, Rasmussen V, Larsson HBW, Hilsted J. *Decreased myocardial perfusion reserve in diabetic autonomic neuropathy*. Diabetes 2002;51:3306-10.
8. Guarini P, Scognamiglio G, Cicala S, Galderisi M. *La valutazione non invasiva della riserva di flusso coronarico mediante ecocardiografia transtoracica: fisiopatologia, metodologia e valenza clinica*. Ital Heart Suppl 2003;4:179-88.
9. Bonadonna R, Cucinotta D, Fedele D, Riccardi G, Tiengo A. *Studio Metascreen*. In corso di pubblicazione.
10. Sambucetti G, L'Abbate A, Marzilli M. *Why should we study*

- the coronary microcirculation?* Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;279:2581-4.
11. 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.
  12. Di Carli MF, Tobes MC, Mangner T, Levine AB, Muzik O, Chakroborty P et al. *Effects of cardiac sympathetic innervation on coronary blood flow.* N Engl J Med 1997;336:1208-15.
  13. Standl E, Schnell O. *A new look at the heart in diabetes mellitus: from ailing to failing.* Diabetologia 2000;43:1455-69.
  14. 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.
  15. 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.
  16. 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.
  17. 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.
  18. 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.
  19. Sudhir K, MacGregor JS, Barbant SD, Foster E, Fitzgerald PJ, Chatterjee K et al. *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;21:1261-8.
  20. Caiati C, Monaldo C, Zedda N, Mentisci 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.
  21. 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.
  22. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. *Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction: implication for the syndrome of insulin resistance.* J Clin Invest 1996;97:2601-10.