

REMERCIEMENTS

Alors que ce travail prend fin, il me paraît indispensable et agréable d'émettre divers remerciements sincères.

Les premiers sont à adresser à mes parents sans qui je n'aurais pas pu réaliser ces longues études qui me tenaient tant à cœur, leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements ont toujours été remarquables, en particulier ceux de ma maman avec qui je vivais durant cette période particulière des études de médecine.

Sur le plan professionnel, l'importance à la fois chronologique et intellectuelle du Professeur Lefèbvre est évidente pour moi. A travers son cours de diabétologie puis l'accueil au sein de son Département et de son Service en particulier, mon intérêt pour la diabétologie n'a jamais cessé de grandir à son contact. Sa gentillesse envers moi et sa bienveillance (me permettant, entre autres, de passer une année remarquable à l'Hôpital Universitaire de Genève chez le Professeur Jacques Philippe, à qui j'adresse aussi de vifs remerciements pour son accueil et ma formation médicale) ont beaucoup compté pour moi, merci à vous Professeur Lefèbvre.

Merci aux membres du service de Diabétologie (Nicolas, Régis, Jenny, Vinciane, Marcelle et les autres), ils m'ont beaucoup aidé, grâce à leur soutien et à leur rôle dans le recrutement des patients durant différentes phases de ce travail. Régis est un « co-locataire » de bureau qui a compté, nous avons traversé des moments similaires dans le décours de la progression de nos travaux respectifs, nos rapports privilégiés au-delà du côté professionnel sont devenus indispensables à certains moments, merci à lui.

Les membres du jury de l'Université de Liège, les Professeurs Moonen, Krzesinski, Kolh, Paquot, et Albert, donnent une plus-value incontestable à ce travail grâce à leurs remarques et leur participation à la lecture et l'élaboration de cette thèse, je leur en suis sincèrement reconnaissant. Merci à mon Président de comité de thèse, le Professeur Piérard, pour sa gentillesse, sa compréhension quant aux difficultés de mener de front une activité clinique intense et un travail de cette envergure, ses remarques furent toujours stimulantes et bienveillantes.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement les membres du jury extérieurs à la Faculté de Médecine de Liège, les Professeurs Buysschaert de Bruxelles et Valensi de Paris. Leur renommée internationale dans le domaine des complications de la maladie diabétique est bien connue et est garante d'un jugement critique de qualité. Merci pour leur disponibilité et leur lecture attentive de cette thèse.

Une personne indispensable qui a réalisé un travail remarquable et souvent pénible (récoltes des données, analyses de celles-ci, études statistiques, gestion des patients et des enregistrements, réalisation des posters, aide informatique...) est Monique Marchand. Sa contribution à ce travail est majeure, merci à elle pour tout cela ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité de tous les instants.

Je voudrais également exprimer ma reconnaissance à NovoNordisk Belgium pour son support financier à la recherche sur la neuropathie autonome cardio-vasculaire dans le service. Ce « unrestricted research grant » a permis au laboratoire de fonctionner dans les meilleures conditions depuis plusieurs années et ainsi de recueillir et analyser les données indispensables à la concrétisation de ce doctorat.

Last but not least, mon dernier remerciement d'ordre professionnel mais aussi intime, va à celui qui fut bien plus que le promoteur de ce travail scientifique, le Professeur André Scheen. Il est évident que cette thèse de doctorat n'aurait pas vu le jour sans lui et je lui suis reconnaissant de m'avoir permis d'intégrer l'équipe qu'il formait avec Monique Marchand depuis de nombreuses années; il a accepté de partager ses idées et sa motivation depuis le début. Ses qualités de physiologiste, clinicien et chercheur sont à l'origine des travaux réalisés depuis de nombreuses années dans le domaine de la neuropathie autonome cardiovasculaire. J'aime évoquer le terme de Maître qui est certainement un peu tombé en désuétude mais dont je pense ressentir la signification et son application pour mon Chef de Service actuel. Outre mon admiration pour ses qualités professionnelles que personne n'ignore (je m'arrête volontairement ici pour cette raison), je tiens aussi à lui signifier mes sincères remerciements pour nos premiers contacts qui ne furent pas professionnels. Le caractère « particulier » de ceux-ci a persisté et m'a permis de mieux apprécier l'homme derrière le Professeur, je tâcherai de rester un proche fidèle comme il l'a toujours été à différents moments de ma vie, merci pour tout cela Monsieur Scheen.

Enfin, le dernier paragraphe est classique mais se réfère à l'importance majeure du soutien familial dans ce type de travail. Merci à ma tendre Marie-Anne, Thibault et Clément, ma belle-famille ainsi que mes amis proches pour leur aptitude à comprendre la complexité d'une vie professionnelle souvent (trop) chargée et ce que cela implique comme sacrifices en terme d'absence, qu'elles soient physiques ou mentales....votre soutien et votre compréhension furent remarquables et inestimables, merci du fond du coeur.

Jean-Christophe

Sommaire

1. INTRODUCTION	11
1.1. Diabète de type 1.....	11
1.1.1. Généralités	11
1.1.2. Complications vasculaires	13
1.2. Neuropathie autonome cardiovasculaire	15
1.2.1. Epidémiologie	16
1.2.2. Exploration.....	17
1.2.3. Pronostic	19
1.3. Pression pulsée et stress pulsatile.....	22
1.3.1. Epidémiologie	22
1.3.2. Exploration.....	24
1.3.3. Pronostic	27
1.4. Buts du travail	28
1.4.1. Première partie : Neuropathie autonome cardiovasculaire.....	28
1.4.2. Seconde partie : Pression pulsée et stress pulsatile.....	29
2. MATERIEL ET METHODES	31
2.1. Sujets	31
2.1.1. Patients diabétiques de type 1.....	31
2.1.2. Sujets témoins	31
2.1.3. Patients diabétiques de type 2.....	32
2.2. Appareil Finapres®	32
2.2.1. Description de la technique.....	32
2.2.2. Validation de la méthode.....	34
2.3. Tests dynamiques	34
2.3.1. Respiration forcée (deep-breathing).....	34
2.3.2. Test postural : « Squatting »	35
2.4. Indices de neuropathie autonome cardiovasculaire.....	36
2.4.1. R-R E/I ratio.....	36
2.4.2. SqTv et SqTs.....	36
2.4.3. Gain baroréflexe.....	37
2.5. Indices de stress pulsatile.....	38

2.5.1.	Pression pulsée	38
2.5.2.	Stress pulsatile	38
2.6.	Analyse statistique.....	39
3.	NEUROPATHIE AUTONOME CARDIOVASCULAIRE (NAC)	41
3.1.	Reproductibilité intra-individuelle des indices de NAC	41
3.2.	Effets de l'âge et de la durée du diabète	43
3.3.	Influence du sexe.....	45
3.4.	Influence du contrôle glycémique	46
3.5.	Relation entre les indices dérivés du squatting et le R-R E/I ratio	49
3.6.	Relation entre le gain baroréflexe et la microalbuminurie.....	50
4.	PRESSION PULSEE ET STRESS PULSATILE.....	53
4.1.	Reproductibilité intra-individuelle des indices pulsatiles	53
4.2.	Squatting, une position amplifiant le stress pulsatile.....	55
4.3.	Stress pulsatile en fonction de l'âge et de la durée du diabète	56
4.4.	Stress pulsatile en fonction du sexe	57
4.5.	Pression pulsée en fonction du contrôle glycémique.....	58
4.6.	Relations entre stress pulsatile, gain baroréflexe et microalbuminurie.....	59
4.7.	Stress pulsatile : diabète de type 1 versus diabète de type 2	61
5.	DISCUSSION GENERALE	63
5.1.	Test de squatting : avantages et limites.....	63
5.2.	Neuropathie autonome cardiovasculaire.....	64
5.3.	Pression pulsée, stress pulsatile et rigidité artérielle.....	67
5.4.	Une vision intégrative des complications dans le DT1.....	69
6.	CONCLUSIONS	75
7.	BIBLIOGRAPHIE.....	77
8.	ARTICLES SOUS-TENDANT LA THESE (à consulter dans les annexes) .	87

LISTE DES ABBREVIATIONS

- AASI** : « Ambulatory Arterial Stiffness Index »
- AGE** : « Advanced Glycation End products »
- Aix** : « Augmentation Index »
- AVC** : accident vasculaire cérébral
- Bpm** : battements par minute
- CV** : cardiovasculaire
- CVIS** : coefficient de variation intra-sujet
- DCCT** : Diabetes Control and Complications Trial
- DT1** : diabète de type 1 (ou diabétique de type 1)
- DT2** : diabète de type 2
- EDIC** : Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
- E/I ratio** : rapport expiration/inspiration
- FC** : fréquence cardiaque
- GBR** : gain baroréflexe
- HbA1c** : hémoglobine glyquée
- HR** : hasard ratio
- HRV** : « Heart Rate Variability »
- HTA** : hypertension artérielle
- IMC** : indice de masse corporelle (poids en kg sur la taille au carré)
- μA** : microalbuminurie
- NAC** : neuropathie autonome cardiovasculaire
- PAD** : PA diastolique
- PAM** : PA moyenne $(PAS + (2 \times PAD) / 3)$
- PAS** : PA systolique
- PWV** : « pulse wave velocity »
- PP** : pression pulsée (pression différentielle : PAS-PAD)
- RR** : risque relatif
- R-R** : intervalle inter-systole cardiaque

Contribution à l'étude de la neuropathie autonome cardiovasculaire et du stress pulsatile chez le patient diabétique de type 1

RESUME

Le diabète de type 1 (DT1) atteint des sujets jeunes, impose une prise en charge astreignante au quotidien et expose les personnes avec un contrôle glycémique insuffisant à un risque de complications chroniques parfois graves. Notre travail s'est intéressé à deux complications fréquentes, mais moins bien connues, du DT1, la neuropathie autonome cardiovasculaire (NAC), d'une part, la rigidité artérielle, d'autre part. Nous avons étudié ces deux anomalies en mesurant de façon continue et non invasive les variations de la pression artérielle (PA) et de la fréquence cardiaque (FC) à l'aide d'un Finapres® lors d'un test postural original, le test dit de « squatting » standardisé dans notre laboratoire selon la séquence suivante : 1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout. En analysant les variations instantanées de PA et de FC lors du passage de la position debout à la position accroupie puis lors de la transition de la position accroupie à la position debout, nous avons démontré que le patient DT1 est exposé à une augmentation de la pression différentielle (pression pulsée ou PP) et à un stress pulsatile accru (témoin indirect d'une rigidité artérielle précoce) et à une diminution de la sensibilité du baroréflexe (témoin d'une dysfonction autonome touchant d'abord le versant parasympathique puis sympathique).

Nous avons analysé de façon systématique, dans des études transversales et longitudinales, une série de facteurs susceptibles d'influencer la survenue et la progression de ces complications et nous avons tenté de corrélérer les anomalies objectivées en ce qui concerne la NAC et le stress pulsatile avec d'autres complications comme la présence d'une microalbuminurie (μ A), marqueur d'une néphropathie diabétique débutante.

Cette thèse a été divisée en deux grandes parties : la première partie est consacrée à la NAC avec, comme marqueur original, le gain baroréflexe (GBR) qui sera comparé à d'autres indices de NAC (SqTv, SqTs, R-R E/I ratio) ; la seconde partie est consacrée à la PP et au stress pulsatile, comme marqueurs indirects de la rigidité artérielle.

1) NAC et GBR

Les principaux résultats de cette partie du travail peuvent être résumés succinctement de la façon suivante :

1) la mesure du GBR lors d'un test du redressement de la position accroupie à la position debout (pente de la relation entre les variations des intervalles R-R et les variations de la PA systolique, par analogie à la mesure du GBR dans un test pharmacologique utilisant la perfusion d'un vasoconstricteur et d'un vasodilatateur) est suffisamment reproductible pour être exploitée dans des investigations cliniques ;

2) une diminution progressive du GBR est observée dans la population DT1 avec la durée d'évolution du diabète (données transversales), plus rapide que la diminution attribuée à l'âge si l'on compare à une population témoin non diabétique appariée ;

3) cette altération du GBR est apparemment plus marquée chez les femmes DT1 que chez les hommes DT1, pour une raison qui n'apparaît pas clairement ;

4) la diminution du GBR mise en évidence dans une étude longitudinale de quelques années est plus prononcée chez les patients DT1 mal équilibrés ($HbA1c > 8\%$) que chez ceux bien équilibrés ; et enfin

5) le GBR s'avère plus performant que les indices basés sur les seules variations de la FC comme les indices SqTv et SqTs mesurés lors d'un test de « squatting » ou encore l'indice classique R-R E/I ratio calculé lors d'une respiration à 6 cycles par minutes, pour discriminer les sujets DT1 avec d'autres complications, comme une augmentation du stress pulsatile ou encore une μA , marqueur d'une néphropathie débutante.

2) PP et stress pulsatile

Les principaux résultats de cette partie du travail peuvent être résumés comme suit :

1) la mesure de PP et du stress pulsatile à l'aide du Finapres® lors d'un test de squatting est remarquablement reproductible permettant son exploitation dans des investigations cliniques ;

- 2) une augmentation (par ailleurs accentuée en position accroupie) progressive de PP et du stress pulsatile est observée dans la population DT1 avec la durée d'évolution du diabète (données transversales), plus rapide que l'accroissement lié simplement à l'âge si l'on compare à une population témoin non diabétique appariée ;
- 3) cette élévation de PP est sensiblement plus marquée chez les femmes DT1 que chez les hommes DT1, ce qui pourrait contribuer à l'augmentation bien connue du risque de morbi-mortalité CV dans la population féminine diabétique ;
- 4) l'augmentation de PP et du stress pulsatile mise en évidence dans une étude longitudinale de quelques années est plus marquée chez les patients DT1 mal équilibrés ($HbA1c > 8\%$) que chez ceux bien équilibrés, en accord avec le rôle délétère de l'hyperglycémie chronique;
- 5) l'augmentation de PP et du stress pulsatile observée à la cinquantaine chez le patient DT1 (après une vingtaine d'années d'évolution de la maladie) est comparable à celle du patient DT2 avec une durée d'évolution connue de la maladie moins longue (5-6 années), mais avec d'autres facteurs de risque CV bien connus regroupés habituellement dans ce qu'il est convenu d'appeler le syndrome métabolique; et enfin
- 6) PP et le stress pulsatile sont corrélés avec d'autres marqueurs de risque chez le patient diabétique comme la NAC (attestée par un GBR diminué) et la μA comme marqueur précoce de néphropathie débutante (et peut-être aussi de dysfonction endothéliale).

La discussion générale du travail comprend 4 grandes parties :

- 1) d'abord, une analyse critique du test original de « squatting », couplé à une mesure continue de la PA et de la FC avec le Finapres®, selon notre protocole standardisé, avec ses avantages et ses limites;
- 2) ensuite, une synthèse concernant notre contribution personnelle dans l'étude de la NAC, en insistant sur l'intérêt du GBR et en comparant nos observations originales avec les principales données de la littérature ;
- 3) ensuite, une analyse critique de notre contribution personnelle dans l'analyse de la PP et du stress pulsatile, comme marqueurs indirects de la rigidité artérielle, ici aussi en comparant nos résultats avec quelques données essentielles de la littérature; enfin,

4) une vue intégrée du risque, notamment cardiovasculaire et rénal, auquel est exposé le patient DT1 imparfaitement équilibré au long cours, et dans lequel NAC et stress pulsatile jouent un rôle aggravant évident.

Nous espérons, par ce travail avoir contribué à une meilleure connaissance de deux complications, sous-estimées et trop souvent méconnues, susceptibles de toucher les patients présentant un DT1 évoluant de longue date avec un équilibre glycémique insuffisant, la NAC et la rigidité artérielle.

Cette thèse est sous-tendue par 4 articles de revue (dont 3 dans des journaux internationaux) (Annexes A1-A4), par 6 articles originaux (publiés dans des revues scientifiques internationales et tous en tant que premier auteur) (Annexes B1-B6) et par 8 résumés de congrès (non publiés comme articles complets, les nombreux autres résumés de congrès ayant abouti aux articles originaux n'étant pas comptabilisés ici) (Annexes C1-C8). Ces divers documents peuvent être consultés dans les annexes à la fin de ce travail où le lecteur intéressé pourra aussi trouver des résumés et des informations complémentaires si nécessaire.

1. INTRODUCTION

1.1. Diabète de type 1

1.1.1. Généralités

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie dont la physiopathologie est complexe et qui apparaît chez des personnes jeunes dans la grande majorité des cas ⁽¹⁾. L'hyperglycémie chronique à laquelle ces patients sont exposés est responsable de complications qui surviennent plus ou moins rapidement au cours des années suivant le diagnostic. Celles-ci apparaissent et se développent en fonction de la durée du diabète, la mauvaise qualité du contrôle glycémique au long cours, la présence de facteurs de risque cardiovasculaire (CV) (tabagisme, hypertension artérielle, dyslipidémie) ainsi que divers facteurs encore peu ou mal identifiés dont, à l'évidence, un rôle important de la prédisposition génétique ^(2,3).

La prévalence des complications en rapport avec la macroangiopathie (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral – AVC - et artériopathie périphérique) semble peut-être moins élevée dans le DT1 que dans le diabète de type 2 (DT2), mais ces différentes pathologies restent néanmoins responsables d'une mortalité et d'une morbidité accrues au sein de cette population *a priori* plus jeune ⁽⁴⁾. La progression de la maladie au fil du temps expose les patients DT1 aux complications micro- et macro-angiopathiques du diabète.

La célèbre étude DCCT (« Diabetes Control and Complications Trial ») a démontré qu'une intensification de l'insulinothérapie et de l'autosurveillance glycémique, aboutissant à une amélioration du contrôle métabolique, permet une réduction importante et significative du risque de complications diabétiques chez le patient DT1 ^(5,6). En pratique clinique, cependant, l'obtention d'une excellente équilibre mettant à l'abri de survenue de complications reste un défi difficile à relever chez les personnes présentant un DT1 privé de toute réserve insulinaire endogène (peptide-C négatif) ^(7,8). Les progrès réalisés au cours des dernières années dans l'insulinothérapie ont contribué à faciliter la prise en charge du patient DT1 ^(9,10), mais il n'empêche que l'objectif d'un excellent contrôle glycémique évitant l'apparition de complications diabétiques reste une gageure et un combat de tous les jours ⁽²⁾.

a) **Microangiopathie**

L'atteinte progressive des vaisseaux sanguins de plus petite taille suite à l'hyperglycémie chronique est appelée microangiopathie. Classiquement, ce terme fait référence à la dégradation des artères de petit calibre au niveau rétinien (rétinopathie), rénal (néphropathie) et du système nerveux (neuropathie).

b) **La rétinopathie**

Cette complication reste, dans les pays industrialisés, une des premières causes de cécité acquise. Il est admis que cette complication est retrouvée chez la quasi-totalité des patients présentant un diabète depuis plus de 20 années. Plusieurs stades sont décrits et la classification actuelle distingue la rétinopathie simple, dite «background», de la forme (pré-) proliférante et de la maculopathie. Bien que cette complication soit particulièrement fréquente, «seulement» 20 à 50 % des patients avec une rétinopathie diabétique avancée évolueront vers une atteinte suffisamment grave pour menacer la vue de manière irréversible.

Les examens proposés pour la dépister sont le fond d'oeil et l'angiofluorographie rétinienne. Les traitements (en fonction de la gravité des lésions) reposent sur la photocoagulation par laser, l'administration intravitréenne de petites doses de corticoïdes ou de molécules à activité anti-VEGF et la vitrectomie.

c) **La néphropathie**

La néphropathie diabétique est définie, cliniquement, par une protéinurie persistante supérieure à 500 mg/24h (macroprotéinurie détectée à la bandelette urinaire) qui co-existe avec une diminution de la filtration glomérulaire. Il existe plusieurs stades d'évolution ; la macroprotéinurie est classiquement précédée par une période de néphropathie dite débutante. Celle-ci est caractérisée par une excrétion supra-physiologique de microalbumine (30- 300 mg/24h).

Environ 50 % des patients DT1 développent une microalbuminurie (μA) à un moment de leur vie. Parmi ceux-ci, environ un tiers vont progresser vers le stade de la macroprotéinurie, un autre tiers resteront à ce stade de μA et un tiers retrouveront un seuil normal (physiologique) d'excrétion d'albumine ⁽¹¹⁾.

Lorsque le stade de la macroprotéinurie est atteint, la progression vers l'insuffisance rénale terminale est inévitable. Elle peut être ralentie par le blocage du système rénine-

angiotensine-aldostérone et par un excellent contrôle de la pression artérielle. Le diabète est la première cause de dialyse dans les pays industrialisés (notamment aux Etats-Unis), il est présent chez 20 à 50% des patients hémodialysés.

d) La neuropathie périphérique

Il s'agit d'une atteinte généralement symétrique, de prédominance sensitive et qui débute classiquement par les extrémités des membres inférieurs. Plusieurs types de fibres nerveuses sont atteints dans le développement de cette complication. Différents troubles de la sensibilité (hypoesthésie, voire anesthésie) ainsi que des paresthésies ou dysesthésies (sensation de brûlures, picotements, engourdissement, ...) sont fréquemment décrits par les patients diabétiques. Les fibres de plus petits calibres sont souvent celles qui sont impliquées dans les symptômes douloureux ⁽¹²⁾.

La neuropathie diabétique douloureuse est souvent associée à d'autres complications, ainsi qu'à des facteurs de risque modifiables, notamment ceux liés au syndrome métabolique (obésité abdominale, cholestérol HDL abaissé et triglycérides élevés).

La neuropathie périphérique diabétique hypothèque fortement la qualité de vie des patients qui en souffrent (sommeil déficient, vie sociale et professionnelle altérée, ...). L'anamnèse est déjà suggestive et des examens cliniques simples permettent souvent de confirmer le diagnostic ⁽¹²⁾. Des traitements médicamenteux spécifiques (dérivés des antiépileptiques) peuvent soulager le patient.

L'insensibilité progressive des membres inférieurs joue un rôle particulièrement péjoratif dans la pathologie du «pied diabétique», avec comme stigmat le classique « mal perforant plantaire ». La surinfection, en présence d'une artériopathie sévère, peut conduire à une gangrène diabétique et à l'amputation.

De nombreux facteurs peuvent influencer la neuropathie périphérique dont l'âge, la durée du diabète, le contrôle glycémique et divers facteurs vasculaires ^(3, 13).

1.1.2. Complications vasculaires

La notion de macroangiopathie est intimement liée à celle de l'athérosclérose; ses principales présentations sont l'atteinte coronarienne, les accidents vasculaires cérébraux et

l'artérite des membres inférieurs. La macroangiopathie est une complication particulièrement fréquente du diabète, tant dans le DT1 que le DT2. Elle est souvent associée au syndrome métabolique. Il s'agit, par ailleurs, de la première cause de mortalité chez les patients diabétiques, davantage dans le DT2 que dans le DT1 cependant.

La physiopathologie de cette athérosclérose accélérée est complexe et multi-factorielle : l'insulinorésistance et l'hyperglycémie sont impliquées dans le développement des lésions artérielles, mais d'autres facteurs interviennent également. Il s'agit, notamment, de l'hypertension artérielle (HTA), la dyslipidémie, l'hypercoagulabilité, l'inflammation silencieuse, le tabagisme, la sédentarité et l'excès pondéral. L'HTA est très commune dans la population diabétique, aussi bien DT1 (souvent associée à une néphropathie) que DT2 (généralement associée à une obésité abdominale et à un syndrome métabolique)⁽¹⁴⁾. Elle aggrave tant la microangiopathie que la macroangiopathie

a) **La maladie coronarienne**

Le risque de présenter un infarctus du myocarde (fatal ou non) est 2 à 4 fois plus élevé chez le sujet diabétique. Différentes études ont démontré que des patients DT2 présentant un syndrome métabolique et sans antécédent CV avait un risque d'infarctus similaire à un individu non diabétique ayant déjà un passé coronarien⁽¹⁵⁾. Il est maintenant reconnu que le patient diabétique (DT2 en particulier) doit être considéré dans le cadre d'une prévention CV dite secondaire, le seul diagnostic de diabète étant suffisant pour exposer sévèrement le patient à ces complications CV⁽¹⁶⁾. Le patient DT1 présente également un risque accru de coronaropathie, surtout s'il coexiste une néphropathie diabétique et/ou un syndrome métabolique⁽¹⁷⁾.

L'atteinte des artères coronaires survient, chez le patient diabétique, à un âge plus jeune que dans la population générale non diabétique. Les femmes diabétiques, en particulier, souffrent plus de cette complication et il existe une différence très grande quant à la survenue d'événements coronariens chez les femmes avec ou sans diabète⁽¹⁸⁾. Les symptômes typiques de la coronaropathie (angor) sont souvent moins explicites, voire absents, chez les patients diabétiques en raison de la présence fréquente d'une neuropathie. La mortalité est également plus importante, 2 à 3 fois plus élevée qu'en l'absence de diabète. Enfin, les phénomènes de resténose (après mise en place d'une endoprothèse ou après angioplastie percutanée) sont

également plus fréquents chez les patients diabétiques. Classiquement, les lésions artérielles chez le patient diabétique sont plus diffuses et plus distales, ce qui rend plus délicates les manœuvres de revascularisation.

La littérature fait également mention d'une cardiomyopathie diabétique. Histologiquement, il s'agit d'une cardiomyopathie en rapport avec une microangiopathie et une fibrose myocardique. Ces anomalies aboutissent à une hypertrophie ventriculaire gauche avec, initialement, dysfonction ventriculaire diastolique puis systolo-diastolique. L'évolution progressive vers l'insuffisance cardiaque grave est fréquente.

b) Les accidents vasculaires cérébraux

A l'instar de l'infarctus du myocarde, l'AVC est 2 à 4 fois plus fréquent chez les patients diabétiques que chez les personnes non diabétiques, appariées pour les autres facteurs de risque. La traduction clinique et les traitements mis en œuvre chez les patients diabétiques sont comparables à ceux de la population non diabétique.

c) L'artériopathie (périphérique)

L'athéromatose des artères des membres inférieurs est responsable d'un cortège de complications. Associée à la neuropathie périphérique déjà mentionnée, l'artériopathie, proximale et distale, des membres inférieurs joue un rôle majeur dans l'apparition et la progression des lésions dites du « pied diabétique », pouvant conduire à une gangrène des extrémités et à l'amputation (le diabète est la première cause d'amputation non traumatique dans les pays industrialisés).

1.2. Neuropathie autonome cardiovasculaire

La neuropathie autonome cardiovasculaire (NAC) est une des complications les plus fréquentes du diabète sucré. Elle reste cependant la moins étudiée sur le plan pratique et fait figure de « parent pauvre » en comparaison à l'intérêt généralement porté aux autres complications de micro- et macro-angiopathie. En effet, malgré une prévalence élevée et une relation évidente avec la survenue d'événements CV, sa recherche systématique, sa quantification précise et, davantage encore, son traitement restent largement insuffisants ainsi que nous l'avons discuté dans une revue en 2005⁽¹⁹⁾ (voir Annexe A1). Certaines explications

quant à ce moindre intérêt (des médecins et, donc, des patients) pour cette complication résident, au moins en partie, dans un certain manque d'harmonisation dans son diagnostic et dans les incertitudes en ce qui concerne les stratégies de prise en charge ^(12, 20).

La NAC a, dans son évolution ultime, une traduction clinique grave sous la forme d'une hypotension orthostatique sévère, et son influence en termes de pronostic vital n'est pas négligeable à ce stade ⁽²¹⁾. La présence d'une NAC avancée complique souvent le traitement d'une HTA, puisque le patient diabétique peut lors combiner une HTA de décubitus (y compris nocturne) et une hypotension en position debout ^(14, 19). Cependant, elle peut être beaucoup plus insidieuse, tout en étant déjà accompagnée d'une morbidité accrue. Il existe plusieurs techniques pour la dépister précocement (voir plus loin)

1.2.1. Epidémiologie

La NAC est définie comme une anomalie du système nerveux autonome, sympathique et parasympathique, et peut être reconnue sur base d'éléments cliniques ou «subcliniques» (tests de dépistage positifs) ^(12, 20, 22). Le diagnostic de la NAC, tout comme celui de la neuropathie périphérique, peut être suggéré sur base de plusieurs symptômes et signes. La fatigue, la faiblesse, les sensations vertigineuses, une vue trouble et parfois une syncope après un passage de la position couchée à la position debout sont les signes d'appel de l'hypotension orthostatique. Celle-ci est responsable de la grande majorité des plaintes évoquées par les patients souffrant de NAC. L'hypotension orthostatique, vérifiée lors d'un examen clinique standard, n'est cependant pas pathognomonique de la NAC et, par ailleurs, son absence n'exclut nullement cette dernière ⁽²³⁾. Certaines autres anomalies CV sont liées à la NAC, tels que la tachycardie fixe et les troubles vasomoteurs périphériques, avec comme complication ultime possible la mort subite par troubles du rythme cardiaque.

La NAC est une complication très fréquente du diabète sucré et la prévalence varie de 2,4% dans une population chez qui on vient de poser un diagnostic de diabète à plus de 36 % dans certaines grandes cohortes de patients diabétiques (DT1 notamment) ⁽³⁾. On retrouve même une prévalence de 90% chez des patients DT1 avec une longue durée d'évolution qui étaient des candidats potentiels à une transplantation du pancréas ⁽²⁴⁾. Les tests basés sur la variation de la fréquence cardiaque (FC) sont positifs dans 20 à 60 % de la population diabétique et sous-entendent que la présence d'une NAC précède largement la survenue de

l'hypotension orthostatique symptomatique. On remarque parfois la survenue d'une NAC dès les premières années après la survenue du diabète et il est maintenant établi que la NAC ne doit pas être perçue comme une complication tardive, et sans conséquence, dans l'évolution du sujet diabétique ⁽²⁵⁾.

1.2.2. Exploration

1) Batterie classique des tests de provocation d'Ewing

De manière schématique, la NAC peut être suspectée de manière précoce si on observe un amortissement ou une perte de la variabilité sinusale, en particulier de l'arythmie respiratoire observée lors d'une respiration forcée. Ensuite, une tachycardie de repos fixe traduit une dénervation parasympathique et, enfin, la survenue d'une hypotension orthostatique témoigne d'une absence de vasoconstriction périphérique, associée à la perte de la tachycardie réflexe, indiquant une atteinte sympathique surajoutée. Des anomalies touchant la régulation de la pression artérielle (PA) peuvent également être objectivées. Les principales méthodes d'évaluation de la NAC ont été décrites dans un article de revue (voir Annexe A1) ⁽¹⁹⁾.

a. Variations de la fréquence cardiaque (ou des espaces R-R)

L'étude des variations de la FC explore essentiellement la fonction parasympathique. La présence d'une NAC est souvent recherchée par l'étude des variations des intervalles électrocardiographiques R-R lors de trois tests simples standardisés par Ewing et son équipe ⁽²⁶⁾. L'indice le plus souvent utilisé est le rapport entre l'intervalle R-R maximum et l'intervalle R-R minimum; plus ce rapport est proche de l'unité, plus la NAC est sévère. Il est important de comparer les résultats obtenus chez des patients diabétiques aux résultats de sujets sains appariés pour l'âge puisqu'il existe une perte progressive de la variabilité sinusale en fonction de l'âge ⁽²⁷⁾. Les trois tests généralement utilisés sont la respiration forcée («deep breathing»), la manoeuvre de Valsalva et le test d'orthostatisme (passage de la position couchée à la position debout) ⁽²²⁾.

La respiration forcée à six cycles par minute est le test le plus fréquemment utilisé en clinique pour dépister la présence d'une NAC. Elle permet de bien étudier l'arythmie respiratoire. Pour rappel, l'activité du nerf vague est principalement responsable des

variations de FC observées lors de ce test (tachycardie à l'inspiration et bradycardie à l'expiration). Le rapport entre les espaces R-R maximum (phase expiratoire) et les espaces R-R minimum (phase inspiratoire), appelé R-R E/I ratio, donne un indice qui est précocement altéré (diminution d'autant plus marquée que l'atteinte est sévère), bien avant toute manifestation clinique de la NAC. Un ratio égal à 1 témoigne d'une dénervation complète.

Le même rapport des intervalles R-R maximum et minimum peut être calculé lors de la manoeuvre de Valsalva : la tachycardie qu'induit celle-ci est liée à une stimulation orthosympathique (en rapport avec la chute de PA secondaire à la diminution du retour veineux) et le relâchement s'accompagne d'une bradycardie secondaire à l'activation du système parasympathique.

Enfin, le test d'orthostatisme étudie le passage de la position couchée à la position debout et fait intervenir le réflexe baro-sensible. On observe d'abord une tachycardie (souvent maximale 15 battements après le redressement), suivie d'une bradycardie (maximale après 30 battements). Le rapport entre les intervalles R-R mesurés respectivement 30 et 15 battements suivant le redressement peut être utilisé en routine clinique.

b. Variations de la pression artérielle

Les variations de la PA peuvent apporter des informations complémentaires, notamment sur une éventuelle atteinte sympathique, et leur étude est donc complémentaire de celles de la FC ^(22, 26). Elles peuvent être étudiées soit lors d'un test d'orthostatisme, soit lors d'une épreuve de contraction musculaire isométrique de la main à l'aide d'un dynamomètre («handgrip»), deux manoeuvres qui entraînent une stimulation sympathique. Si celle-ci est présente, la vasoconstriction périphérique qui en résulte permet de limiter la chute de la PA systolique (PAS) à l'orthostatisme (< 30 mm Hg) et de réaliser une augmentation suffisante de la PA diastolique (PAD) lors de la contraction isométrique (> 10 mm Hg). Force est cependant de reconnaître que ces variations de PA sont beaucoup moins recherchées en clinique, et même en recherche, essentiellement parce qu'elles sont moins faciles à mesurer en continu (voir plus loin) que celles de la FC qui peuvent être suivies par un simple électrocardiogramme. En pratique, beaucoup se contentent de la recherche d'une hypotension orthostatique, définie par une chute de PAS de plus de 20 mm Hg (et de la PAD de plus de 10 mm Hg) lors du passage de la position couchée à la position debout ⁽²³⁾. Cette mesure peut être faite au cabinet médical, mais une telle anomalie survient tardivement dans l'histoire naturelle de la maladie.

2) Etude de la variabilité sinusale spontanée

Même en l'absence de stimuli externes, des modifications périodiques de FC s'observent. Les variations rapides de FC sont secondaires à la respiration et se produisent tout au long du nyctémère; elles sont étroitement liées à l'activation du système parasympathique. Des variations très lentes seraient liées, entre autres, à des modifications neuro-humorales. Ces modifications de FC, appelées variabilité de FC ou HRV (pour «Heart Rate Variability»), peuvent être mesurées au moyen de différentes techniques. Plusieurs études ont démontré que l'étude de la variabilité sinusale peut apporter des informations précieuses à la fois sur l'activité du système nerveux autonome et sur l'«état de santé global» du coeur⁽²⁸⁾.

L'analyse par un programme informatique des variations spontanées de FC et de PA permet le calcul d'un baroréflexe «spontané» (BRS)⁽²⁹⁾. La méthode séquentielle est basée sur l'identification par l'ordinateur, dans le domaine temporel, de séquences de trois battements successifs (ou plus) au cours desquels on observe une élévation progressive de la PA et, en conséquence, un accroissement de la longueur des intervalles R-R correspondants ou l'inverse. La moyenne des pentes des droites de régression construites à partir de ces triplets de points représente l'indice BRS (baroréflexe spontané) et est considérée comme le reflet de l'efficacité du baroréflexe.

1.2.3. Pronostic

a) Mortalité accrue

En présence d'une NAC, le risque de mort subite en rapport avec des arythmies est significativement augmenté^(30,31). Dans l'étude européenne EURODIAB, la présence d'une NAC était, lors du suivi médian de 7 années, le facteur prédictif de mortalité le plus puissant au sein de cette cohorte de patients DT1, au-delà de l'influence des différents facteurs de risque CV dits classiques⁽³²⁾. Dans l'étude néerlandaise HOORN, il est rapporté que le diagnostic de NAC double le risque de mortalité à 9 ans chez les patients diabétiques les plus âgés⁽³³⁾. Une méta-analyse de 15 études, incluant au total 2.900 patients diabétiques, rapporte un risque relatif de mortalité de 3,45 (intervalle de confiance à 95 % ou IC 95% 2,66-4,47) chez les patients présentant une NAC. Ce risque augmente progressivement avec le nombre

de tests anormaux évaluant la NAC⁽³⁴⁾. Récemment, deux études ont confirmé ces données dans des cohortes de patients DT1⁽³⁵⁾ et DT2⁽³⁶⁾. Des anomalies combinées de la variabilité respiratoire de la FC et de l'intervalle QT se sont révélées être de puissants facteurs prédictifs de mortalité, indépendamment des facteurs de risque conventionnels^(37,38).

b) Hypoglycémie et mortalité

Classiquement, toute intensification thérapeutique (surtout avec les sulfamidés oraux et, bien entendu, l'insulinothérapie) chez les patients diabétiques se traduit par un risque accru d'hypoglycémies. Ce risque est plus élevé chez le patient DT1 que chez le patient DT2. L'hypoglycémie induit différentes réponses hormonales et stimule le système nerveux autonome sympathique⁽³⁹⁾. Il est possible que la perte progressive des symptômes de l'hypoglycémie (phénomène plus fréquent chez les patients DT1, de longue durée en particulier) favorise la survenue des arythmies malignes et expose ces patients au risque de mort subite (« dead in bed syndrome »). Récemment, l'étude ACCORD (« Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes »), réalisée dans une population avec un DT2 avancé, a montré que les patients traités de manière intensive (objectif d'obtenir une valeur d'HbA1c < 6%) présentaient un taux de mortalité accru par rapport à la cohorte traitée de manière standard⁽⁴⁰⁾. Bien que débattue à l'heure actuelle au sein de la littérature^(41,42), l'association entre hypoglycémie et mortalité accrue reste néanmoins très plausible et cette notion pourrait être particulièrement pertinente chez les patients présentant une NAC avancée⁽⁴³⁾.

c) Ischémie silencieuse du myocarde

Il est maintenant établi qu'il existe une association entre la NAC et la présence d'une ischémie silencieuse du myocarde. La NAC est reconnue comme un facteur prédictif puissant de cette ischémie silencieuse et des événements CV qui en découlent^(44,45). Cette association a des implications cliniques et thérapeutiques majeures⁽⁴⁶⁾.

d) Risque opératoire

La NAC augmente le risque de complications per- et post-opératoires⁽⁴⁷⁾. La problématique concerne particulièrement les patients diabétiques pour lesquels cette complication n'a pas été diagnostiquée car le risque est augmenté malgré le caractère asymptomatique⁽⁴⁸⁾. La NAC peut se manifester par des troubles circulatoires variés dans le décours d'une intervention chirurgicale réalisée sous anesthésie générale, avec parfois une grande instabilité hémodynamique et un risque accru de mort subite. Il est, dès lors, important

chez les patients diabétiques de suspecter et dépister cette complication, dès la mise au point pré-opératoire, pour permettre une meilleure prise en charge en période per- et en post-opératoire.

e) **Accidents vasculaires cérébraux**

Une étude récente comportant 1.458 patients DT2 a rapporté que la présence d'une NAC (recherchée grâce à l'étude des variations respiratoires de la FC) était un des facteurs prédictifs les plus puissants (au même titre que l'HTA et l'âge) d'un accident vasculaire ischémique ⁽⁴⁹⁾. Cette étude confirme des résultats antérieurs qui laissaient déjà suspecter pareille association ⁽⁵⁰⁾.

f) **NAC et dysfonction cardiaque**

Il est reconnu que les dommages des fibres nerveuses occasionnés par l'hyperglycémie progressent depuis le versant distal vers le versant proximal. Le diabète sucré atteint, en priorité, les fibres nerveuses les plus longues. La combinaison de ces deux particularités explique, par exemple, la symptomatologie typique de la neuropathie dite périphérique, toujours prédominante aux membres inférieurs, avec début de la symptomatologie au niveau des pieds (fibres nerveuses les plus longues, les plus distales). Le même type de raisonnement peut s'appliquer avec le nerf vague, le plus long du système nerveux autonome et qui contrôle 75% environ de l'activité parasympathique. Ceci expliquerait pourquoi l'atteinte parasympathique est classiquement plus précoce que l'atteinte sympathique dans l'histoire naturelle de la NAC.

Il est probable qu'au cours de l'évolution de la NAC compliquant le DT1, on assiste à une stimulation compensatoire du tonus sympathique cardiaque en réponse à une dénervation parasympathique ^(51, 52). Ce déséquilibre de la balance « sympathique/parasympathique », observé dans divers états pathologiques dont la NAC associée au diabète, peut être étudié par une analyse spectrale des variations de FC (et de PA) à basse et à haute fréquence temporelle selon la méthode dite de la transformée de Fourier ⁽⁵³⁾. Les ondes de haute fréquence (HF) indiquent l'activité cardiaque vagale tandis que les ondes de basse fréquence (LF) correspondent à l'activité sympathique; dès lors, le rapport LF/HF représente la balance sympatho-vagale. La dénervation sympathique survient ultérieurement et débute à l'apex des

ventricules pour progresser vers la base de ceux-ci. Cette stimulation initiale de l'activité cardiaque sympathique entraîne la survenue de différents phénomènes (libération anormale de norépinephrine, stress oxydatif accru, apoptose...) qui contribuent à l'atteinte cardiaque avec, *in fine*, un risque d'événements cardiaques et de mort subite plus important chez ces patients avec NAC avancée ⁽²¹⁾.

1.3. Pression pulsée et stress pulsatile

La qualité de l'arbre artériel se dégrade avec le temps de manière inexorable. Le vieillissement des artères et la notion d'athérosclérose qui y est intimement liée sont responsables d'une mortalité CV importante, première cause de décès dans les pays industrialisés. Cette évidence est encore plus vraie au sein de la population diabétique, caractérisée par une athérosclérose accélérée ⁽⁵⁴⁾.

Classiquement, la rigidité artérielle est reconnue comme étant la cause principale de l'augmentation de la pression artérielle systolique (PAS), de la diminution de la pression artérielle diastolique (PAD) et de l'accroissement de la pression différentielle ou pression pulsée (PP) après l'âge de 40 ans. La rigidité artérielle atteint principalement l'aorte et les grosses artères proximales, alors que les artères périphériques de plus petit calibre sont habituellement moins concernées par cette dégradation structurelle. Ceci explique que l'HTA du sujet âgé a une nette prédominance systolique, y compris chez le patient diabétique ⁽¹⁴⁾.

1.3.1. Epidémiologie

Avec l'âge, la PAS augmente tandis que la PAD tend à diminuer. Il en résulte une augmentation de la PP, reflet indirect d'une rigidité artérielle accrue et paramètre largement utilisé dans de grandes études épidémiologiques. On estime généralement qu'une augmentation de PP > 60 mm Hg représente un facteur de risque CV indépendant ⁽⁵⁵⁾. Cependant, selon les populations étudiées (jeunes ou âgées, par exemple), des valeurs seuil de 50 mm Hg ou 70 mm Hg ont également été proposées comme valeurs seuil. Les patients DT1 sont caractérisés par une rigidité artérielle accélérée, et donc par une augmentation plus précoce de PP ⁽⁵⁶⁾.

La « Reference Values for Arterial Stiffness Collaboration » a publié, en 2010, des données relatives à différents indices de rigidité artérielle pour mieux définir la notion de «valeurs normales» au sein d'une large population ⁽⁵⁷⁾. Ainsi, une cohorte de plus 16.000 sujets

sans antécédents CV a pu être étudiée. Un sous-groupe de 1.455 personnes avec une PAS < 115 mm Hg et une PAD < 70 mm Hg et ne présentant aucun facteur de risque CV a été constituée pour étudier une cohorte particulièrement “saine”. La PP brachiale moyenne chez les 11.092 sujets sains (âge moyen de 50 ans) est de 52 mm Hg et celle des sujets plus jeunes (33 ans d'âge moyen) est de 45 mm Hg.

Dans la grande étude européenne EURODIAB ⁽⁵⁸⁾, la PP augmente significativement avec l'âge dans la population non diabétique de référence et chez les patients DT1. De façon intéressante, il a été montré que cette augmentation est déjà nette chez les patients DT1 âgés de moins de 50 ans, alors que, chez les sujets non diabétiques, cette augmentation de la PP avec l'âge n'est classiquement observée qu'après 50 ans. Cette différence s'explique, très probablement, par le développement plus précoce d'une rigidité artérielle dans la population DT1, en relation avec l'hyperglycémie chronique ^(54, 59).

Dans l'étude finlandaise cas-témoins FinnDiane comportant 2.988 patients DT1 et 5.486 sujets non diabétiques, la PAS est plus élevée chez les DT1 que chez les témoins dans tous les groupes d'âge. Par contre, chez les DT1, PAD est plus élevée en-dessous de 40 ans et plus élevée au-dessus de 45 ans par comparaison aux témoins. Dès lors, PP est plus élevée chez les patients DT1. Dans une analyse à régression multiple, il apparaît que PP est associée avec l'âge, le sexe masculin, la durée du diabète et la présence d'une albuminurie ⁽⁶⁰⁾. Dans une autre analyse de cette population FinnDiane ⁽⁶¹⁾, la PP brachiale moyenne des sujets sains de 41 ans d'âge moyen était de 53 mm Hg. Par contre, celle des patients DT1 (population appariée pour l'âge) était de 60 mm Hg, atteignant même 66 et 74 mm Hg respectivement pour les DT1 présentant une μ A ou une macroprotéinurie. Cette étude confirme donc que le DT1 est associé à un accroissement de la PP et que cette augmentation est particulièrement marquée chez les patients atteints d'une néphropathie diabétique. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette relation dans la discussion générale de notre travail.

1.3.2. Exploration

Deux approches peuvent être brièvement présentées : soit la mesure de PP ou du stress pulsatile comme reflet indirect de la rigidité artérielle, soit une mesure plus directe de la rigidité artérielle par diverses techniques validées.

1) Mesure de PP et du stress pulsatile

PP peut être dérivée par la simple différence entre PAS et PAD, mesurées à l'aide d'un sphygmomanomètre classique au cabinet médical. Cette méthode a été adoptée dans diverses études dans la population DT1, comme, par exemple, l'étude EURODIAB ^(32, 58) et l'étude FinnDiane ^(60, 62). PP peut également être aisément obtenue lors d'un monitoring ambulatoire de la pression artérielle (MAPA). Cette approche offre l'avantage d'un nombre important de mesures sur 24 heures, ce qui permet d'obtenir une moyenne très reproductible. Dans ce travail, nous avons dérivé PP des mesures de PAS et PAD à l'aide d'un Finapres®. Il a été démontré que la mesure de PA avec cet appareil est bien corrélée à celle obtenue avec une ponction artérielle (voir plus loin), ce qui a validé la méthode ⁽⁶³⁾.

PP dépend également de la FC, paramètre susceptible d'être modifié à la fois par la posture et par la NAC. Un moyen d'intégrer ces deux paramètres est de calculer ce qui a été appelé le « stress pulsatile » en multipliant PP par FC ⁽⁶⁴⁾. La mesure de cet indice sera développée dans la partie « Matériel et méthodes » du travail.

Rappelons, par ailleurs, qu'une FC élevée est associée à une incidence accrue d'événements CV, indépendamment des autres facteurs de risque traditionnels et même d'une élévation du tonus sympathique. Plusieurs mécanismes physiopathologiques ont été évoqués. Une FC élevée accroît le stress pulsatile imposé aux artères, ce qui pourrait expliquer, au moins partiellement, des changements structurels et fonctionnels dans les parois artérielles ainsi que certaines lésions endothéliales. Ces modifications engendrent un environnement pro-athérogène et sont donc susceptibles d'accroître le risque de complications CV ⁽⁶⁵⁾.

2) Autres indices de mesure/estimation de la rigidité artérielle

Si les facteurs de risque CV classiques sont bien identifiés, de nouveaux marqueurs CV sont sans cesse recherchés. Plusieurs données indiquent que la rigidité artérielle, l'augmentation de la vitesse de propagation de l'onde de pouls (PWV pour « Pulse Wave Velocity ») et la PP (surtout aortique) sont d'importants facteurs prédictifs indépendants

d'événements CV. La rigidité artérielle reflète l'exposition cumulée aux différents facteurs de risque CV et est potentiellement plus informative. En effet, comme la PA, la glycémie et le taux de lipides fluctuent au cours du temps, la rigidité artérielle, comme « intégrateur », reflète mieux le risque CV accumulé au long cours (un peu comme l' « intima media thickness » au niveau carotidien).

Bon nombre de mesures ont été proposées dans la littérature pour explorer la rigidité artérielle. A la lumière de la littérature actuelle, aucune mesure ne semble s'imposer comme un « gold standard » et toutes ont des avantages et inconvénients liés à la technique de mesure en elle-même. Une multitude d'indices en rapport avec la rigidité artérielle existent, mais nous ne décrirons brièvement ci-dessous que les trois indices les plus fréquemment utilisés dans la littérature.

a) **Vitesse d'onde de pouls**

La vitesse d'onde de pouls est la mesure de rigidité artérielle la plus répandue et probablement le meilleur indice actuellement disponible. Elle correspond à la vitesse de l'onde de pouls mesurée entre deux sites artériels. Idéalement cette mesure ne doit pas être influencée par l'onde de retour (l'onde de pouls progresse vers le versant distal de l'arbre artériel et retourne vers le versant proximal sous forme d'une onde de réflexion). Pour des raisons pratiques de mesure, elle est souvent calculée entre les artères carotidienne et fémorale, même si ces 2 artères ne sont pas sur la même ligne artérielle. Plus les artères sont rigides, plus cette vitesse de propagation est élevée (moindre amortissement de l'onde de pouls car les artères sont moins élastiques et distensibles).

Dans les recommandations européennes sur la prise en charge de l'HTA, une PWV carotido-fémorale > 12 m/sec est considérée comme un indicateur d'atteinte infra-clinique des organes cibles ⁽⁶⁶⁾. La PWV évolue en fonction de différents paramètres et l'âge, plus particulièrement, influence directement cette mesure. Des valeurs de références européennes de la PWV ont été établies en 2010 ⁽⁵⁷⁾.

Dans l'étude Framingham Heart Study, il a été démontré qu'une valeur de PWV carotido-fémorale plus élevée (population avec le quartile supérieur de PWV, c'est-à-dire $> 11,8$ m/sec) était associée à un risque CV (infarctus du myocarde, angine de poitrine, décompensation cardiaque, AVC) accru de 48 %. Ce chiffre impressionnant est obtenu après ajustement pour l'âge, le sexe, la PAS, l'usage de médicaments anti-hypertenseurs, le bilan

lipidique, le tabagisme et le diabète ⁽⁶⁷⁾. Enfin, une étude récente réalisée chez des patients DT1 a montré que l'analyse de la PWV permettait de dépister les individus à plus haut risque CV ⁽⁶⁸⁾.

b) Indice Aix

L'indice Aix pour « Augmentation Index » pourrait également être le reflet de la rigidité artérielle. A l'instar de la PWV, il est obtenu grâce à des techniques de mesure non invasives. L'Aix correspond à la différence entre le second et le premier pic de l'onde de pression aortique en systole (delta P); il est exprimé en tant que pourcentage de la PP. Aix est classiquement négatif chez les jeunes, proche de 0 entre 30 et 40 ans puis positif après cet âge. Une étude réalisée chez des patients DT1 a démontré que l'Aix était significativement accru chez les DT1 par rapport à une population contrôle appariée ⁽⁶⁹⁾.

c) Indice AASI

L'indice AASI pour « Ambulatory Arterial Stiffness Index » peut être calculé grâce à la mesure continue de la PA de 24 heures. Cet indice est égal à 1 moins la pente de régression obtenue en disposant les points correspondant à la PAS en abscisse et la PAD en ordonnée. Dans l'article princeps décrivant l'AASI, les valeurs normales (de référence) se situent < à 0,50 chez les jeunes et < 0,70 chez les plus âgés. Plus cet indice se rapproche de l'unité, plus la rigidité artérielle serait importante ⁽⁷⁰⁾.

Bien que controversé dans la littérature récente, cet indice est encore régulièrement évalué dans différentes études CV et plusieurs publications ont établi une relation entre cet indice de rigidité artérielle et des événements coronariens ou cérébro-vasculaires ⁽⁷¹⁾. La reproductibilité de cet indice chez des patients DT1 a été étudiée dans un travail récent ⁽⁷²⁾ : il en ressort que cet indice est moins reproductible que la PP dans la population étudiée. Dans une approche exploratoire, nous avons essayé de calculer l'AASI lors d'un test postural avec mesure de la PAS et de la PAD en continu pendant 3 minutes. Nous avons montré que AASI, dérivé des mesures faites avec le Finapres® pendant le test de squatting, augmente en fonction de la durée du DT1, indépendamment de l'âge, en accord avec une rigidité artérielle accrue ⁽⁷³⁾. Cependant, comme il ne s'agit pas là de la façon classique de calculer l'AASI, nous n'avons pas davantage investigué cet aspect dans notre travail

1.3.3. Pronostic

Dès les années 90, il a été montré qu'une élévation de PP est associée à un accroissement de la mortalité et la morbidité CV ⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾. Il a été rapporté que, chez les personnes de plus de 55 ans, PAS et PP étaient des déterminants de la morbi-mortalité CV plus puissants que PAD ou PAM ^(77, 78). Il est admis que, dans la population jeune (non diabétique), PAD reflète mieux le risque CV alors que PAS et PP sont plus prédictifs chez les personnes de plus de 55 ans ⁽⁷⁸⁾. Cette constatation peut être expliquée par plusieurs facteurs. La PAD basse chez les jeunes reflète la faible résistance périphérique alors que, chez les personnes plus âgées, la PAD basse est plutôt en rapport avec la notion de rigidité artérielle liée à l'âge. Chez les personnes plus âgées, une PAD abaissée est associée à une PAS élevée (l'autre manifestation de la rigidité artérielle); la PP est donc élevée et celle-ci paraît bien corrélée au risque CV.

Il a été démontré que PP est un facteur prédictif de mortalité (CV particulièrement) au sein de plusieurs types de populations : personnes jeunes ^(55, 79), plus âgées ⁽⁸⁰⁾, sujets hypertendus ou pas ⁽⁷⁵⁾ et, bien entendu, chez les patients diabétiques, qu'ils soient DT2 ^(81, 82) ou DT1 ^(32, 58). Nous ne détaillerons ici que les travaux réalisés dans la population DT1, provenant essentiellement des études EURODIAB et FinnDiane, en relation directe avec la thématique de notre travail.

Dans l'étude EURODIAB ⁽⁵⁸⁾, il a été montré que PP était (avec PAM) un déterminant important du risque CV au sein de cette population jeune (âge moyen 33 ans) comportant 3.250 patients DT1. Tant PAM que PP étaient associées au risque CV. Pour chaque incrément de 10 mm Hg, le risque relatif ajusté (avec un IC 95%) était de 1,08 (0,94-1,24) pour PAM et de 1,09 (0,98-1,21) pour PP. La PP semble donc bien liée à la notion de rigidité artérielle, phénomène probablement précoce et délétère chez les jeunes patients DT1. Dans une analyse ultérieure des données de cette même étude EURODIAB, l'élévation de PP est associée avec un accroissement de mortalité, avec un risque relatif de 1,33, comparable à celui du taux de cholestérol non HDL ou du rapport « taille/hanches », et supérieur à celui du taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) ⁽³²⁾.

Enfin, très récemment, l'influence majeure de PP sur les complications CV chez les patients DT1 a été démontrée dans le suivi de l'étude FinnDiane : PP était associée, de manière indépendante, à la survenue d'un premier événement CV (après ajustement pour les

facteurs de risque classiques). Pour ce qui concerne le risque de détérioration de la fonction rénale, la relation avec PP à l'entrée dans l'étude perd sa signification statistique après ajustement pour d'autres facteurs de risque traditionnels. Les auteurs concluent que PP prédit la survenue d'un événement CV indépendamment du degré d'atteinte rénale ⁽⁶²⁾.

1.4. Buts du travail

La NAC et le stress pulsatile, nous l'avons vu, représentent deux facteurs de risque CV importants, en particulier dans la population DT1. Ces deux complications sont moins bien connues du clinicien et peuvent rester longtemps négligées. Il est donc important de pouvoir les mettre en évidence par des techniques relativement simples, non invasives, de façon à pouvoir identifier les patients à risque, notamment de complications CV parfois graves. Nous avons centré notre travail sur la population DT1, plus « pure » car moins exposée à des facteurs confondants (comme l'âge avancé, l'obésité, l'hypertension artérielle, les comorbidités, les comédications, ...).

Nous avons fait l'hypothèse qu'un test orthostatique actif comme le test de squatting (debout – accroupi – debout), couplé à une mesure continue de la PA et de la FC (à l'aide d'un Finapres® : voir matériel et méthodes), pouvait s'avérer utile pour explorer à la fois la NAC et le stress pulsatile. En effet, ce test postural représente un stimulus majeur du baroréflexe permettant d'évaluer les adaptations hémodynamiques et de dépister les anomalies à la fois cardiaques et vasculaires ^(83, 84) (voir Annexes A2 et A3). Le but du travail sera donc d'évaluer, de manière approfondie, la NAC et le stress pulsatile dans la population DT1 à l'aide du test de squatting et d'un Finapres®. Notre travail comprendra deux grandes parties.

1.4.1. Première partie : Neuropathie autonome cardiovasculaire

La première partie sera consacrée à la NAC. Nous étudierons la reproductibilité des indices de NAC recueillis lors d'un test de squatting, en particulier le gain baroréflexe (GBR). Nous analyserons ensuite les effets de différents facteurs, dont la durée du DT1, le sexe et la qualité du contrôle glycémique. Nous étudierons les relations entre les indices dérivés du test de squatting, en particulier le GBR, et l'indice classique de NAC qu'est le R-R E/I ratio mesuré dans l'épreuve de respiration forcée (« deep breathing »). Enfin, nous étudierons la

relation des indices de NAC avec ceux d'autres complications du DT1, plus particulièrement la μA comme marqueur précoce de la néphropathie diabétique.

1.4.2. Seconde partie : Pression pulsée et stress pulsatile

La seconde partie sera consacrée à PP et au stress pulsatile. Nous analyserons, tout d'abord, la reproductibilité des indices obtenus. Ensuite, nous étudierons les effets de la position accroupie (squatting) sur la PP et démontrerons que cette position accroît le stress pulsatile, en particulier chez les patients DT1 de longue durée. Nous analyserons aussi l'influence des mêmes facteurs que ceux évalués avec la NAC, à savoir la durée du diabète, le sexe et la qualité du contrôle glycémique. Les relations entre stress pulsatile et GBR, d'une part, et entre stress pulsatile et microalbuminurie, d'autre part, seront également brièvement envisagées. Enfin, nous terminerons en comparant le stress pulsatile chez des patients DT1 et chez des patients DT2, appariés pour l'âge (50 ans), puisque l'on sait que cette population DT2, présentant souvent un syndrome métabolique, est particulièrement à haut risque CV.

Au terme de ces deux parties, nous tenterons d'intégrer ces deux anomalies que représentent la NAC et le stress pulsatile dans une discussion générale, en analysant les observations principales réalisées dans notre travail et en les comparant avec quelques observations-clé rapportées dans la littérature. Nous concluons par quelques considérations susceptibles d'avoir des implications cliniques, utiles pour le praticien.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Sujets

2.1.1. Patients diabétiques de type 1

Au cours des dernières années, notre équipe a pu réaliser un nombre important d'enregistrements effectués avec le Finapres®⁽⁸⁵⁾. Les différents groupes et sous-groupes de patients décrits dans nos travaux concernent, à ce jour, un total de 571 enregistrements (avec réalisation du test du squatting), correspondant à 281 enregistrements réalisés chez des femmes et 290 chez des hommes, tous DT1. Ces patients ont un âge moyen de 43 ± 13 ans et un indice de masse corporelle (IMC) moyen de $24,3 \pm 4,0$ kg/m².

Le fait d'étudier une population de patients DT1 (dont la moyenne d'âge est fréquemment inférieure à celle des cohortes de patients DT2) permet la réalisation des différents tests sans problème technique (capacité physique adéquate pour l'accroupissement, pas d'arthrose aux articulations du doigt où la manchette pléthysmographique du Finapres® est disposée, plus grande facilité pour réaliser un test de respiration forcée bien rythmé).

Par ailleurs, l'étude de cette population jeune de patients DT1 permet aussi de réduire les interférences de facteurs confondants susceptibles d'influencer FC et PA: en effet, ces patients sont moins fréquemment traités pour une HTA (les molécules telles que bêta-bloquants, par exemple, et autres anti-hypertenseurs sont moins utilisées au sein de cette cohorte de patients DT1 que chez les patients DT2). Une partie de cette population est néanmoins placée sous inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, mais le plus souvent dans le cadre d'une néphroprotection nécessaire en présence d'une μA . Lorsqu'elle est prise isolément en traitement chronique, cette classe médicamenteuse ne semble pas interférer avec l'analyse des variations de PA et de FC induites par un test de squatting et enregistrées en continu avec le Finapres®, ainsi que nous avons pu le vérifier⁽⁸⁶⁾.

2.1.2. Sujets témoins

La cohorte de patients DT1 a été comparée à des sujets sains non diabétiques. Nous avons ainsi pu recueillir 292 enregistrements témoins avec le Finapres® lors d'un test de

squatting, dont 147 chez des femmes et 145 chez des hommes. Leur âge moyen était de 35 ± 16 ans et l'IMC de $23,0 \pm 3,5$ kg/m². Dans toute la mesure du possible, les sujets non diabétiques ont été appariés aux patients DT1 sélectionnés dans chaque étude pour ce qui concerne l'âge, le sexe et l'IMC

2.1.3. Patients diabétiques de type 2

Bien que ce travail soit consacré aux patients DT1, nous avons sélectionné un petit groupe de patients DT2 de référence dans le but de pouvoir comparer le stress pulsatile de patients DT1 appariés pour l'âge (50 ans) et le sexe à celui de patients DT2 dont le risque CV est connu comme étant accru. Pour éviter des interférences liées à des comorbidités ou des comédications, nous avons sélectionné des patients indemnes de pathologies CV, en ce compris l'HTA, et ne prenant pas de médicaments susceptibles d'interférer avec les mesures effectuées. Au total, 40 patients DT2 ont été analysés (20 hommes, 20 femmes ; âge moyen : 50 ± 6 années ; IMC : $29,7 \pm 3,7$ kg/m²).

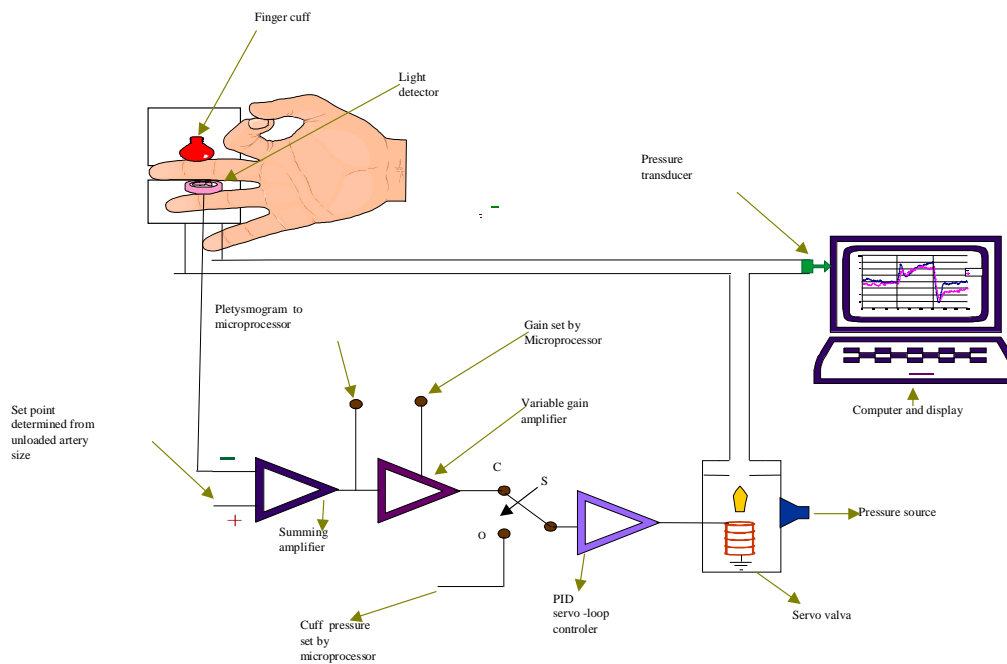
2.2. Appareil Finapres®

2.2.1. Description de la technique

Le Finapres® (pour « FINger Arterial PRESSure ») permet l'enregistrement en continu, et de façon non invasive, de la PA et de la FC, cette dernière étant dérivée de l'onde de pression (et non d'un électrocardiogramme)^(87, 88). Le Finapres® est constitué d'une manchette gonflable, comportant deux éléments : un émetteur et un récepteur à rayon infrarouge (i.e. pléthysmographe), que l'on fixe à la deuxième phalange du majeur, ou parfois de l'index. Son fonctionnement consiste en l'application d'une pression extra-artérielle («contre-pression») grâce à la manchette gonflable, continuellement égale à la pression intra-artérielle, engendrant ainsi une pression transmurale nulle. Cette dernière permet de maintenir constant le volume de sang dans les artères digitales au niveau de la manchette ainsi que la transmission du rayon infrarouge.

Le Finapres® possède un système d'asservissement qui fait varier la pression dans la manchette afin de maintenir l'intensité du rayon infrarouge égale à celle du point de référence et de maintenir la pression transmurale nulle. Ainsi, la pression externe appliquée par la manchette reflète presque exactement la PA. Pendant toute la durée des tests effectués, la main à laquelle est fixée la manchette est maintenue au niveau du cœur à l'aide d'une sangle ajustée.

Figure : Illustration du mode de fonctionnement du Finapres®



Cet appareil fournit donc, directement ou indirectement, six paramètres :

- PAS
- PAD
- PAM, calculée par l'équation suivante : $PAM = (PAS + (2 \times PAD))/3$
- PP, correspondant à la différence entre PAS et PAD
- FC, dérivée de l'onde de pression par détection des pics de PAS
- Espace R-R, correspondant à l'intervalle entre deux systoles.

Les données acquises par le Finapres® sont transférées via un port série sur un micro-ordinateur où elles sont stockées sous forme de fichiers ASCII. L'échantillonnage s'effectue toutes les 0,5 secondes pour l'ensemble des fichiers d'acquisition (test de respiration forcée ou « deep breathing » et test postural de squatting), avec extraction individuelle des valeurs de temps, de FC, PAM, PAS, PAD et PP.

2.2.2. Validation de la méthode

Les mesures de PA réalisées avec le Finapres® ont été comparées à la méthode de référence qu'est la mesure directe grâce à la mise en place d'un cathéter intra-artériel et la comparaison des mesures effectuées a montré une excellente concordance ⁽⁶³⁾. Il en est de même pour la mesure de PP, comme démontré dans un travail récent ⁽⁸⁹⁾. Une autre étude a comparé les méthodes de mesure non-invasive (Finapres®) et invasive (cathéter intra-artériel) de la sensibilité du baroréflexe, estimée lors d'un test à la phényléphrine. Les deux types de mesure présentaient une haute corrélation entre elles et, d'un point de vue clinique, elles donnaient une information pronostique équivalente ⁽⁹⁰⁾. Il a également été montré que le Finapres® était approprié pour étudier les modifications rapides de PA et de FC susceptibles d'être provoquées par des tests dynamiques visant à stimuler l'arc baroréflexe ⁽⁹¹⁾. Une revue de 2005 mettait en évidence l'intérêt de cette technique non invasive pour obtenir des informations cliniquement intéressantes, en particulier lors de variations rapides de PA ⁽⁹²⁾. D'autres articles publiés ont validé les qualités techniques de cet appareillage (disponibles sur *Finapres.com*).

2.3. Tests dynamiques

2.3.1. Respiration forcée (« deep-breathing »)

Depuis les travaux d'Ewing et son équipe, la respiration forcée à six cycles par minute est le test le plus fréquemment utilisé en clinique pour dépister la présence d'une NAC ^(22, 26). Elle permet de bien étudier l'arythmie respiratoire. Comme nous l'avons décrit dans l'introduction, le nerf vague est responsable des variations de FC observées lors de ce test (tachycardie à l'inspiration et bradycardie à l'expiration). Le rapport entre les espaces R-R maximum (expiration) et R-R minimum (inspiration) est appelé R-R E/I ratio et donne un indice qui est précocement altéré dans la NAC (plus le rapport est proche de 1, plus l'atteinte est sévère). En pratique, le sujet inspire et expire de manière maximale, les phases d'expiration et inspiration profondes sont suscitées par un membre du personnel qualifié qui dirige ces manœuvres afin d'obtenir les 6 phases de respiration forcée par minute. Il est important de noter que ce test se base uniquement sur les variations de FC et non sur celles concomitantes de PA.

2.3.2. Test postural : « Squatting »

Plutôt que de recourir au passage de la position couchée à la position debout (comme dans la batterie de tests d'Ewing), nous avons privilégié une manoeuvre d'orthostatisme originale, à savoir le «squatting»⁽⁹¹⁾. Il s'agit d'un redressement actif de la position accroupie à la position debout. Dans notre laboratoire, nous avons standardisé ce test en trois phases successives : 1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout (voir Annexe A3). Les variations hémodynamiques, en particulier celles de PA et de FC, survenant chez le sujet normal ont été détaillées dans un article de revue récent (voir Annexe A2)⁽⁸³⁾. De même, nous avons décrit soigneusement les anomalies observées lors de ce test en cas de dysfonction autonome en général (voir Annexe A3)⁽⁸⁴⁾, et plus particulièrement chez le patient DT1 avec NAC (voir Annexe A4)⁽⁹³⁾. Nous résumerons ici brièvement les principales modifications de PA et de FC observées chez le sujet normal et chez le patient DT1 avec NAC. Il est important, pour l'analyse, de bien dissocier les deux phases de transition successives.

Lors du passage de la position debout à la position accroupie (« squatting »), on observe une augmentation fugace de la PA (liée à un retour veineux accru), suivie d'un retour rapide aux valeurs de base puis une légère augmentation de la PA. Cette dernière est accompagnée d'une bradycardie réflexe (voir figure 1 de l'Annexe A2). Chez le patient avec une dysfonction autonome (DT1 avec une NAC relativement sévère), on observe une augmentation beaucoup plus marquée de la PA en position accroupie avec, dans le même temps, une bradycardie réflexe relativement moins importante (voir figure 4 de l'Annexe A3). L'augmentation de PA concerne davantage la PAS que la PAD de telle sorte que PP est augmentée lors de l'accroupissement. La position accroupie accentue donc le stress pulsatile, comme nous le décrivons plus loin (voir Annexe B2)⁽⁹⁴⁾. Elle peut, par contre, être utilisée pour contrecarrer une hypotension orthostatique sévère symptomatique (avec lipothymies et état pré-syncopal) chez les sujets avec une dysautonomie sévère (y compris une NAC avancée chez les patients DT1) ainsi que nous l'avons décrit par ailleurs⁽⁸⁴⁾.

Lors du passage de la position accroupie à la position debout (« squat-stand test »), le sujet normal présente une hypotension orthostatique avec une chute marquée pouvant dépasser 40-50 mm Hg pour la PAS, mais très transitoire puisqu'un retour aux valeurs de PA enregistrées lors de la position debout initiale (« baseline ») est noté dans les 10-20 secondes suivant le redressement (voir figure 1 de l'Annexe A2). Dès que la PA remonte, FC diminue pour revenir également rapidement aux valeurs basales. Chez le patient avec une dysfonction

autonome (NAC), la chute de PA lors du redressement est plus marquée (d'autant plus qu'il y a une augmentation de PA préalable en position accroupie), mais surtout plus prolongée, avec un retour aux valeurs normales de PA retardé. Cette anomalie s'explique par un déficit de vasoconstriction réflexe sympathique dans le territoire artériel et veineux périphérique ⁽⁸⁴⁾. Par ailleurs, il existe également une autre anomalie facilement détectable avec le Finapres®, à savoir un amortissement important de la tachycardie réflexe qui peut devenir à peine perceptible dans les cas de dénervation les plus sévères (voir figure 2 de l'Annexe A3). L'analyse conjuguée des variations de PAS et de FC permettra de calculer un gain baroréflexe (GBR), comme décrit dans le chapitre suivant.

2.4. Indices de neuropathie autonome cardiovasculaire

2.4.1. R-R E/I ratio

Le rapport entre les espaces R-R maximum (phase expiratoire) et les R-R minimum (phase inspiratoire), appelé R-R E/I ratio, donne un indice qui est précocement altéré, bien avant toute manifestation clinique de la NAC ⁽¹³⁾. Le R-R E/I ratio diminue progressivement avec l'âge dans une population normale. Il est, dès lors, capital d'avoir un groupe témoin apparié pour l'âge pour pouvoir interpréter valablement les résultats obtenus dans une population pathologique, dans le cas particulier de notre travail les patients DT1. Selon les recommandations récentes du groupe de Toronto, parmi la batterie de tests utilisées en clinique, c'est la diminution du R-R E/I ratio qui a la plus grande spécificité pour dépister une NAC ⁽¹²⁾. Cet indice nous servira donc de référence lorsque nous analyserons l'intérêt de la mesure du GBR en clinique.

Le même rapport des intervalles R-R maximum et minimum peut être calculé lors de la manoeuvre de Valsalva, mais cette manoeuvre particulière, plus délicate à réaliser et parfois potentiellement dangereuse, ne sera pas utilisée dans le présent travail.

2.4.2. SqTv et SqTs

Des indices d'évaluation de l'activité vagale (SqTv) et sympathique (SqTs) ont été proposés à partir des variations de la seule FC pendant le squatting et après le redressement ⁽⁹⁵⁾.

La bradycardie réflexe lors de la position accroupie peut être quantifiée par le rapport entre la moyenne des intervalles R-R précédant l'accroupissement et l'intervalle R-R le plus long dans les 10-15 secondes suivant l'accroupissement. Ce rapport a été appelé indice SqTv (v pour vagal). Il est, en effet, altéré par l'administration d'atropine. Ce rapport est normalement inférieur à 1 et plus il augmente, plus il est pathologique. SqTv augmente physiologiquement de façon progressive avec l'âge dans une population normale ⁽⁹⁵⁾.

La tachycardie réflexe lors du redressement peut être quantifiée par le rapport entre la moyenne des intervalles R-R précédant l'accroupissement et l'intervalle R-R le plus court dans les 10-15 secondes suivant le redressement. Ce rapport a été appelé indice SqTs (s pour sympathique). Il est, en effet, modifié par l'administration d'un bêta-bloquant comme le propranolol ^(95,96). Ce rapport est normalement supérieur à 1 et plus il diminue, plus il est pathologique. SqTv diminue progressivement avec l'âge dans une population normale ⁽⁹⁵⁾.

2.4.3. Gain baroréflexe

La sensibilité du baroréflexe peut être estimée par ce qu'il est convenu d'appeler le gain baroréflexe (GBR). Classiquement, celui-ci est calculé en comparant les variations des espaces R-R et de la PAS lors d'un test pharmacologique utilisant la perfusion d'un vasodilatateur (nitrite d'amyl ou nitroprusside) et d'un vasoconstricteur (angiotensine ou phényléphrine). Le vasodilatateur entraîne une baisse de PAS avec une tachycardie réflexe authentifiée par un raccourcissement des espaces R-R. Inversement, la perfusion de l'agent vasoconstricteur provoque une augmentation de PAS avec, secondairement, une bradycardie et un allongement des espaces R-R. Il a été montré que la pente de la droite de corrélation reliant les valeurs des espaces R-R et les valeurs de PAS lors de ce test pharmacologique reflète la sensibilité baroréflexe ⁽⁹⁷⁾. Ce test pharmacologique, déjà ancien, a été validé par différentes équipes avec, par exemple et plus récemment, un travail analysant les réponses sympathique et vagale chez l'homme sain ⁽⁹⁸⁾ et un autre comparant la sensibilité baroréflexe chez les femmes et chez les hommes ⁽⁹⁹⁾. Ces variations de PAS et de FC peuvent être détectées facilement par un appareil enregistrant ces variables en continu comme le Finapres®, avec un calcul du GBR correspondant aux valeurs enregistrées par mesure directe sanglante de la PA ⁽⁹⁰⁾.

Le passage de la position accroupie à la position debout dans le test de squatting entraîne une réponse biphasique de la PAS et de la FC, comme décrit précédemment. Ainsi, il existe d'abord une chute abrupte de la PAS avec une tachycardie réflexe dans la première phase de l'orthostatisme suivie d'une remontée rapide de la PAS avec retour de la FC à sa valeur initiale (voir figure 1 de l'Annexe A2 et figure 1 de l'Annexe A3). Ces variations en miroir de PAS et FC reproduisent, *mutatis mutandis*, les variations en miroir obtenues lors d'un test pharmacologique combinant un vasodilatateur puis un vasoconstricteur, comme expliqué dans un article récent (voir figure 2 de l'Annexe A2). En fait, le test physiologique de squatting entraîne même des variations de PAS et de FC de plus grande amplitude que le test pharmacologique, tout en étant beaucoup plus facile à réaliser en pratique et surtout moins dangereux pour le sujet. Nous avons mis à profit ces variations pour étudier la relation entre les espaces R-R et la PAS, calculer la pente de la droite de corrélation entre ces deux paramètres et dériver ainsi le GBR exprimé en msec.mm Hg⁻¹ (voir figure 2 de l'Annexe A2). D'autres auteurs ont utilisé la même méthodologie pour calculer le GBR, mais dans un autre test dynamique, la manœuvre de Valsalva (durant la phase 4 suivant le relâchement de la pression buccale), manœuvre de réalisation plus délicate dans notre expérience⁽¹⁰⁰⁾.

2.5. Indices de stress pulsatile

2.5.1. Pression pulsée

L'enregistrement continu de la PAS et de la PAD avec le Finapres® permet de calculer aisément la pression différentielle, encore appelée pression pulsée (PP). Lors d'un test de squatting, nous avons mesuré la PP moyenne durant chacune des trois phases successives : position debout initiale (« baseline »), position accroupie et position debout finale. Pour éviter des artéfacts de mesure, nous avons éliminé les phases de transition immédiates (quelques secondes). Le phénomène d'amplification de PP lors du passage de la position debout à la position accroupie a été calculé par la différence des moyennes de PP mesurées en position accroupie et en position debout initiale⁽⁹⁴⁾.

2.5.2. Stress pulsatile

La PP est influencée par différents facteurs dont la rigidité de la paroi artérielle, dont elle est un marqueur indirect (ainsi que nous l'avons discuté dans l'introduction de ce travail), mais aussi par l'intervalle de temps entre le début de la systole et la fin de la diastole. Ce

dernier est inversement proportionnel à FC. Ainsi, plus FC est basse (bradycardie), plus l'intervalle de temps est long et donc plus PP est basse, tout étant égal par ailleurs. Inversement, plus FC est élevée, plus l'intervalle de temps est court et donc plus PP est également élevée. Or, on l'a vu dans l'introduction de ce travail, la NAC liée au diabète est susceptible d'influencer FC avec, par exemple dans les cas les plus sévères, une tachycardie fixe et une absence de tachycardie réflexe lors de l'hypotension orthostatique. Dès lors, la seule PP en tant que telle ne peut refléter *sensu stricto* les anomalies fonctionnelles et structurelles de la paroi artérielle dans des circonstances où FC est susceptible d'être modifiée. Une alternative proposée est de prendre en compte le produit de PP x FC, ce qui a été appelé par certains le « stress pulsatile »⁽⁶⁴⁾. Nous avons calculé ce produit FCxPP durant les 3 phases successives du test postural standardisé (1 min debout, 1 min accroupi, 1 min debout), en calculant la moyenne dans chaque période comme réalisé initialement pour PP. Dans la suite de cette thèse, nous avons décidé d'appeler ce produit le stress pulsatile, comme rapporté antérieurement⁽⁶⁴⁾.

2.6. Analyse statistique

Plusieurs méthodes statistiques d'analyse et d'interprétation des résultats sont utilisées dans ce travail.

Pour caractériser la distribution des variables étudiées, les paramètres classiques de position (moyenne arithmétique) et de dispersion (écart-type) sont calculés. Afin d'apprécier la variabilité des échantillonnages, c'est-à-dire la précision des moyennes obtenues, l'erreur standard de la moyenne (SEM) (rapport de l'écart-type et de la racine carrée du nombre d'observations) est déterminée. Les valeurs reprises dans les tableaux et les figures sont les moyennes et leur écart-type ou erreur standard.

La comparaison de deux moyennes est réalisée à l'aide du test T de Student pour échantillons appariés ou non appariés suivant le cas, après une analyse de variance (ANOVA). Tout au long du travail, les tests statistiques sont considérés comme significatifs à un niveau d'incertitude de 5 % ($P < 0,05$).

Le coefficient de corrélation de Spearman et la droite de régression sont utilisés comme paramètres d'association de deux variables. Cette méthode permet d'étudier la corrélation entre les résultats de deux tests et, d'approcher, bien que de façon imparfaite, la reproductibilité intra-test.

L'étude de la reproductibilité est préférentiellement réalisée de deux manières : d'une part, en calculant le coefficient de variation intra-individuelle (rapport de la racine carrée de la moyenne des carrés des écarts-types et de la moyenne des valeurs), d'autre part, en utilisant la méthode graphique de Bland et Altman ⁽¹⁰¹⁾, considérée actuellement comme la méthode de référence pour étudier la reproductibilité entre deux mesures. Il s'agit d'une technique descriptive simple permettant d'estimer la concordance entre deux mesures cliniques imparfaites ou la reproductibilité d'observations dupliquées.

3. NEUROPATHIE AUTONOME CARDIOVASCULAIRE (NAC)

Cette première grande partie de notre travail est consacrée à la NAC et à son évaluation grâce à un test de squatting avec monitoring continu de la PA et de la FC avec le Finapres®. Nous envisagerons successivement les points suivants dans des chapitres successifs :

- La reproductibilité intra-individuelle des indices de NAC
- L'influence de l'âge et de la durée du DT1
- L'influence du sexe dans la population DT1
- L'influence du contrôle glycémique
- La relation entre les indices dérivés du squatting et l'indice R-R E/I ratio de référence pour la NAC
- La relation entre les indices de NAC et la μA , comme marqueur d'une néphropathie débutante.

3.1. Reproductibilité intra-individuelle des indices de NAC

Comme nous l'avons décrit dans l'introduction de notre travail, plusieurs indices ont été proposés pour évaluer la NAC dans la littérature ^(20, 22, 26, 44, 102). Dans le test de squatting utilisé de façon originale dans notre travail, les deux indices qui ont été proposés initialement sont le SqTv, un indice de la fonction parasympathique (étudiant la bradycardie induite par le passage de la position debout à la position accroupie) et le SqTs, un indice de la fonction sympathique (étudiant la tachycardie induite par le passage de la position accroupie à la position debout) ⁽⁹⁵⁾. Ces deux indices sont donc fondés uniquement sur l'analyse des variations de FC. Nous avons proposé un indice intégrant les variations de FC et de PAS lors du passage de la position accroupie à la position debout, à savoir le gain baroréflexe (GBR) (voir chapitre consacré aux méthodes).

Avant d'appliquer ces différents indices à la population DT1, nous avons d'abord étudié leur reproductibilité intra-individuelle dans une population de sujets témoins ⁽¹⁰³⁾ (voir Annexe C1) et dans une population de patients DT1.

Un test de squatting (1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout) a été réalisé à deux reprises par 54 sujets témoins non diabétiques âgés de 15 à 75 ans (âge moyen : 45 ans ; 26 hommes, 28 femmes) et par 21 patients DT1 âgés de 15 à 60 ans (âge moyen : 38 ans ; 10 hommes, 11 femmes). Les indices SqTv et SqTs ont été calculés selon les méthodes précédemment décrites⁽⁹⁵⁾ (voir introduction). De même, le GBR a été calculé comme décrit dans l'introduction par la pente de la droite de corrélation reliant les espaces R-R et les variations de la PAS pendant la phase suivant le redressement. La reproductibilité intra-test a été estimée par le coefficient de variation intra-sujet (CVIS) exprimé en % et par la droite de corrélation selon Spearman entre les valeurs obtenues dans les deux tests. Par ailleurs, la reproductibilité du GBR, indice mis en avant dans notre travail, a également été étudiée par la méthode graphique de Bland et Altman, considérée comme la méthode de référence pour juger de la bonne concordance entre deux mesures⁽¹⁰¹⁾.

Sur l'ensemble de la population étudiée, les CVIS sont respectivement de 31 ± 27 % pour le GBR, de 6 ± 7 % pour le SqTv et de 3 ± 4 % pour le SqTs. Les coefficients r de Spearman sont respectivement de 0,60, 0,77 et 0,83 (tous $p < 0,00001$). Il n'y a pas de différence notable entre les valeurs obtenues dans les sous- groupes des patients DT1 et des sujets témoins. A titre d'exemple, le CVIS pour le GBR est légèrement plus bas chez les patients DT1 testés que chez les sujets témoins (22 ± 26 % versus 34 ± 26 %). Au vu de ces résultats, il apparaît que la reproductibilité intra-sujet du GBR est moins bonne que celles des indices SqTv et SqTs, sans doute parce ce paramètre est plus complexe sur le plan physiologique et intègre les variations de deux variables.

Pour mieux appréhender et valider la reproductibilité du GBR, nous avons appliqué la méthode Bland et Altman, analysée sur l'ensemble de la population étudiée. Tous les points (à l'exception d'un seul point aberrant) se situent entre les deux droites (moyenne ± 2 déviations standard) (voir figure 3 de l'Annexe A2)⁽⁸³⁾. Les valeurs sont donc suffisamment concordantes. Par ailleurs, les points se répartissent de façon homogène, sans dérive évidente en fonction de la moyenne des deux mesures effectuées. Ces résultats démontrent une bonne reproductibilité de la mesure du gain baroréflexe lors d'un test de squatting.

Peu d'études ont analysé la reproductibilité des indices de NAC⁽¹⁰⁴⁾. Dans un travail consacré à la neuropathie périphérique et à la NAC, Valensi et al ont rapporté un CVIS de 22,8 % pour le R-R E/I ratio mesuré dans un test de respiration forcée, soit une valeur assez proche de celle obtenue avec le GBR chez les patients DT1 analysés dans notre travail⁽¹⁰⁵⁾.

Les valeurs correspondantes pour les indices calculés lors de la manœuvre de Valsalva et dans le test de redressement de la position couchée à la position debout étaient, respectivement, de 25,1 % et de 11,4 %. A notre connaissance, la reproductibilité des indices SqTv et SqTs n'a jamais été publiée par les auteurs à l'origine de ces deux indices autonomes ⁽⁹⁵⁾. De même, l'équipe japonaise ⁽⁹⁶⁾ qui a repris le test de squatting pour étudier la NAC chez le sujet diabétique n'a pas rapporté de résultats concernant la reproductibilité de l'indice proposé, apparenté aux indices décrits par Marfella et al ⁽⁹⁵⁾. Nos résultats démontrent que ces indices SqTv et SqTs offrent une excellente reproductibilité intra-individuelle.

Nos observations démontrent que la reproductibilité du GBR mesuré lors d'un test de squatting est satisfaisante, même si elle paraît moins bonne que celle des autres indices précités. Un travail ayant étudié la reproductibilité de la sensibilité baroréflexe spontanée fait état de CVIS variant entre 15 et 20 % ⁽¹⁰⁴⁾. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'étude de la reproductibilité de la mesure du GBR par la méthode de référence pharmacologique classique faisant appel à l'administration intraveineuse d'un agent vasopresseur et d'un agent vasodilatateur ⁽¹⁰⁶⁾. De même, la reproductibilité du gain baroréflexe calculé lors d'une manoeuvre de Valsalva ⁽¹⁰⁰⁾ n'a pas été publiée, à notre connaissance. Nous ne pouvons donc pas comparer la reproductibilité de la mesure du GBR lors du squatting avec celle faisant appel à d'autres mesures classiques. Quoi qu'il en soit, la reproductibilité satisfaisante du calcul du GBR lors d'un test de squatting, notamment attestée par l'analyse selon Bland et Altman ⁽¹⁰¹⁾, autorise l'utilisation de cette méthode dans la suite de notre travail.

3.2. Effets de l'âge et de la durée du diabète

L'incidence et la sévérité de la NAC augmente avec la durée d'évolution du DT1 ^(50, 107). Cette relation a bien été démontrée pour les divers indices d'Ewing, en particulier le R-R E/I ratio. Dans la population normale, le R-R E/I ratio diminue significativement en fonction de l'âge ⁽²⁵⁾. Dans la population DT1, l'accroissement en âge des sujets testés s'accompagne parallèlement d'une augmentation de la durée du DT1. Nous avons analysé la relation entre la NAC et l'âge en étudiant le GBR et d'autres indices de NAC lors d'un test de squatting (en plus du classique R-R E/I ratio) en sélectionnant 4 groupes de patients DT1 répartis en fonction de la durée d'évolution du diabète (G1 : < 10 ans ; G2 : 11-20; G3 : 21-30 , G4 : > 30 ans) ⁽¹⁰⁸⁾. Nous les avons appariés à 4 groupes de sujets témoins d'âge comparable. Nous

avons calculé le GBR durant la phase de redressement accroupi-debout selon la méthode précédemment décrite. Nous avons également calculé les indices SqTv et SqTs, proposés comme indices de neuropathie vagale et sympathique ⁽⁹⁵⁾.

Le rapport R-R E/I ratio diminue progressivement avec la durée du DT1 ($p < 0,0001$) (voir tableau 2 de l'Annexe B3). Lorsqu'on compare les valeurs des groupes G1-G2 avec celles des groupes G3-G4, la différence est hautement significative : $1,32 \pm 0,17$ vs $1,19 \pm 0,13$; $p < 0,0001$. La proportion de patients DT1 avec un R-R E/I ratio $< 1,10$ augmente graduellement de G1 à G4 ($p = 0,006$), alors que semblable augmentation n'apparaît pas dans la population non diabétique dans la même tranche d'âge (voir figure 2 de l'Annexe B3).

GBR diminue aussi progressivement, de façon significative, de G1 à G4 chez les patients diabétiques ($p = 0,0005$), mais pas chez les sujets témoins ($p = 0,1747$) (voir tableau 2 de l'Annexe B3). La proportion de sujets avec un GBR $< 2,5$ augmente de G1 à G4 chez les patients DT1 ($p = 0,0149$), contrairement à ce qui est observé dans la population non diabétique ($p = 0,2933$) (voir figure 2 de l'Annexe B3).

Les indices basés sur les variations de FC durant la position accroupie (SqTv) et après le redressement (SqTs) sont également modifiés en fonction de l'âge chez les patients DT1. Cependant l'effet de l'âge n'est significatif que pour SqTv qui augmente progressivement de G1 à G4 ($p = 0,0001$), reflétant un amortissement de la bradycardie en position accroupie, chez les patients DT1, mais pas chez les sujets témoins ($p = 0,1507$). Par contre, la tendance n'est pas significative pour SqTs, que ce soit chez les patients DT1 ($p = 0,1218$) ou chez les individus du groupe contrôle ($p = 0,4099$) (voir tableau 2 de l'Annexe B3).

Nos résultats confirment donc une altération progressive des indices de NAC dans la population DT1 en fonction de l'âge et de la durée du diabète ^(25, 26, 30, 50, 107, 109). Cette altération est observée aussi bien pour le R-R E/I ratio que pour le GBR. Elle s'observe dans la population DT1 dans une tranche d'âge (20-60 ans) pour laquelle la diminution observée n'est pas significative dans la population non diabétique. Ces résultats plaident donc pour la survenue d'une atteinte du système nerveux autonome chez le patient DT1, qui progresse avec la durée du diabète, indépendamment de l'âge. En ce qui concerne les autres indices, l'altération est significative chez les patients DT1 pour SqTv, mais non significative pour SqTs dans l'intervalle d'âge étudié. Cette observation est en accord avec l'observation classique d'une atteinte parasympathique apparaissant plus précocement que l'atteinte sympathique en cas de NAC chez le patient diabétique ⁽¹⁰⁷⁾. Ces anomalies, témoins d'une

NAC (R-R E/I ratio, GBR, SqTv), s'expliquent par la durée de l'hyperglycémie chronique puisque les patients DT1 repris dans cette étude étaient imparfaitement équilibrés. L'objectif suivant sera donc d'étudier l'influence de la qualité de l'équilibre glycémique sur les indices de NAC dans une population DT1. Avant cette analyse, nous étudierons d'abord l'influence du sexe sur les paramètres de NAC.

3.3. Influence du sexe

Il existe des différences connues entre les femmes et les hommes en ce qui concerne les fonctions CV ^(110, 111). Ceci a été confirmé à propos de l'augmentation de la PP en fonction de l'âge ainsi que nous le détaillerons plus loin dans ce travail.

Nous avons comparé les indices de la NAC obtenus lors de la manœuvre de respiration forcée (R-R E/I ratio) et lors du test de squatting (GBR, SqTv, SqTs) chez 78 femmes et 77 hommes non diabétiques et chez 87 femmes et 80 hommes DT1, appariés pour l'âge (40 ans en moyenne) (résultats non publiés).

Chez les sujets non diabétiques, nous n'avons pas observé de différences entre les 2 sexes pour les différents indices testés SqTv, SqTs et GBR. Ainsi les valeurs de SqTv sont de 0,82 chez les femmes versus 0,81 chez les hommes ($p = 0,5035$) et celles de SqTs sont de 1,26 chez les femmes versus 1,22 chez les hommes ($p = 0,1953$). La valeur de GBR calculée après le redressement atteint 3,64 msec.mm Hg⁻¹ chez les femmes et 3,42 msec.mm Hg⁻¹ chez les hommes ($p=0,5561$).

Il en est de même chez les patients DT1. Ainsi, les valeurs de SqTv sont de 0,85 chez les femmes versus 0,84 chez les hommes ($p = 0,705$) et celles de SqTs sont de 1,14 chez les femmes versus 1,22 chez les hommes ($p = 0,0183$). Les valeurs de GBR sont comparables dans les deux sexes : 2,47 msec.mm Hg⁻¹ chez les femmes versus 3,06 msec.mm Hg⁻¹ chez les hommes ; $p=0,1090$). La seule différence observée concerne donc SqTs, mais la signification clinique de cette différence n'apparaît pas évidente.

Lorsque l'on compare les résultats des patients DT1 avec ceux de la population témoin, il apparaît que le GBR n'est que légèrement et non significativement diminué chez les hommes DT1 par rapport aux hommes non diabétiques (3,06 versus 3,42 msec.mm⁻¹ ; $p = 0,3826$; NS). Par contre, si l'on fait la même analyse dans la population féminine, le GBR est significativement abaissé chez les femmes DT1 par comparaison aux femmes témoins diabétiques (2,47 versus 3,64 msec.mm⁻¹ ; $p < 0,0005$). L'âge (et donc la durée présumée du

DT1) semble jouer un rôle important dans les deux sexes, mais de façon plus marquée chez les femmes. Ainsi, il n'y a pas de différence entre le GBR des femmes DT1 et des femmes témoins avant l'âge de 40 ans (2,98 versus 3,74 msec.mm⁻¹ ; p = 0,6825 ; NS). Par contre, la différence est très significative chez les femmes après l'âge de 40 ans avec une valeur de GBR nettement abaissée chez les femmes DT1 par rapport aux femmes non diabétiques (1,99 versus 3,54 msec.mm⁻¹ ; p = 0,0011). Les différences sont un peu moins marquées chez les hommes, respectivement, 3,56 versus 3,97 msec.mm⁻¹ (p = 0,5792 ; NS) avant 40 ans et 2,31 versus 3,32 msec.mm⁻¹ (p = 0,0162) après 40 ans.

L'analyse des résultats de la littérature concernant la sensibilité du baroréflexe dans la population normale (non diabétique) en fonction du sexe sont divergents. Ainsi, certains chercheurs ont rapporté une plus grande sensibilité baroréflexe chez les hommes que chez les femmes^(112, 113), sans cependant proposer d'explication évidente pour cette différence. D'autres, par contre, ont montré que le GBR était comparable chez les femmes et chez les hommes, en utilisant le test pharmacologique classique de la perfusion d'un vasoconstricteur (phényléphrine) et d'un vasodilatateur (nitroprusside)⁽⁹⁹⁾. En utilisant le test de squatting, nous n'avons pas observé de différence significative entre le GBR des femmes et des hommes, confirmant ainsi les observations avec le test pharmacologique classique⁽⁹⁹⁾.

A notre connaissance, il n'y a pas d'études ayant analysé l'influence du sexe sur le GBR dans la population DT1. Nos résultats montrent que la diminution du GBR chez la femme DT1 survient de façon plus marquée que chez l'homme DT1 en fonction de l'âge, pour une raison qui n'apparaît pas clairement. En effet, il ne semble pas y avoir de différence dans la qualité du contrôle glycémique (attesté par le taux d'HbA1c) entre les deux sexes. Ces données devront être confirmées dans des études ultérieures, mais nous montrerons dans la seconde partie de notre travail que cette différence de progression entre les deux sexes est retrouvée en ce qui concerne la PP et le stress pulsatile. Ces résultats pourraient, au moins en partie, expliquer pourquoi le risque relatif de complications CV est plus important chez la femme diabétique que chez l'homme diabétique, en comparaison avec une population témoin non diabétique⁽¹⁸⁾.

3.4. Influence du contrôle glycémique

Comme discuté dans l'introduction de notre travail, les complications du diabète, en général, et de la neuropathie (y compris la NAC), en particulier, surviennent plus rapidement,

plus fréquemment et plus sévèrement chez les patients diabétiques mal équilibrés que chez ceux qui maintiennent un bon contrôle métabolique. Ceci a été particulièrement démontré dans l'étude DCCT et le suivi EDIC ^(5, 114, 115)

Les données présentées jusqu'à présent dans notre travail étaient des résultats obtenus sur des cohortes transversales. Pour apprécier l'influence du contrôle glycémique, il est sans doute plus performant d'analyser une cohorte de patients lors d'un suivi longitudinal de façon à éliminer la variabilité inter-sujets et divers facteurs confondants inhérents éventuels. Nous avons montré que le GBR diminuait significativement lors d'un suivi de quelques années chez des patients DT1 mal équilibrés alors que les autres indices de NAC évalués (R-R E/I ratio, SqTv, SqTs) ne montraient pas de variations statistiquement significatives ⁽¹¹⁶⁾(voir Annexe C7). Dès lors, nous limiterons notre analyse de l'influence de la qualité du contrôle glycémique à la seule étude du GBR comme indice sensible de la progression d'une NAC.

Cette étude comporte 48 patients (28 femmes, 20 hommes) avec un DT1 (moyenne \pm SD : âge : 41 ± 12 années; durée du diabète : 19 ± 10 années avec des extrêmes allant de 3 à 38 ans) ⁽¹¹⁷⁾ (voir Annexe C3). Chaque sujet a été évalué deux fois au cours d'un test de squatting, selon les méthodes précédemment décrites, avec un intervalle de 43 ± 17 mois (extrêmes : 16-91 mois). La qualité du contrôle glycémique moyen a été évaluée par la moyenne des valeurs d'HbA_{1c} entre les deux tests. Les patients ont été séparés, dans une analyse post-hoc, en deux sous-groupes : HbA_{1c} ≤ 8 % chez 21 patients ($7,42 \pm 0,60$ %) *versus* > 8 % chez 27 patients ($9,44 \pm 1,04$ %), soit une différence moyenne de 2 % entre les deux groupes. Le GBR a été calculé lors de la transition accroupi-debout, comme décrit dans les méthodes.

Le GBR tend à être corrélé négativement avec la durée préalable du diabète déjà à l'inclusion ($r = -0,174$; $n = 48$; $p < 0,10$). Dans l'ensemble du groupe, le GBR diminue de $4,00 \pm 3,41$ à $2,53 \pm 1,46$ msec.mm Hg⁻¹ ($p = 0,008$) au cours des 43 mois de suivi. La réduction du GBR est significative chez les patients avec un mauvais contrôle métabolique (de $3,89$ à $2,13$ msec.mm Hg⁻¹, $p = 0,02$), mais pas chez les patients avec un contrôle acceptable (de $4,16$ à $3,05$ msec.mm Hg⁻¹, NS). Alors qu'il n'y avait de différences de GBR entre les deux groupes lors de l'évaluation initiale, le GBR devient significativement plus bas chez les patients ayant été mal équilibrés par rapport aux patients relativement bien équilibrés à la fin du suivi ($p < 0,05$). Une corrélation négative significative a été observée entre les

variations du GBR du test 1 au test 2 et la moyenne des taux d'HbA_{1c} entre les deux tests ($r = - 0,304$; $n = 48$; $p < 0,01$), et entre le niveau de GBR lors de la seconde évaluation et cette même valeur d'HbA_{1c} ($r = - 0.409$; $n = 48$; $p < 0,001$).

Chez des patients avec déjà une longue durée de DT1 (environ 20 ans), une période de quelques années avec un mauvais contrôle métabolique est suffisante pour entraîner une détérioration significative du GBR, pris comme indice de NAC. D'autres études ont montré une détérioration des indices classiques de NAC lors d'un suivi longitudinal chez des patients DT1 d'autant plus qu'ils sont mal équilibrés. Ainsi, lors d'un suivi de longue durée (18 ans), les indices de NAC évalués par la variabilité de la FC lors de tests de provocation classiques (respiration forcée, Valsalva, table basculante) se sont dégradés chez les patients DT1 avec un taux moyen d'HbA_{1c} supérieurs ou égaux à 8,4 % alors qu'ils n'ont pas été modifiés de façon significative chez les patients avec un taux moyen d'HbA_{1c} inférieur à 8,4% ⁽¹¹⁸⁾. Dans une autre étude longitudinale publiée récemment, une diminution, légère mais significative du R-R E/I ratio (de 1,38 à 1,31) a été rapportée chez 80 patients DT1 avec une valeur de R-R E/I ratio relativement haute au départ et suivis pendant 5 années avec un taux moyen d'HbA_{1c} moyen allant de 7,5 % à 8,0% ⁽¹¹⁹⁾.

Nos résultats sont aussi en accord avec les observations rapportées dans une étude suédoise dans laquelle les patients DT1 soumis à un traitement insulinique intensif améliorant l'équilibration glycémique a permis de mieux stabilisé les indices de NAC lors d'un suivi de 11 années par rapport à la détérioration observée chez les patients traités de façon standard et moins bien équilibrés ⁽¹²⁰⁾. Il en a été de même dans la célèbre étude DCCT américaine ⁽¹¹⁵⁾. En effet, dans cet essai prospectif dans une large cohorte de patients DT1, l'intensification du traitement insulinique et de l'autocontrôle glycémique aboutissant à faire baisser le taux d'HbA_{1c} de 9 à 7 % (différence de l'ordre de 2 % entre les deux groupes, comme dans notre travail) pendant environ 5 années a permis de ralentir la progression et l'apparition des tests de NAC anormaux. Ces données ont pu être vérifiées à distance lors du suivi EDIC, 13-14 années après la fin du DCCT ⁽¹¹⁴⁾. Cette analyse à plus long terme a, en effet, montré qu'un traitement insulinique intensif préalable réduit significativement le risque d'apparition d'une NAC (définie selon un critère composite) de 31 % et l'apparition d'un R-R E/I ratio anormal de 30% à distance de la période de bon contrôle glycémique, en accord avec la théorie d'une « mémoire métabolique ». Enfin, dans l'étude STENO-2 chez le patient DT2, il a été rapporté également qu'une prise en charge intensive multirisques (en ce compris une intensification du traitement hypoglycémiant avec passage plus rapide à l'insuline et

amélioration partielle du taux d'HbA1c) réduit significativement le risque de NAC d'environ 60 % après un suivi de quelque 8 années. Curieusement semblable effet favorable n'a pas été observé de façon significative pour les marqueurs de la neuropathie périphérique dans ce travail ⁽¹²¹⁾. L'ensemble de ces observations plaident pour la recherche d'un bon contrôle métabolique chez les patients DT1 avec comme objectif un taux d'HbA1c au moins inférieur à 8% et, dans toute la mesure du possible, se rapprochant de 7 %, voire en dessous.

3.5. Relation entre les indices dérivés du squatting et le R-R E/I ratio

Ainsi que nous l'avons présenté dans l'introduction de ce travail, le test le plus utilisé en clinique pour dépister la NAC est la respiration forcée à 6 cycles par minute avec une évaluation de l'arythmie respiratoire par le calcul du R-R E/I ratio ^(22, 26, 107). Nous avons étudié les indices de la NAC estimés durant un test de squatting (GBR, SqTv, SqTs) dans deux groupes de patients DT1 séparés en fonction de leur valeur de RR E/I ratio ⁽¹²²⁾ (voir Annexe B6).

De notre base de données comportant plus de 150 patients DT1 ayant subi avec succès l'ensemble des explorations, nous avons sélectionné les 20 patients avec le R-R E/I ratio le plus bas ($1,05 \pm 0,02$) et les avons comparés aux 20 patients avec le R-R E/I ratio le plus élevé ($1,27 \pm 0,10$), en veillant à apparier les deux groupes pour l'âge (46 vs 46 années), le sexe ratio (1/1), l'IMC (24,4 versus 23,9 kg/m²) et la durée du diabète (26 versus 22 années, NS). Les taux d'HbA1c n'étaient pas significativement différents entre les deux groupes ($8,9 \pm 1,1$ versus $8,5 \pm 1,4$ %, NS) (voir tableau 2 de l'Annexe B6).

Au cours du test de squatting, la FC tend à être plus élevée dans le groupe avec R-R E/I ratio abaissé, mais la différence n'atteint pas la signification statistique. La tachycardie réflexe observée lors du redressement de la position accroupie à la position debout est significativement réduite chez les patients avec la valeur de R-R E/I ratio la plus basse, que ce soit l'augmentation par rapport à la valeur basale initiale ou l'accroissement par rapport au nadir de fin de squatting. Par ailleurs, la chute maximale de PAM durant la transition de la position accroupie à la position debout n'est pas significativement différente entre les deux groupes. Par contre, le délai pour récupérer la valeur de PAM initiale est significativement accru chez les patients DT1 avec un R-R E/I ratio abaissé par comparaison aux patients avec le même indice restant élevé (voir tableau 2 de l'Annexe B6).

Les indices uniquement basés sur les variations de FC proposés pour évaluer la NAC durant le test de squatting ne s'avèrent pas discriminants lorsqu'on compare les deux groupes séparés par l'indice R-R E/I ratio. Ainsi les indices SqTv sont comparables dans les deux sous-groupes et l'indice SqTs tend seulement à être abaissé (NS) chez les patients avec un rapport R-R E/I bas par comparaison aux patients avec un tel rapport élevé. Par contre, une bien meilleure séparation a été observée avec le GBR calculé, comme décrit précédemment, en comparant les variations des espaces R-R) et de PAS dans la phase de transition de la position accroupie à la position debout (voir méthodes). Ainsi, le GBR est pratiquement réduit de moitié chez les patients DT1 avec le R-R E/I ratio abaissé par comparaison à ceux avec un R-R E/I ratio élevé (voir tableau 2 de l'Annexe B6).

Nos résultats démontrent qu'il existe une corrélation entre l'indice classique de NAC (R-R E/I ratio) et les indices de NAC mesurés lors d'un test de squatting. Cependant, le GBR s'avère beaucoup plus performant à cet égard que les indices SqTv et SqTs proposés en 1994 et basés exclusivement sur les variations de la FC ⁽⁹⁵⁾. Tenir compte simultanément des variations de FC et de PAS apportent donc des informations supplémentaires en ce qui concerne l'évaluation de la NAC. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par d'autres auteurs ayant montré un plus grand pouvoir de discrimination du GBR par rapport aux indices classiques de NAC dont le R-R E/I ratio : en calculant le GBR durant la phase 4 de la manœuvre de Valsalva ⁽¹⁰⁰⁾ ou, encore, en calculant la sensibilité baroréflexe en se basant sur les variabilités spontanées de PA et FC dans la bande de fréquence de 0,07-0,15 ⁽¹²³⁾.

3.6. Relation entre le gain baroréflexe et la microalbuminurie

La μA est un marqueur précoce de la néphropathie diabétique et un marqueur de progression vers une macroprotéinurie et une insuffisance rénale terminale, comme rappelé dans l'introduction ⁽¹²⁴⁾. La NAC est une autre complication diabétique classique qui a été plus spécifiquement étudiée dans ce travail. Dans une population DT1, il a été montré récemment que le risque relatif de NAC augmente avec l'élévation de PAS, le taux d'HbA1c et la présence d'une μA ⁽¹²⁵⁾. Outre que les deux complications dépendent d'un phénomène commun (hyperglycémie chronique), certains auteurs ont également émis l'hypothèse que la présence d'une NAC pouvait contribuer à aggraver l'hémodynamique intra-rénale et, par ce mécanisme, favoriser l'apparition d'une μA ⁽¹²³⁾.

Le but de cette partie de notre travail est d'étudier les relations entre la NAC, appréciée soit par le test simple de diminution du R-R E/I ratio, soit par la réduction du GBR calculé dans un test de squatting, et la μA . Pour ce faire, nous étudierons d'abord ces relations chez les 40 patients DT1 analysés dans le chapitre précédent, séparés en fonction du R-R E/I ratio ou du GBR⁽¹²²⁾ (voir Annexe B6), puis dans une population plus large de 167 patients DT1⁽¹²⁶⁾ (voir Annexes C5 et C6).

a) Première analyse

Lorsque les 40 patients DT1 du chapitre précédent sont séparés en fonction de la médiane du R-R E/I ratio ($< 1,25$ versus $> 1,25$), nous n'observons pas de différences significatives en ce qui concerne le taux de μA (90 ± 155 versus 42 ± 128 ; $p = 0,304$). Par contre, lorsque la même population DT1 est séparée en fonction de la médiane du GBR ($< 1,60$ versus $> 1,60$ msec.mm Hg⁻¹), on note des différences remarquables entre les deux sous-groupes. Ainsi, les patients DT1 avec un GBR abaissé ont un taux moyen de μA très augmenté (119 ± 88 versus 8 ± 8 mg/l; $p = 0,0137$). Cette différence persiste lorsque la μA est exprimée par la médiane et les interquartiles pour tenir compte d'une distribution non gaussienne : $20 [6-82]$ versus $3,5 [3,5-10,5]$ mg/l (voir tableau 2 de l'Annexe B6).

b) Seconde analyse

Au total, 167 patients DT1 âgés de 20 à 60 ans (81 hommes/86 femmes) ont eu une mesure de μA et du RR E/I ratio lors d'une respiration forcée à 6 cycles/min et subi un test postural de type squatting, avec mesure continue de la PAS et de la FC pour calculer le GBR lors du redressement selon la méthode précédemment décrite. Les patients ont été séparés en 2 sous-groupes en fonction de la médiane du RR E/I ratio ($>1,25$ vs $< 1,25$) ou du GBR ($> 2,20$ vs $< 2,20$ msec.mm Hg⁻¹).

Comparés aux patients DT1 avec GBR élevé ($n = 82$; $4,51 \pm 2,31$ msec.mm Hg⁻¹), les patients DT1 avec GBR bas ($n = 85$; $1,17 \pm 0,61$ msec.mm Hg⁻¹; $p < 0,00001$) ont un âge (42 vs 38 ans, NS) et une durée du diabète à peine accrue (21 vs 18 années; NS), seulement une tendance à un RR E/I ratio plus bas ($1,25$ vs $1,31$; NS) et un taux d'HbA1c comparable ($8,64$ vs $8,64$ %). Par contre, la μA est nettement plus élevée chez les patients DT1 avec GBR abaissé, qu'elle soit exprimée par la moyenne (59 ± 133 vs 10 ± 16 mg/l; $p = 0,0019$) ou par son logarithme ($1,14 \pm 0,67$ vs $0,76 \pm 0,42$; $p = 0,0001$) pour corriger pour une distribution non gaussienne de la μA . Il existe une corrélation inverse entre le GBR et la μA ($r = -0,28$;

p=0,0006). Globalement, 26,9 % des DT1 avec GBR abaissé ont une μ A pathologique (≥ 30 mg/l) versus seulement 5,3 % chez les DT1 avec un GBR conservé ($p < 0,001$). Pareilles discrimination, corrélation et prédiction ne sont pas retrouvées de façon significative avec le simple RR E/I ratio (voir figure de l'Annexe C6).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans une autre étude évaluant la sensibilité baroréflexe chez des patients DT1 microalbuminuriques et normoalbuminuriques sans NAC objectivée par les tests classiques d'Ewing dont la mesure du R-R E/I ratio ⁽¹²³⁾. Ce travail a, en effet, montré que la sensibilité baroréflexe est significativement réduite chez les patients DT1 avec une μ A positive, alors que leur valeur de R-R E/I ratio n'est pas significativement abaissée. Dans l'étude de Lefrandt et al ⁽¹²³⁾, la sensibilité baroréflexe était définie par le gain moyen évalué en corrélant les variations spontanées de PA et de FC dans la bande de fréquence 0,07-0,15 Hz. Il a été rapporté, cependant, que les variations spontanées à court terme des espaces R-R n'étaient pas automatiquement liées à celles de la PA via l'arc baroréflexe ⁽¹²⁷⁾. Dans ces conditions, il paraît préférable d'analyser des variations de plus grande amplitude provoquées dans des tests dynamiques, pharmacologiques ou physiologiques, que les simples variations spontanées ^(98, 128) (voir Annexe A2). C'est le cas avec le test de squatting, ainsi que nous l'avons rapporté précédemment dans ce travail. Nos résultats démontrent que le GBR calculé dans un test de squatting est plus discriminant que le simple R-R E/I ratio pour détecter les patients DT1 à risque de complications cardio-rénales, en particulier ceux avec une μ A pathologique. Ces différentes observations suggèrent donc que la sensibilité du baroréflexe est affectée (ou peut être détectée) plus précocement que les autres marqueurs classiques de la NAC et est un meilleur facteur prédictif des autres atteintes vasculaires.

Il n'en demeure pas moins vrai que le R-R E/I ratio s'est révélé être un marqueur de la NAC, bien corrélé avec la survenue d'une μ A dans une étude prospective de 14 années chez des patients DT1 ⁽¹²⁹⁾. Par ailleurs, des données récentes ont montré un rôle de la NAC dans la survenue d'une HTA chez le patient DT1, un autre facteur bien connu aggravant la néphropathie diabétique ⁽¹³⁰⁾. Il a été suggéré qu'une altération du flux sanguin périphérique sous contrôle autonome puisse contribuer à la formation de lésions microvasculaires ⁽¹³⁾, comme on peut les rencontrer dans la néphropathie diabétique ⁽¹²³⁾ ou encore dans la rétinopathie diabétique ⁽¹³¹⁾. Les éventuelles relations entre la NAC, le stress pulsatile et les complications diabétiques, dont la néphropathie, seront étudiées davantage dans la seconde grande partie de notre travail.

4. PRESSION PULSEE ET STRESS PULSATILE

Cette seconde grande partie de notre travail est consacrée à PP et au stress pulsatile (PPxFC) et à leur évaluation grâce à un test de squatting avec monitoring continu de la PA et de la FC avec le Finapres® dans une grande série de patients DT1 avec des âges et des durées de diabète différents (voir Annexe B1).

Nous envisagerons successivement les points suivants :

- La reproductibilité de PP et du stress pulsatile
- L'amplification de PP et du stress pulsatile par la position de squatting
- L'influence de l'âge et de la durée du DT1
- L'influence du sexe dans la population DT1
- L'influence du contrôle glycémique sur PP et le stress pulsatile
- La relation entre le stress pulsatile et la μA
- Le stress pulsatile chez le patient DT1 de la cinquantaine comparé à celui d'un patient DT2 du même âge.

4.1. Reproductibilité intra-individuelle des indices pulsatiles

Les mesures simultanées de PAS et de PAD permettent le calcul de PP, un marqueur indirect de la rigidité artérielle et un facteur de risque indépendant de morbi-mortalité CV dans la population générale et dans la population diabétique, y compris dans le DT1 ⁽⁵⁶⁾. Comme PP dépend également de FC (paramètre susceptible d'être modifié à la fois par la posture et par la NAC, ainsi que nous l'avons vu dans la première partie de notre travail), nous avons proposé d'utiliser un indice intégrant ce paramètre en calculant le dit « stress pulsatile » (PP x FC). Il a été rapporté que ce stress pulsatile est associé à certaines complications cardio-rénales ⁽⁶⁴⁾.

Avant d'appliquer ces différents indices à la population DT1, nous avons étudié leur reproductibilité intra-individuelle dans une population de sujets témoins et dans une population de patients DT1.

Un test de squatting (1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout) a été réalisé à deux reprises par 54 sujets témoins âgés de 15 à 75 ans et par et par 21 patients DT1 âgés de 18 à 60 ans. Les caractéristiques démographiques de ces sujets ont déjà été mentionnées dans le chapitre étudiant la reproductibilité des indices de NAC (voir chapitre 3.1)

La PP a été calculée sur l'ensemble des 3 minutes du test postural ainsi qu'en position debout initiale, en position accroupie et en position debout finale. L'incrément de PP entre la valeur moyenne obtenue en position debout initiale et en position accroupie a également été calculé. Enfin, nous avons calculé le stress pulsatile (PP x FC) sur l'ensemble du test.

Comme dans le chapitre relatif à l'étude de la reproductibilité des indices de la NAC, la reproductibilité des paramètres a été étudiée par le coefficient de variation intra-sujet (CVIS) entre les deux mesures, par le coefficient de corrélation entre ces valeurs et par la méthode graphique de Bland et Altman⁽¹⁰¹⁾, considérée, comme signalé précédemment, comme la méthode de référence pour juger de la bonne concordance entre deux mesures.

Sur l'ensemble de la population étudiée, les CVIS sont respectivement de $6 \pm 7 \%$ pour la PP calculée sur l'ensemble du test et également de $6 \pm 7 \%$ pour l'indice du stress pulsatile. Les coefficients de corrélation sont très élevés, respectivement de 0,8667 et 0,8714 (tous deux $p < 0,00001$). Ce coefficient est plus faible pour la modification de PP lors du passage de la position debout à la position accroupie ($r = 0,4574$; $p < 0,0001$.) Il n'y a pas de différence notable entre les valeurs de CVIS obtenues dans les sous- groupes des patients DT1 et des sujets témoins. La méthode de Bland et Altman⁽¹⁰¹⁾ confirme l'excellente reproductibilité des indices étudiés (résultats non montrés).

Un travail récent a étudié la reproductibilité de la mesure de PP et de la vitesse d'onde de pouls (PVW) comme marqueurs de la rigidité artérielle, en comparant plusieurs mesures réalisées lors d'une même session et lors de sessions différentes programmées à 2 jours d'intervalle⁽¹³²⁾. Le CVIS de la mesure de PP est de 7,0 % au cours d'une même session et atteint 15,1 % lors de sessions différentes. Les valeurs correspondantes pour la PVW étaient de 10,6 % et 13,5 %, respectivement. Nos résultats démontrent que la reproductibilité des mesures de PP durant les trois périodes du test de squatting est excellente, encore meilleure en raison de l'intégration d'un grand nombre de mesures facilitée par l'enregistrement continu avec le Finapres®. Il a, par ailleurs, été confirmé récemment que ce type d'enregistrement au bout du doigt donne une mesure fiable de la PP, comparable à celle obtenue par une mesure directe intra-artérielle⁽⁸⁹⁾. Une augmentation de la PP lors du passage de la position debout à

la position accroupie est quasi systématiquement observée et la reproductibilité intra-individuelle de ce phénomène d'amplification ⁽⁹⁴⁾ est également tout à fait satisfaisante en cas de répétition du test. Il en est de même de l'indice de stress pulsatile sur l'ensemble du test. Ces résultats favorables en ce qui concerne la reproductibilité de ces mesures autorisent l'utilisation de ces indices dans la suite de notre travail.

4.2. Squatting, une position amplifiant le stress pulsatile

La position accroupie (« squatting ») entraîne des modifications hémodynamiques complexes chez le sujet normal ⁽⁸³⁾ (voir Annexe A2) et chez le sujet atteint de dysfonction autonome (voir Annexe A3) ⁽⁸⁴⁾. Plus particulièrement, le passage de la position debout à la position accroupie s'accompagne d'une augmentation de la PA, légère chez le sujet normal, avec, en image en miroir, une bradycardie réflexe (voir figure 1 de l'Annexe A2).

Nous avons analysé les modifications hémodynamiques induites par le squatting, et plus particulièrement celles concernant PP, chez 118 sujets non diabétiques et chez 159 patients DT1 âgés de 20 à 60 ans. Les patients diabétiques ont été répartis en 4 groupes en fonction de la durée d'évolution du diabète (< 10, 11-20, 21-30 et > 30 années de DT1) et les sujets témoins ont été appariés pour l'âge ⁽⁹⁴⁾.

La PAM reste stable dans les 4 sous-groupes de patients DT1 répartis selon la durée du diabète. En fait, l'augmentation progressive de la PAS est compensée par la diminution correspondante de la PAD. Ceci entraîne une augmentation de PP en fonction de la durée du DT1 (ANOVA $p < 0,0001$). Ainsi, il existe une différence marquée de PP entre les patients avec la durée de diabète < 20 ans et les patients avec la durée de DT1 > 20 ans (49 ± 14 versus 59 ± 14 mm Hg; $p < 0,00002$). Il est à remarquer que cette différence n'apparaît pas du tout chez les sujets non diabétiques dans les deux mêmes tranches d'âge (moyenne de 35 ans pour les deux premiers sous-groupes vs 46 ans pour les deux derniers sous-groupes : 51 ± 12 versus 50 ± 15 mm Hg; NS).

L'augmentation de PP du groupe 1 au groupe 4 est déjà observée en position debout initiale (de 44 à 55 mm Hg). Elle s'avère cependant encore beaucoup plus nette en position accroupie (de 50 à 69 mm Hg) (voir tableau 1 de l'Annexe B2).

Aussi, nous avons conclu que la position accroupie (squatting), non seulement augmente la PP par rapport à la position debout, mais aussi amplifie l'augmentation de PP observée avec la durée du diabète (et avec l'âge) dans la population DT1 ⁽⁹⁴⁾.

En position accroupie, le volume d'éjection augmente, notamment en raison d'une augmentation du retour veineux ⁽⁸³⁾. Chez des patients avec une augmentation de la rigidité artérielle (comme les patients DT1 avec une longue durée d'évolution et un mauvais contrôle glycémique), la vitesse d'onde de pouls est augmentée considérablement et les ondes réfléchies vont amplifier la PAS et réduire la PAD ⁽⁶⁹⁾. Ce double changement va contribuer à augmenter PP, d'où l'amplification observée dans notre travail en position accroupie ⁽⁹⁴⁾.

4.3. Stress pulsatile en fonction de l'âge et de la durée du diabète

La rigidité artérielle et PP augmentent en fonction de l'âge et de la durée du DT1 ⁽¹³³⁾. Nous avons étudié ce phénomène dans notre modèle original du test de squatting en sélectionnant 4 groupes de 40 patients DT1 (20 hommes et 20 femmes) d'âge croissant (20-30, 31-40, 41-50 et 51-60 ans). Nous les avons appariés à 4 groupes de 40 sujets témoins d'âge comparable ⁽¹³⁴⁾ (voir Annexe B4). Comme PP dépend non seulement de la rigidité de la paroi artérielle, mais qu'elle est influencée également par la FC (plus l'intervalle R-R est long, plus PP est élevée), nous avons analysé, d'une part, PP en tant qu'indice classique, d'autre part, le produit PP x FC, correspondant à ce qui a été appelé le « stress pulsatile » ⁽⁶⁴⁾.

La position accroupie entraîne une diminution de FC et une augmentation de PP dans tous les groupes (voir figure 1 et figure 2 de l'Annexe B4). Avec l'augmentation en âge, la réduction de FC induite par la position accroupie diminue progressivement à la fois chez les personnes DT1 ($P = 0,00008$) et chez les individus non diabétiques ($P = 0,0004$) (voir figure 2 et tableau 2 de l'Annexe B4) ⁽¹³⁴⁾. Bien que FC en position debout soit plus élevée chez les patients DT1 que chez les témoins, la diminution de FC observée en position accroupie est d'amplitude comparable dans les deux populations des groupes 1 à 4 sélectionnés en fonction de l'âge. Avec l'accroissement en âge, l'élévation de PP en position accroupie devient de plus en plus marquée. Cette évolution n'est cependant pas significative chez les sujets témoins, alors que la relation est hautement significative en présence d'un DT1 dans l'intervalle d'âge entre 20 et 60 ans ($P = 0,0004$) (voir figure 2 et tableau 2 de l'Annexe B4).

L'augmentation du stress pulsatile (PP x FC) en position accroupie s'amplifie avec l'âge, aussi bien chez les sujets non diabétiques ($P < 0,0001$) que chez les personnes diabétiques ($P < 0,00001$). Cependant, l'effet est plus prononcé en présence d'un DT1 avec une augmentation devenant significativement plus importante dans le groupe le plus âgé (51-60 ans : 719 vs. 500 mm Hg.min⁻¹ chez les sujets DT1 versus témoins, respectivement; $P = 0,0311$). Après ajustement pour la FC et pour l'âge, une différence significative est observée entre les deux populations ($P = 0,012$), avec une augmentation plus marquée de PP en position accroupie chez les patients DT1 que chez les sujets témoins.

Nos observations démontrent donc une augmentation plus précoce de PP et du stress pulsatile dans la population DT1 par comparaison à la population témoin. Ces résultats sont en accord avec une rigidité artérielle plus précoce en présence d'un diabète imparfaitement équilibré^(54, 56). Des observations comparables ont été rapportées dans la grande étude épidémiologique européenne EURODIAB sur une cohorte de plusieurs milliers de patients DT1^(58, 59). Ces observations seront discutées de façon plus détaillée dans la discussion générale de notre travail.

4.4. Stress pulsatile en fonction du sexe

La femme est classiquement protégée des maladies CV par rapport à l'homme. Cependant, il est reconnu que la présence d'un diabète annule cette différence sexuelle. Ainsi, la femme diabétique est exposée à un risque CV beaucoup plus élevé que la femme non diabétique et se rapproche du risque observé chez l'homme diabétique. Les raisons ne sont pas parfaitement connues⁽¹⁸⁾. Une hypothèse pourrait résider dans les altérations vasculaires associées à un diabète imparfaitement équilibré, en particulier une augmentation plus précoce de la rigidité artérielle.

Nous avons étudié l'augmentation de la PP en fonction de l'âge chez des patients DT1 des deux sexes (voir Annexe C4)⁽¹³⁵⁾. Nous avons d'abord montré que l'accroissement de PP en position accroupie, qui se majore en fonction de l'âge dans les deux sexes, est plus prononcé chez les femmes DT1 que chez les hommes DT1⁽⁹⁴⁾. Nous avons ensuite analysé, de façon plus détaillée, l'évolution des paramètres du stress pulsatile dans 4 groupes de patients DT1 répartis en fonction de l'âge (20-30, 31-40, 41-50, 51-60 ans), comportant chacun 20 hommes et 20 femmes. Les autres caractéristiques individuelles sont comparables

entre les deux sexes (durée du diabète, HbA1c moyenne, IMC, ...). Les patients diabétiques ont été appariés à un nombre équivalent de sujets témoins non diabétiques répartis de façon comparable en termes de sexe ratio et de catégories d'âge ⁽¹³⁴⁾.

La corrélation entre PP et âge est modeste et assez comparable chez les hommes diabétiques ($r = 0,2188$; $P = 0,0512$) et chez les hommes non diabétiques ($r = 0,1833$; $P = 0,1036$). Par contre, dans la population féminine, la corrélation entre PP et âge est particulièrement marquée et hautement significative chez les femmes diabétiques ($r = 0,4151$; $P = 0,0001$), alors qu'elle n'est pas du tout significative en l'absence de diabète ($r = 0,0763$; $P = 0,5009$). Dans cette étude, nous avons aussi confirmé que l'amplification de PP en position de squatting en fonction de l'âge (entre 20 et 60 ans) n'est pas significative chez les sujets témoins, que ce soit les hommes ($r = 0,1742$; $P = 0,1222$) ou les femmes ($r = 0,1170$; $P = 0,3014$). Par contre, cette relation est significative chez les patients DT1, mais, à nouveau, de façon nettement plus prononcée chez les femmes ($r = 0,3724$; $P = 0,0007$) que chez les hommes ($r = 0,2518$; $P = 0,0242$) ^(94, 135).

Nos résultats sont donc en accord avec une progression plus marquée de la rigidité artérielle chez la femme diabétique ⁽¹³⁶⁾. Nous avons également montré dans la première partie de notre travail que le GBR augmente plus fortement en fonction de l'âge (et de la durée du diabète) chez la femme DT1 que chez l'homme DT1. Ces observations pourraient, au moins en partie, contribuer à l'augmentation du risque CV maintes fois rapporté dans la population féminine diabétique ⁽¹⁸⁾.

4.5. Pression pulsée en fonction du contrôle glycémique

Les complications liées au diabète dépendent de trois grands facteurs : la durée du diabète, la qualité du contrôle glycémique et la présence de facteurs de risque associés (génétiques ou environnementaux). L'hyperglycémie chronique joue un rôle majeur sur la structure et la fonction de la paroi artérielle, en particulier via la formation de produits appelés AGE (« Advanced Glycation End products ») ⁽⁵⁹⁾.

Nous avons testé l'influence d'un mauvais contrôle glycémique sur l'évolution de PP en séparant, dans une analyse *post hoc*, les patients DT1 étudiés en fonction de la valeur de l'HbA1c ($\leq 8\%$ versus $> 8\%$) ⁽¹³⁷⁾ (voir Annexe C2). La PA a été enregistrée en continu avec le Finapres® lors d'un test de squatting, à 2 reprises à 43 ± 17 mois d'intervalle, chez 48

patients avec un diabète de type 1 connu depuis 19 ± 10 années. La qualité du contrôle glycémique est appréciée par la moyenne des valeurs d'HbA1c durant la période séparant les 2 tests.

PP est fortement corrélée avec la durée du diabète ($r = 0,44$; $p < 0,001$), confirmant les données obtenues antérieurement. Elle augmente significativement lors du suivi longitudinal chez les 27 patients avec une HbA1c $> 8\%$ ($9,4 \pm 1,0\%$), soit de 47 ± 17 à 58 ± 16 mm Hg ($p < 0,001$), mais pas de façon significative chez les 21 patients avec une HbA1c $\leq 8,0\%$ ($7,4 \pm 0,6\%$), soit de 50 ± 15 à 57 ± 15 mm Hg (NS).

La PP augmente (tout comme le GBR diminue) avec la durée du DT1. Ces deux marqueurs de risque sont aggravés par un mauvais contrôle métabolique de quelques années, ce qui plaide pour le renforcement des objectifs glycémiques. Divers travaux ont montré une relation entre la rigidité artérielle et les anomalies des concentrations plasmatiques de glucose et d'insuline chez le patient diabétique, qu'il soit DT1 ou DT2⁽⁵⁴⁾. Des données dérivées de l'étude EURODIAB ont montré que la formation de produits AGE (« Advanced Glycation End products »), en relation avec le mauvais équilibre glycémique, contribue à la progression de la rigidité artérielle chez le patient DT1⁽⁵⁹⁾. Une étude récente a montré, chez des jeunes patients DT1, qu'un contrôle glycémique suboptimal, après un peu plus de 10 années d'évolution, peut détériorer les caractéristiques fonctionnelles artérielles, comme la rigidité artérielle, la réflexion des ondes de pouls et la vasodilatation périphérique endothélium-dépendante, anomalies susceptibles d'augmenter PP et le stress pulsatile⁽¹³⁸⁾. Toutes ces données sont en accord avec nos résultats expérimentaux et plaident pour une équilibration glycémique aussi rigoureuse que possible chez le patient DT1.

4.6. Relations entre stress pulsatile, gain baroréflexe et microalbuminurie

La NAC, le stress pulsatile et la μA sont trois anomalies considérées comme des marqueurs/facteurs de risque d'atteinte cardio-rénale. Chez le patient DT1, la présence d'une insuffisance rénale augmente considérablement le risque CV. Chez le patient DT2, la μA témoigne également d'une dysfonction endothéliale et est aggravée par la présence concomitante d'une HTA⁽⁶⁶⁾.

Le but de cette partie de notre travail est d'étudier les relations entre la NAC, appréciée soit par le test simple de diminution du R-R E/I ratio dans la manœuvre de respiration forcée, soit par la réduction du GBR calculé dans un test de squatting, le stress pulsatile et la μA . Pour ce faire, nous étudierons d'abord ces relations chez 40 patients DT1 séparés en fonction du E/I ratio ou du GBR (voir Annexe B6)⁽¹²²⁾, puis dans une population plus large de 167 patients DT1 (voir Annexe C6)⁽¹²⁶⁾.

a) Première analyse

Lorsque les 40 patients DT1 sont séparés en fonction de la médiane du R-R E/I ratio ($< 1,25$ versus $> 1,25$), nous n'observons pas de différences significatives en ce qui concerne le taux de μA (90 ± 155 versus 42 ± 128 mg/l; $p = 0,304$), ni le stress pulsatile (4947 ± 1150 versus 5075 ± 1070 mm Hg.min⁻¹; $p = 0,724$). Par contre, lorsque la population DT1 est séparée en fonction de la médiane du GBR ($< 1,60$ versus $> 1,60$ msec.mm Hg⁻¹), les patients DT1 avec un GBR abaissé ont un taux moyen de μA très augmenté (moyenne \pm écart-type : 119 ± 88 versus 8 ± 8 mg/l; $p = 0,0137$; médiane et interquartiles : 20 [6-82] versus 3,5 [3,5-10,5] mg/l. De même, il est intéressant de noter que l'indice de stress pulsatile est significativement accru chez les patients DT1 avec un GBR abaissé (5344 ± 1249 versus 4643 ± 863 mm Hg.min⁻¹; $p = 0,0445$) (voir tableau 2 de l'Annexe B6)⁽¹²²⁾.

b) Seconde analyse

Les 167 patients DT1 âgés de 20 à 60 ans précédemment décrits ont été séparés en 2 sous-groupes en fonction de la médiane du RR E/I ratio ($>1,25$ vs $< 1,25$) ou du GBR ($> 2,20$ vs $< 2,20$ msec.mm Hg⁻¹). Comparés aux DT1 avec GBR élevé ($n = 82$; $4,51 \pm 2,31$ msec.mm Hg⁻¹), les DT1 avec GBR bas ($n = 85$; $1,17 \pm 0,61$ msec.mm Hg⁻¹; $p < 0,00001$) ont un âge (42 vs 38 ans, NS) et une durée du diabète à peine accrue (21 vs 18 années; NS), et un taux d'HbA1c comparable (8,64 vs 8,64 %). Par contre, ils ont un index de stress pulsatile augmenté (5190 vs 4521 mm Hg.min⁻¹; $p = 0,0019$), surtout en position accroupie (5408 vs 4396 mm Hg.min⁻¹; $p < 0,0001$) suite à une élévation plus marquée de PP ($p = 0,0054$) et une réduction moindre de FC ($p = 0,0023$) lors de l'accroupissement.

Nous avons déjà décrit précédemment l'excellente valeur prédictive d'un GBR abaissé quant au risque de présenter une μA pathologique dans cette cohorte de 167 patients DT1 ; par contre, le R-R E/I ratio est beaucoup moins performant à cet égard (voir chapitre 3.6.).

Ainsi, les résultats de ces deux analyses montrent que la mesure du GBR lors d'un test de squatting chez des patients DT1 permet de dépister les sujets avec augmentation du stress pulsatile (et μA pathologique), bien mieux que le simple RR E/I ratio, marqueur classique d'une NAC ⁽¹²⁶⁾.

Chez les patients DT1, la présence d'une NAC s'est révélée être associée à une rigidité augmentée de l'aorte ^(136, 139), à une dysfonction endothéliale ⁽¹⁴⁰⁾ et à une augmentation de la PAS ⁽¹⁴¹⁾ ou de la PP ⁽¹⁰⁸⁾. Nous avons rapporté une relation entre l'abaissement du GBR, marqueur de la NAC, et l'augmentation du stress pulsatile, marqueur indirect de la rigidité artérielle, aussi bien dans une étude transversale chez 167 patients DT, comme cela vient d'être résumé, qu'en suivant l'évolution de ces deux paramètres dans une étude longitudinale chez 74 patients DT1 analysés avant et après un intervalle de temps moyen de 79 mois ($r = -0,43$ entre les modifications de GBR et du stress pulsatile; $p=0,0003$) (voir Annexe C8) ⁽¹⁴²⁾. Des relations entre indices de NAC ⁽¹²³⁾ ou indices de rigidité artérielle (en ce compris PP) ⁽¹⁴³⁾, d'une part, et la μA , d'autre part, ont également été rapportées. Les relations entre ces différents paramètres, tous facteurs de risque CV, seront abordées plus en détail dans la discussion générale de notre travail.

4.7. Stress pulsatile : diabète de type 1 versus diabète de type 2

Nous avons vu que le stress pulsatile augmente avec la durée du DT1, probablement en relation avec une augmentation de la rigidité artérielle ^(56, 108). Ce phénomène devrait contribuer à accroître le risque CV des DT1 avec une durée prolongée de la maladie. Le patient DT2 est classiquement considéré comme un patient à haut risque CV et certains considèrent le DT2 comme un « équivalent coronarien » ⁽¹⁵⁾. C'est le cas dans les recommandations européennes récentes pour ce qui concerne la prescription d'un traitement par statine ⁽¹⁶⁾.

Nous avons comparé le stress pulsatile de patients DT1 ($n = 40$) avec une durée d'évolution de 23 années en moyenne avec celui mesuré chez des patients DT2 ($n = 40$) appariés pour l'âge (50 ans en moyenne) et pour le sexe (sexe ratio 1/1) (voir Annexe B5) ⁽¹⁴⁴⁾. Pour éviter toute interférence médicamenteuse, nous avons exclu les patients hypertendus ou traités par antihypertenseurs dans les deux groupes.

Nos résultats démontrent que les deux groupes de patients ont des valeurs comparables de PA moyenne, de PP, de FC, du produit PP x FC (stress pulsatile) (voir figure 1 et tableau 1 de l'Annexe B5). De même, la transition de la position debout à la position accroupie entraîne des variations comparables dans les divers paramètres, en particulier une même augmentation de la PP. Ainsi, le « comportement hémodynamique » des patients DT1 sélectionnés n'apparaît pas significativement différent de celui des patients DT. Par contre, les deux populations se distinguent nettement des sujets témoins, respectivement sans et avec excès de poids ⁽¹⁴⁴⁾.

Nous avons formulé l'hypothèse que la durée d'évolution du DT1, beaucoup plus longue (23 vs 8 années chez les DT2; $p < 0,0001$), avec une qualité de contrôle glycémique imparfaite (HbA1c moyenne de 8,4 %) augmente le risque de rigidité artérielle d'une façon analogue à celle observée chez le patient DT2 ; chez ce dernier, la durée connue du diabète est beaucoup plus courte, mais il est exposé à d'autres facteurs de risque CV bien connus, à savoir une obésité à prédominance abdominale et une prévalence beaucoup plus forte de syndrome métabolique (dans nos deux groupes, 42% chez les patients DT2 versus 3 % seulement chez les patients DT1; $p < 0,01$) ⁽¹⁴⁴⁾. Il faut cependant noter que, dans la population DT2 sélectionnée pour cette étude, les patients avec HTA avaient été exclus. Compte tenu du risque vasculaire bien connu de l'HTA, surtout en présence d'un diabète ⁽¹³⁰⁾, on peut donc raisonnablement postuler que les patients DT2 hypertendus (une fraction importante des patients DT2 tout venant) comporteraient un risque davantage accru d'augmentation de rigidité artérielle et de son corolaire, le stress pulsatile.

5. DISCUSSION GENERALE

Notre travail est consacré à la NAC⁽⁵⁰⁾ et au stress pulsatile⁽⁵⁶⁾ chez le patient DT1, deux complications liées à l'hyperglycémie chronique qui altèrent le pronostic en augmentant à la fois la morbidité et la mortalité. Pour étudier ces anomalies, nous avons fait appel à une approche originale combinant la mesure continue de la PA et de la FC cardiaque de façon non invasive avec un Finapres® et la réalisation d'un test postural, le test de « squatting » qui soumet le sujet à des variations hémodynamiques amples et rapides permettant de tester l'intégrité des processus d'adaptation homéostatique^(83,84). Les caractéristiques du Finapres® et les avantages de son utilisation ont été décrits et déjà discutés dans le chapitre « Matériel et méthodes » de ce travail ainsi que dans un article de revue⁽⁸⁵⁾. Nous ne les discuterons pas davantage dans cette discussion générale. Cette discussion générale comprendra 4 grandes parties : d'abord, une analyse du test de squatting selon notre protocole standardisé, avec ses avantages et ses limites; ensuite une synthèse concernant notre contribution personnelle dans l'analyse de la NAC, d'une part, et du stress pulsatile, d'autre part, intégrée avec quelques données essentielles de la littérature; enfin, une vue intégrée du risque, notamment CV et rénal, auquel est exposé le patient DT1 imparfaitement équilibré au long cours.

5.1. Test de squatting : avantages et limites

Le test de squatting est un test postural soumettant le sujet à un stress orthostatique majeur, plus important que celui enregistré lors du passage de la position couchée à la position debout ou encore que celui provoqué par le redressement à 70° à l'aide d'une table basculante⁽¹⁴⁵⁻¹⁴⁷⁾. Nous avons décrit en détail les modifications hémodynamiques induites par le test de squatting standardisé (1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout) chez le sujet normal⁽⁸³⁾ et chez la personne avec une dysautonomie⁽⁸⁴⁾. Ces variations ont été rappelées brièvement dans l'introduction de ce travail et ne seront pas considérées plus avant dans le cadre de cette discussion générale.

Le test de squatting (debout – accroupi – debout), couplé à une mesure continue de la PA et de la FC (à l'aide d'un Finapres®), s'est avéré utile pour explorer à la fois la NAC et le stress pulsatile. Pratiquement, son usage au sein de la population DT1 étudiée dans ce travail s'est révélé très facile, parfaitement supporté par les patients et reproductible chez le même sujet. Ce test permet un stimulus orthostatique particulièrement intense et de nombreuses

données peuvent être exploitées à la fois pour étudier la NAC (plus particulièrement le GBR) et le stress pulsatile, comme discuté ci-après. Nos travaux démontrent que cette technique originale permet d'obtenir des renseignements utiles à la fois pour étudier de façon transversale des cohortes, mais aussi à titre individuel lors d'un suivi longitudinal.

La position de squatting est connue de longue date en cardiologie puisque les enfants atteints d'une tétralogie de Fallot adoptaient cette position accroupie après un effort physique pour améliorer leur état d'oxygénation sanguine et leur bien-être, ainsi que nous l'avons rappelé dans un article de revue récent ⁽⁸⁴⁾. Cependant, ce test postural n'a été que peu exploité dans la littérature scientifique récente, mis à part par quelques équipes ^(95, 96, 146), dont la nôtre. Outre les limitations liées aux contraintes imposées par la position qui ne peut être adoptée par toutes les personnes, en particulier les sujets âgés ou débilisés, le redressement de la position accroupie à la position debout ne teste que l'hypotension orthostatique immédiate et non l'intolérance chronique à l'orthostatisme que peuvent présenter certains sujets ⁽¹⁴⁸⁾. Dans le cas d'une NAC liée à un DT1 mal équilibré évoluant de longue date, l'anomalie la plus évidente consiste en une hypotension orthostatique avec absence de tachycardie réflexe, deux anomalies qui peuvent être parfaitement dépistées lors du test postural court (« squat-stand ») adopté dans ce travail avec monitoring continu de PA et de FC.

D'un point de vue clinique, la position de squatting peut être utilisée pour contrecarrer une hypotension orthostatique avec lipothymies pouvant aller jusqu'à la syncope, comme discuté dans un article de revue ⁽⁸⁴⁾. Par contre, chez les sujets avec une HTA, la position accroupie peut accentuer cette anomalie et il a même été suggéré par une équipe indienne qu'elle était susceptible de provoquer un AVC en créant un à-coup hypertensif ⁽¹⁴⁹⁾.

5.2. Neuropathie autonome cardiovasculaire

La NAC est reconnue comme une complication fréquente et potentiellement grave du diabète ^(12, 20, 22, 50, 107). Comme rappelé dans l'introduction de ce travail, les patients qui en sont atteints sont exposés à un risque de morbi-mortalité CV significativement plus élevé que ceux qui n'en présentent aucun stigmate. Les signes cliniques relatifs à cette complication diabétique (l'hypotension orthostatique essentiellement) peuvent attirer l'attention du médecin sur la présence d'une NAC. A ce stade d'expression clinique, celle-ci est déjà relativement avancée, touchant à la fois les versants parasympathique et sympathique, et est grevée d'un

pronostic sombre ⁽³⁶⁾. Il est démontré, cependant, que les atteintes sub-cliniques sont fréquentes, qu'elles peuvent être diagnostiquées par des tests relativement simples et qu'elles sont déjà associées à un pronostic péjoratif ^(12, 20, 22, 102). Néanmoins, une dysfonction autonome détectée à un stade précoce chez le patient DT1 pourrait être encore réversible par certaines interventions appropriées ⁽¹⁵⁰⁾. A l'instar d'un dépistage régulier tel que celui proposé pour les autres complications diabétiques (fond d'œil, dosage de la μ A, bilan cardiologique, ...etc), il apparaît raisonnable, voire indispensable, d'apporter plus d'attention à cette complication, souvent négligée ou totalement ignorée, même si aucun traitement spécifique ne peut être proposé actuellement. Idéalement, un (ou plusieurs) examen non invasif, fiable, reproductible et facile à réaliser devrait permettre de mieux étudier et dépister la NAC ^(12, 20, 102).

La NAC est généralement insuffisamment recherchée en clinique et peut être considérée comme le parent pauvre des complications diabétiques. Ce constat de carence s'explique sans doute par deux raisons principales. La première est l'absence de tests simples parfaitement standardisés et la recommandation de recourir à une batterie de test plus ou moins complexes, dont l'interprétation n'est pas toujours aisée, ne fût-ce que parce que les valeurs doivent être interprétées en fonction de l'âge ⁽²⁷⁾. A titre de comparaison, la mesure et l'interprétation d'une μ A pour dépister une néphropathie diabétique débutante sont certainement mieux standardisées et d'interprétation plus facile. La seconde est l'absence de traitement spécifique de la NAC, ce qui n'encourage pas le clinicien à rechercher cette anomalie. Pourtant, sa mise en évidence peut avoir des répercussions cliniques importantes pour la pratique médicale. Ainsi, un patient avec une NAC avancée est à plus haut risque de décès, par exemple lors d'une anesthésie générale ⁽⁴⁸⁾. Par ailleurs, il a été montré, notamment dans la célèbre étude DCCT, qu'un bon contrôle métabolique est capable de réduire la progression de la NAC chez les patients diabétiques DT1 ^(114, 115). Il en est de même dans le DT2, si l'amélioration de la glycémie est combinée à une gestion plus intensive des divers facteurs de risque, comme démontré dans le suivi de l'étude STENO-2 ⁽¹²¹⁾.

Les indices de NAC rapportés jusqu'à présent dans le test de squatting étaient uniquement basés sur les variations de la FC lors du passage de la position debout à la position accroupie et lors du redressement de la position accroupie à la position debout ^(95, 96). Plus particulièrement, l'indice SqTv (testant la bradycardie réflexe en position accroupie) a été proposé comme indice de NAC parasympathique (bradycardie abolie par l'atropine) tandis que l'indice SqTs (analysant la tachycardie suivant le redressement) a été proposé comme

indice de NAC sympathique (tachycardie réflexe bloquée par le propranolol) ⁽⁹⁵⁾. Nos travaux ont confirmé que ces indices pouvaient être altérés chez le patient DT1 en fonction de la durée d'évolution de la maladie par comparaison à une population témoin non diabétique appariée pour l'âge. Cet appariement est essentiel pour l'interprétation des résultats compte tenu d'une augmentation de l'indice SqTv et d'une diminution de l'indice SqTs de façon physiologique avec l'âge, comme cela a été rapporté avec d'autres indices de variabilité sinusale dont le R-R E/I ratio ⁽²⁷⁾. Au vu des observations transversales effectuées dans des groupes de patients DT1 de différents âges et durées d'évolution de la maladie ^(108, 134), il apparaît que l'indice SqTv est plus précocement altéré dans la population DT1 que l'indice SqTs, en accord avec une atteinte touchant d'abord le système parasympathique avant le versant sympathique, comme cela est classiquement admis ⁽¹⁰⁷⁾ et expliqué sur le plan physiopathologique par la longueur respective des différents neurones (ainsi que discuté dans l'introduction de ce travail). Néanmoins, nous avons montré que l'analyse du GBR, couplant les variations de FC (en fait celles des intervalles R-R) avec celles de PAS, était encore plus performante pour authentifier précocement des anomalies suggérant la présence d'une NAC. Nous consacrerons donc la suite de cette partie de la discussion au GBR en tant que marqueur de NAC.

Dans notre protocole expérimental, le GBR correspond à la pente de la relation entre les espaces RR et les valeurs de PAS lors de la phase de redressement de la position accroupie à la position debout. Les variations de PAS et FC observées durant cette période sont biphasiques et de grande amplitude, un peu comparables à celles observées lors de la phase 4 de la manœuvre de Valsalva durant laquelle une sensibilité baroréflexe peut également être calculée ⁽¹⁰⁰⁾. Il apparaît que ces variations de PAS et de FC (ou R-R) sont analogues à celles observées lors d'un test pharmacologique pris comme référence, combinant la perfusion d'un vasoconstricteur puis d'un vasodilatateur ⁽¹⁰⁶⁾. Les variations imposées de grande amplitude de PAS et de FC permettent une appréciation plus fiable de la sensibilité du baroréflexe que les simples oscillations spontanées ⁽¹²⁷⁾, pourtant très largement utilisées en recherche clinique ⁽²⁹⁾. Une étude récente analysant la sensibilité baroréflexe spontanée chez des patients DT1 suivis pendant 5 ans a montré une diminution progressive de cette dernière, mais qui paraît essentiellement expliquée par l'âge selon l'interprétation des auteurs ⁽¹¹⁹⁾.

Dans les différentes expériences que nous avons réalisées, nous avons essentiellement montré les faits suivants : 1) la mesure du GBR lors d'un test de squatting est suffisamment reproductible pour être exploitée dans des investigations cliniques ⁽⁸³⁾ ; 2) une diminution progressive du GBR est observée dans la population DT1 avec la durée d'évolution du diabète

(données transversales), plus rapide que la diminution attribuée à l'âge si l'on compare à une population témoin non diabétique appariée ⁽¹⁰⁸⁾; 3) cette altération du GBR est apparemment plus marquée chez les femmes DT1 que chez les hommes DT1, pour une raison qui n'apparaît pas clairement ; 4) la diminution du GBR mise en évidence dans une étude longitudinale de quelques années est plus prononcée chez les patients DT1 mal équilibrés (HbA1c > 8 %) que chez ceux ayant un meilleur contrôle glycémique; enfin, 5) le GBR s'avère plus performant que les indices SqTv et SqTs, d'une part, ou encore que l'indice classique R-R E/I ratio, d'autre part, pour discriminer les sujets DT1 avec d'autres complications, comme une augmentation du stress pulsatile ou une μ A, marqueur d'une néphropathie débutante ⁽¹²²⁾.

5.3. Pression pulsée, stress pulsatile et rigidité artérielle

Il est connu que le DT1, mal contrôlé, accélère la rigidité artérielle dont une des expressions cliniques est une augmentation de la PP ⁽⁵⁶⁾. S'il existe une HTA, elle a donc un caractère essentiellement systolique, alors que la PA diastolique peut rester normale, voire même être abaissée ⁽¹⁴⁾. Il existe de nombreuses techniques permettant d'apprécier la rigidité artérielle dans la population générale ou diabétique et nous en avons décrite succinctement quelques-unes, parmi les plus utilisées, dans l'introduction de ce travail.

Nous avons utilisé les mesures continues de PAS et de PAD fournies par le Finapres® pour dériver la pression différentielle (pression pulsée ou PP) et étudier ses variations lors du test de squatting. Une première observation originale qui nous a interpellé est le fait que PP augmente en position accroupie par rapport à la position debout initiale, mais surtout que ce phénomène d'amplification était plus marqué en fonction de l'âge dans la population DT1 que dans la population témoin non diabétique ⁽⁹⁴⁾. Cette première observation nous a incité à étudier davantage ce paramètre dans les différentes expériences réalisées. L'analyse transversale des cohortes des sujets diabétiques et non diabétiques étudiées dans ce travail a montré que PP est plus élevée et que l'accroissement lié à l'âge survient plus précocement chez les patients DT1 que chez les sujets témoins, en accord avec une rigidité artérielle accélérée dans cette population DT1 imparfaitement équilibrée ⁽⁵⁶⁾. Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés dans les deux études européennes réalisées chez les patients DT1, FinnDiane ⁽⁶⁰⁾ et EURODIAB ^(32, 59), avec dans les deux cas des mesures ponctuelles de PA avec un sphygmomanomètre dans de grandes cohortes.

L'augmentation de PP observée chez les patients DT1 s'est révélée être associée à une augmentation de la mortalité. Ainsi, dans l'étude EURODIAB ⁽³²⁾ qui s'intéressait aux facteurs de risque de mortalité d'une importante cohorte de jeunes DT1 (33 ans d'âge moyen), la PP de base était un facteur de risque important parmi ceux qui étaient décédés versus les survivants. Bien que les patients décédés (102 DT1) fussent plus âgés (avec une durée de diabète plus longue), les données relatives à la PP de base indiquent que cette valeur est de 57 ± 21 mm Hg dans la cohorte de patients décédés versus 45 ± 14 mm Hg chez les patients survivants. Il est important de noter que la PP restait un facteur de risque significatif après ajustement pour l'âge et la durée de diabète. Rappelons que, dans cette étude, le suivi fut de 7 années et que un quart des décès était en rapport avec un évènement CV.

Cette association entre élévation de PP et augmentation de la morbi-mortalité CV avait déjà été rapportée dans d'autres populations comme des sujets indemnes de pathologies, jeunes ^(55, 79) ou âgés ⁽⁸⁰⁾, des sujets hypertendus ⁽⁷⁵⁾ ou encore des patients DT2 ^(81, 82). Cet accroissement de PP traduit une augmentation de la rigidité artérielle ⁽⁵⁶⁾. Chez le patient diabétique, ce phénomène, bien connu avec l'avancée en âge, est accéléré par l'hyperglycémie chronique, avec la présence d'un stress oxydatif et le dépôt d'AGE ⁽⁵⁹⁾. A notre connaissance, cependant, il n'y a pas d'études publiées démontrant qu'un meilleur contrôle métabolique au long cours est susceptible de réduire la morbi-mortalité liée à l'augmentation de PP et de la rigidité artérielle.

En présence d'une NAC parasympathique qui s'accompagne d'une élévation de la FC, la rigidité artérielle peut être sous-estimée par la simple mesure de PP. Comme PP peut être directement influencée par la durée de la diastole, inversement liée à FC, et comme la NAC (parmi d'autres facteurs) est susceptible d'influer sur les variations de FC (typiquement, tachycardie fixe dans la NAC sévère), il nous a paru intéressant d'intégrer ces deux paramètres PP et FC dans un indice que nous avons appelé, à la suite d'autres auteurs ⁽⁶⁴⁾, le stress pulsatile (correspondant au produit $PP \times FC$). La prise en compte de cet indice permet de mieux mettre en évidence les anomalies vasculaires chez le patient DT1 par rapport à une population témoin, en particulier en présence d'une NAC.

Ainsi, nous avons essentiellement montré les faits suivants : 1) la mesure de PP et du stress pulsatile lors d'un test de squatting est remarquablement reproductible permettant son exploitation dans des investigations cliniques ; 2) une augmentation (par ailleurs accentuée en position accroupie) progressive de PP et du stress pulsatile est observée dans la population

DT1 avec la durée d'évolution du diabète (données transversales), plus rapide que l'accroissement lié simplement à l'âge si l'on compare à une population témoin non diabétique appariée^(108, 134); 3) cette élévation de PP est sensiblement plus marquée chez les femmes DT1 que chez les hommes DT1⁽¹⁵¹⁾, ce qui pourrait contribuer à l'augmentation bien connue du risque de morbi-mortalité CV dans la population féminine diabétique⁽¹⁸⁾; 4) l'augmentation de PP et du stress pulsatile mise en évidence dans une étude longitudinale de quelques années est plus marquée chez les patients DT1 mal équilibrés (HbA1c > 8 %) que chez ceux bien équilibrés⁽¹³⁷⁾, en accord avec le rôle délétère de l'hyperglycémie chronique et des AGE sur la structure et la fonction de la paroi artérielle^(54, 59); 5) l'augmentation de PP et du stress pulsatile observée à la cinquantaine chez le patient DT1 (après une vingtaine d'années d'évolution de la maladie) est comparable à celle du patient DT2 avec une durée d'évolution connue de la maladie moins longue (5-6 années), mais avec d'autres facteurs de risque CV bien connus regroupés habituellement dans ce qu'il est convenu d'appeler le syndrome métabolique⁽¹⁴⁴⁾; enfin, 6) PP et le stress pulsatile sont corrélés avec d'autres marqueurs de risque chez le patient diabétique comme la NAC (attestée par un GBR diminué) et la μ A comme marqueur précoce de néphropathie débutante (et peut-être aussi de dysfonction endothéliale, comme démontré dans le DT2)^(122, 142).

5.4. Une vision intégrative des complications dans le DT1

Le patient DT1 mal équilibré au long cours est exposé à un risque de complications diverses liées à la microangiopathie et la macroangiopathie⁽¹⁷⁾, ainsi qu'à une neuropathie^(3, 8), comme nous l'avons rappelé dans l'introduction de ce travail. Dans celle-ci, nous avons également fait mention des grandes études qui ont montré que la NAC, d'une part, l'augmentation de PP, d'autre part, représentent autant de facteurs de risque CV et de mortalité précoce, dans la population diabétique, qu'elle soit DT1 ou DT2. Nous n'y reviendrons guère ici. Dans cette dernière partie de la discussion générale, nous souhaitons plutôt présenter une vision intégrative des complications touchant le patient DT1 exposé à un mauvais contrôle glycémique chronique, en analysant de façon plus spécifique les relations entre NAC, stress pulsatile et marqueurs précoces de néphropathie diabétique et en spéculant sur les bénéfices apportés par une amélioration de l'équilibration glycémique. Dans ce contexte, il est évident que la présence éventuelle d'une HTA (relativement fréquente chez le

patient DT1 avec néphropathie et/ou âgé) ne fera qu'aggraver le pronostic, aussi bien sur le plan de la progression de la microangiopathie que sur celui de la macroangiopathie ⁽¹⁴⁾.

En guise d'introduction à ce chapitre de notre discussion générale, nous voudrions d'abord rappeler les résultats de l'étude prospective EURODIAB ayant recruté 2.787 patients DT1 dans 16 pays européens pour y analyser les facteurs de risque de mortalité sur un suivi de 7 années ⁽³²⁾. Dans une analyse modélisée à variables multiples, il apparaît que plusieurs des facteurs analysés dans notre travail ressortent comme facteurs de risque de mortalité, en particulier l'augmentation de PP (hasard ratio standardisé ou HR = 1,33 [IC 95% 1,13-1,58]), la néphropathie (HR pour la macroprotéinurie = 2,39 [1,19-4,78]) et la NAC (HR = 2,40 [1,32-4,36]). De façon intéressante, le risque de mortalité associé à ces deux dernières complications est plus important que celui lié à l'âge dans la population DT1 étudiée (HR = 1,78 [1,44-2,20]).

Il est connu que le patient DT1 présentant une insuffisance rénale, même débutante, est exposé à un risque de complications CV (en ce compris le décès) nettement augmenté par comparaison à un patient DT1 indemne de stigmates de néphropathie ⁽¹⁵²⁾. Ces observations plaident pour une intrication entre les complications de micro- et macro-angiopathie. Dans l'étude «Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications » réalisée chez des patients DT1 adultes soumis à un enregistrement ambulatoire de la PA, l'absence de diminution de la PA durant la nuit (« non-dipping »), un marqueur classique de NAC, est corrélée à la présence d'une protéinurie, stigmate d'une néphropathie ⁽¹⁵³⁾. Dans la population DT1 avec une néphropathie, il a été montré que la présence d'une NAC (attestée simplement par une diminution du R-R E/I ratio) augmentait très significativement le risque de morbidité et de mortalité CV ⁽³⁵⁾. Par ailleurs, dans l'étude DCCT, un meilleur contrôle glycémique s'est révélé capable de réduire le risque de survenue et de progression à la fois de la néphropathie ^(5, 154) et de la NAC ⁽¹¹⁴⁾, avec, à terme, une réduction significative des complications CV ⁽⁶⁾.

Les anomalies de rigidité artérielle sont étroitement associées au stress pulsatile ⁽⁵⁶⁾ et avec la présence d'une (micro-) albuminurie, reflet d'une dysfonction endothéliale et d'une atteinte rénale ⁽¹⁴⁰⁾. Chez des patients DT1, les indices de rigidité artérielle (AASI, PP) se sont avérés être plus élevés que chez des sujets témoins et davantage accrus chez les sujets DT1 avec μA positive que chez ceux sans μA ⁽¹⁴³⁾. Dans une population de greffés rénaux, une forte corrélation a été rapportée entre des altérations rénales précoces et le stress pulsatile ⁽⁶⁴⁾. Dans la population DT1 de l'étude EURODIAB ⁽⁵⁸⁾, l'augmentation de PP avec l'âge était

plus marquée chez les patients qui présentaient au départ une μA ou une macroprotéinurie, suggérant que la progression du vieillissement artériel est plus rapide chez les sujets DT1 qui ont déjà une atteinte des organes cibles. Enfin, dans l'étude FinnDiane⁽⁶⁰⁾, les patients DT1 avec macroprotéinurie avaient les taux les plus élevés de PP. Cette relation était également présente chez les patients avec μA , mais n'atteignait la signification statistique que dans certaines catégories d'âge. Dans une analyse ultérieure de la cohorte FinnDiane, suivie de façon prospective pendant environ 5 années, il a été rapporté récemment que PP était plus élevée au départ chez les patients qui ont présenté un événement CV par la suite ou qui ont détérioré leur fonction rénale. Cependant après ajustement pour les facteurs de risque traditionnels, seule la relation avec l'incidence des événements CV persiste, alors que celle avec l'atteinte rénale perd sa signification statistique⁽⁶²⁾. Chez tout patient DT1 avec une HTA, il sera important de particulièrement bien contrôler le niveau de PA (cible < 125/75 mm Hg si possible) pour ralentir la progression de la détérioration de la fonction rénale⁽¹⁴⁾.

Chez les patients DT1, la présence d'une NAC s'est révélée être associée à une rigidité augmentée de l'aorte^(139, 155), à une dysfonction endothéliale⁽¹⁴⁰⁾ et à une augmentation de la PAS⁽¹⁴¹⁾. Il a été rapporté récemment que les patients DT1 avec une sensibilité baroréflexe spontanée diminuée avaient un risque plus élevé de développer une HTA mesurée lors d'un enregistrement continu de 24 heures lors d'un suivi de 5 années⁽¹¹⁹⁾. Dans une autre étude récente analysant de façon transversale la cohorte des jeunes patients DT1 de la Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study, il a été montré qu'un indice classique de NAC (en l'occurrence le R-R E/I ratio) était significativement corrélé avec des marqueurs de rigidité artérielle, comme la vitesse de l'onde de pouls mesurée avec un Sphygmo Cor® (indice brièvement présenté dans l'introduction de cette thèse), même après ajustement pour divers facteurs confondants⁽¹⁵⁶⁾. De plus, dans cette étude, il existait une relation significative entre l'indice de NAC et une mesure de perfusion myocardique, suggérant une possible relation avec la maladie coronaire. Dans une autre étude récente réalisée chez de jeunes patients DT1, il a été montré que la vitesse d'onde de pouls, en tant que marqueur de la rigidité artérielle, était fortement et inversement corrélée avec le rapport R-R E/I ratio, comme marqueur de la NAC⁽¹⁵⁷⁾. Enfin, dans une autre étude, réalisée dans une population mixte de patients adultes DT1 et DT2 soumis à un enregistrement continu de PA pendant 48 heures, une élévation de PP a été rapportée chez les sujets avec une NAC ou un risque élevé d'insuffisance coronaire ou d'AVC. Après ajustement pour l'âge, c'est l'élévation de PP qui s'est avérée être le marqueur le plus fortement associé au risque CV⁽¹⁵⁸⁾.

Nous avons montré dans la population DT1 étudiée dans notre travail que la présence d'une NAC, attestée par une réduction du GBR, est significativement corrélée à la présence d'une augmentation de PP ou du stress pulsatile⁽¹⁰⁸⁾. Cette relation inverse entre diminution du GBR et augmentation du stress pulsatile a été retrouvée chez les patients DT1, aussi bien dans une étude transversale que dans une étude de suivi longitudinal⁽¹⁴²⁾. Ce type de corrélation n'implique bien évidemment pas automatiquement une relation de causalité directe entre les deux anomalies. De façon schématique, deux hypothèses peuvent être avancées. La première est que la NAC contribue à l'augmentation de PP (ou inversement que l'augmentation de PP contribue à la NAC), dans une relation de causalité réciproque. La seconde est que les deux complications soient tributaires d'un facteur commun, en l'occurrence l'hyperglycémie chronique. S'il paraît bien évident que la seconde hypothèse est vraie, ainsi que nous l'avons déjà amplement discuté dans l'introduction de ce travail, elle n'exclut pas nécessairement la première hypothèse selon laquelle la NAC influencerait aussi directement PP et la rigidité artérielle (ou vice versa). L'ensemble de nos résultats expérimentaux est en accord avec les données de Lefrandt et al, résumées dans un article de revue récent⁽¹⁴⁰⁾ insistant sur l'interrelation entre NAC, rigidité artérielle, dysfonction endothéliale, μA et, *in fine*, risque CV.

Si ces différentes complications sont intimement intriquées et si elles dépendent toutes, peu ou prou, de la présence d'une hyperglycémie chronique, il paraît logique de formuler l'hypothèse que l'instauration d'un meilleur contrôle glycémique soit susceptible d'améliorer les marqueurs précoces de ces complications et, *in fine*, le pronostic des patients diabétiques en termes d'espérance et de qualité de vie⁽¹⁷⁾. Le suivi longitudinal réalisé dans ce travail chez des personnes DT1 a montré que les patients avec le meilleur taux d'HbA1c avaient une moindre progression du GBR, marqueur de la NAC^(116, 117). De même, l'augmentation de PP est moins marquée chez les patients DT1 avec le meilleur contrôle glycémique entre les deux tests⁽¹³⁷⁾. Il reste à démontrer que l'amélioration du contrôle métabolique conduit à une réduction des événements CV et une amélioration du pronostic vital, d'une part, et que ce succès passe au moins en partie par une diminution de la progression de la NAC et/ou du stress pulsatile, d'autre part. Comme l'ont montré les résultats de la grande étude américaine DCCT⁽⁵⁾, les bénéfices d'une amélioration du contrôle glycémique (réduction du taux d'HbA1c de 9 à 7 % en moyenne durant la période du DCCT proprement dite grâce à une intensification de l'insulinothérapie) se sont essentiellement matérialisés dans une réduction des complications de microangiopathie (rétinopathie,

néphropathie, neuropathie), alors que les bénéfices en termes de réduction de complications CV n'ont pu être objectivées que bien plus tardivement, à distance du suivi épidémiologique EDIC, sans effet significatif démontré à ce jour sur la mortalité ⁽⁶⁾. Il est vrai que les patients DT1 recrutés dans le DCCT étaient relativement jeunes et avec une durée d'évolution du diabète assez courte. Il n'empêche que les améliorations objectivées en ce qui concerne à la fois la neuropathie autonome ⁽¹¹⁴⁾ et la néphropathie ⁽¹⁵⁴⁾ devraient *in fine* se traduire en termes de réduction de morbi-mortalité cardiovasculaire, lorsqu'on connaît les intrications fortes entre ces différentes complications ⁽¹⁵²⁾. Il conviendra cependant de maîtriser le risque hypoglycémique puisque l'intensification de l'insulinothérapie avec, comme objectif l'obtention d'un taux d'HbA1c inférieur à 7, expose le patient DT1 à un risque accru d'hypoglycémies sévères (multiplié par 3 dans la grande étude DCCT) ⁽⁵⁾. Or, il est de mieux en mieux démontré que les hypoglycémies sévères, par elles-mêmes, sont susceptibles d'accroître le risque de mortalité CV, soit en allongeant l'espace QT et en induisant des troubles du rythme, soit en créant une décharge adrénargique qui augmente brutalement le travail myocardique et conduit à un syndrome coronarien aigu ^(36, 43, 159). On peut espérer que les avancées technologiques récentes, dont le développement des analogues de l'insuline et de nouveaux schémas d'insulinothérapie reproduisant au mieux la « physiologie » chez les patients DT1 ^(9, 10) ou encore le monitoring continu de la glycémie chez les patients DT1 à haut risque, voire à terme l'administration d'insuline contrôlée en boucle fermée, permettront de mieux maîtriser le défi actuel de l'obtention d'un excellent contrôle glycémique sans risque d'hypoglycémie sévère, en particulier chez les patients avec une NAC avancée ⁽²⁾.

6. CONCLUSIONS

Les patients avec un DT1 sont exposés à un risque d'hyperglycémie chronique pendant de très nombreuses années, en raison de la survenue précoce de ce type de diabète (pic d'incidence à la puberté) et de l'espérance de vie croissante des personnes qui en sont atteintes (meilleure prise en charge des complications aiguës métaboliques ou infectieuses). La résultante est un risque accru de complications vasculaires, combinant à la fois microangiopathie (rétinopathie, néphropathie) et macroangiopathie (coronaropathie, la plus commune et la plus dangereuse).

Notre travail s'est intéressé à deux complications fréquentes, mais moins bien connues, de la maladie, la NAC, d'une part, la rigidité artérielle, d'autre part. Nous avons étudié ces deux anomalies en mesurant de façon continue et non invasive les variations de la PA et de la FC à l'aide d'un Finapres® lors d'un test postural original, le test dit de « squatting ». En analysant les variations instantanées de PA et de FC lors du passage de la position debout à la position accroupie puis lors de la transition de la position accroupie à la position debout, nous avons démontré que le patient DT1 est exposé à un stress pulsatile accru (témoin indirect d'une rigidité artérielle précoce) et à une diminution de la sensibilité du baroréflexe (témoin d'une dysfonction autonome touchant d'abord le versant parasympathique puis sympathique).

Nous avons analysé de façon systématique une série de facteurs susceptibles d'influencer la survenue et la progression de ces complications, dont la qualité du contrôle glycémique, et nous avons tenté de corrélérer les anomalies objectivées en ce qui concerne la NAC et le stress pulsatile avec d'autres complications comme la présence d'une μA , reflet d'une néphropathie débutante. Nous avons également montré que le calcul du GBR lors d'un test de squatting, par analogie au calcul fait lors d'un test pharmacologique combinant successivement un vasodilatateur et un vasoconstricteur, s'avère plus discriminant que l'indice classique R-R E/I ratio mesuré lors d'une épreuve de respiration forcée (« deep breathing ») pour dépister une NAC débutante.

Au terme de ce travail, nous espérons avoir contribué, modestement, à une meilleure connaissance de deux complications, sous-estimées et trop souvent méconnues, susceptibles de toucher les patients présentant un DT1 évoluant de longue date avec un équilibre glycémique insuffisant et d'aggraver leur pronostic CV, entravant à la fois qualité et espérance de vie.

7. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Gale EA. The discovery of type 1 diabetes. *Diabetes* 2001;50(2):217-26.
- [2] Buyschaert. *Diabétologie clinique* (4ème édition): Editions DeBoeck, Bruxelles-Paris, 2011.
- [3] Scheen AJ. La neuropathie diabétique: données épidémiologiques et prédictives. *Diabetes Metab* 1998;24(Suppl 3):45-49.
- [4] Orchard TJ, Costacou T, Kretowski A, et al. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care* 2006;29(11):2528-38.
- [5] The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329(14):977-86.
- [6] Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;353(25):2643-53.
- [7] Paris I, Hermans M, Buyschaert M. Glycemic control in type 1 diabetes. A cross-sectional study in 1,200 Belgian patients. *Diabetes Care* 1998;21(12):2200-1.
- [8] Deckers S, Hermans MP, Buyschaert M. Therapy, glycaemic control and complications in type 1 diabetic patients: results from a single centre cohort of 465 subjects. *Acta Clin Belg* 2001;56(5):289-96.
- [9] Philips JC, Radermecker R. Le point sur les nouvelles insulines. *Rev Med Suisse* 2005;1(30):1936-8, 40-1.
- [10] Philips JC, Radermecker RP. L'insulinothérapie dans le diabète de type 1. *Rev Med Liège* 2005;60(5-6):322-8.
- [11] Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348(23):2285-93.
- [12] Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care* 2010;33(10):2285-93.
- [13] Valensi P, Giroux C, Seeboth-Ghalayini B, et al. Diabetic peripheral neuropathy: effects of age, duration of diabetes, glycemic control, and vascular factors. *J Diabetes Complications* 1997;11(1):27-34.
- [14] Scheen AJ, Philips J-C, Krzesinski JM. Hypertension et diabète : à propos d'une association commune mais complexe. *Rev Med Liège* 2012;67:sous presse.
- [15] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339(4):229-34.
- [16] Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis* 2011;217(Suppl 1):S1-44.
- [17] Wajchenberg BL, Feitosa AC, Rassi N, et al. Glycemia and cardiovascular disease in type 1 diabetes mellitus. *Endocr Pract* 2008;14(7):912-23.
- [18] Barrett-Connor E, Giardina EG, Gitt AK, et al. Women and heart disease: the role of diabetes and hyperglycemia. *Arch Intern Med* 2004;164(9):934-42.
- [19] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. La neuropathie autonome cardiaque diabétique. *Rev Med Liège* 2005;60(5-6):498-504.
- [20] Spallone V, Ziegler D, Freeman R, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27(7):639-53.

- [21] Pop-Busui R. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. *Diabetes Care* 2010;33(2):434-41.
- [22] Valensi P. Neuropathie autonome cardiaque chez le diabétique: méthodes de recherche et intérêt pratique. *Diabete Metab* 1990;16(2):102-6.
- [23] Wieling W, Schatz IJ. The consensus statement on the definition of orthostatic hypotension: a revisit after 13 years. *J Hypertens* 2009;27(5):935-8.
- [24] Kennedy WR, Navarro X, Sutherland DE. Neuropathy profile of diabetic patients in a pancreas transplantation program. *Neurology* 1995;45(4):773-80.
- [25] Valensi P, Paries J, Attali JR. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications--the French multicenter study. *Metabolism* 2003;52(7):815-20.
- [26] Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, et al. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985;8(5):491-8.
- [27] Valensi P, Huard JP, Giroux C, et al. Factors involved in cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients. *J Diabetes Complications* 1997;11(3):180-7.
- [28] Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur Heart J* 1996;17(3):354-81.
- [29] La Rovere MT, Pinna GD, Raczak G. Baroreflex sensitivity: measurement and clinical implications. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2008;13(2):191-207.
- [30] Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. *Ann Intern Med* 1980;92(2 Pt 2):308-11.
- [31] O'Brien IA, McFadden JP, Corrall RJ. The influence of autonomic neuropathy on mortality in insulin-dependent diabetes. *Q J Med* 1991;79(290):495-502.
- [32] Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, et al. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008;31(7):1360-6.
- [33] Gerritsen J, Dekker JM, TenVoorde BJ, et al. 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(10):1793-8.
- [34] Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, et al. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2003;26(6):1895-901.
- [35] Astrup AS, Tarnow L, Rossing P, et al. Cardiac autonomic neuropathy predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2006;29(2):334-9.
- [36] Pop-Busui R, Evans GW, Gerstein HC, et al. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Diabetes Care* 2010;33(7):1578-84.
- [37] Lykke JA, Tarnow L, Parving HH, et al. A combined abnormality in heart rate variation and QT corrected interval is a strong predictor of cardiovascular death in type 1 diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68(7):654-9.
- [38] Ziegler D, Zentai CP, Perz S, et al. Prediction of mortality using measures of cardiac autonomic dysfunction in the diabetic and nondiabetic population: the MONICA/KORA Augsburg Cohort Study. *Diabetes Care* 2008;31(3):556-61.
- [39] Cryer PE. Hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;281(6):E1115-21.
- [40] Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358(24):2545-59.

- [41] Zoungas S, Patel A, Chalmers J, et al. Severe hypoglycemia and risks of vascular events and death. *N Engl J Med* 2010;363(15):1410-8.
- [42] Bonds DE, Miller ME, Bergenstal RM, et al. The association between symptomatic, severe hypoglycaemia and mortality in type 2 diabetes: retrospective epidemiological analysis of the ACCORD study. *BMJ* 2010;340:b4909.
- [43] Halimi S. Acute consequences of hypoglycaemia in diabetic patients. *Diabetes Metab* 2010;36(Suppl 3):S75-83.
- [44] Vinik AI, Freeman R, Erbas T. Diabetic autonomic neuropathy. *Semin Neurol* 2003;23(4):365-72.
- [45] Young LH, Wackers FJ, Chyun DA, et al. Cardiac outcomes after screening for asymptomatic coronary artery disease in patients with type 2 diabetes: the DIAD study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301(15):1547-55.
- [46] Valensi P, Sachs RN, Harfouche B, et al. Predictive value of cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients with or without silent myocardial ischemia. *Diabetes Care* 2001;24(2):339-43.
- [47] Maser RE, Lenhard MJ. Cardiovascular autonomic neuropathy due to diabetes mellitus: clinical manifestations, consequences, and treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(10):5896-903.
- [48] Van Cauwenberge I, Philips JC, Scheen AJ. Risque anesthésique lié à une neuropathie autonome cardiaque chez le patient diabétique. *Rev Med Liège* 2008;63(7-8):488-93.
- [49] Ko SH, Song KH, Park SA, et al. Cardiovascular autonomic dysfunction predicts acute ischaemic stroke in patients with Type 2 diabetes mellitus: a 7-year follow-up study. *Diabet Med* 2008;25(10):1171-7.
- [50] Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2007;115(3):387-97.
- [51] Pop-Busui R, Kirkwood I, Schmid H, et al. Sympathetic dysfunction in type 1 diabetes: association with impaired myocardial blood flow reserve and diastolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(12):2368-74.
- [52] Taskiran M, Rasmussen V, Rasmussen B, et al. Left ventricular dysfunction in normotensive Type 1 diabetic patients: the impact of autonomic neuropathy. *Diabet Med* 2004;21(6):524-30.
- [53] Montano N, Porta A, Cogliati C, et al. Heart rate variability explored in the frequency domain: a tool to investigate the link between heart and behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2009;33(2):71-80.
- [54] Cameron JD, Cruickshank JK. Glucose, insulin, diabetes and mechanisms of arterial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34(7):677-82.
- [55] Assmann G, Cullen P, Evers T, et al. Importance of arterial pulse pressure as a predictor of coronary heart disease risk in PROCAM. *Eur Heart J* 2005;26(20):2120-6.
- [56] Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003;21(11):2005-7.
- [57] Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J* 2010;31(19):2338-50.
- [58] Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, et al. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003;21(11):2035-44.
- [59] Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, et al. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005;46(1):232-7.

- [60] Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, et al. Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 2004;110(9):1076-82.
- [61] Gordin D, Waden J, Forsblom C, et al. Arterial stiffness and vascular complications in patients with type 1 diabetes: The Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study. *Ann Med* 2010; Nov 3[Epub ahead of print].
- [62] Gordin D, Waden J, Forsblom C, et al. Pulse pressure predicts incident cardiovascular disease but not diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes (The FinnDiane Study). *Diabetes Care* 2011;34(4):886-91.
- [63] Imholz BP, Settels JJ, van der Meiracker AH, et al. Non-invasive continuous finger blood pressure measurement during orthostatic stress compared to intra-arterial pressure. *Cardiovasc Res* 1990;24(3):214-21.
- [64] Baumann M, Pan CR, Roos M, et al. Pulsatile stress correlates with (micro-)albuminuria in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23(3):292-8.
- [65] Giannoglou GD, Chatzizisis YS, Zamboulis C, et al. Elevated heart rate and atherosclerosis: an overview of the pathogenetic mechanisms. *Int J Cardiol* 2008;126(3):302-12.
- [66] Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28(12):1462-536.
- [67] Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, et al. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2010;121(4):505-11.
- [68] Prince CT, Secrest AM, Mackey RH, et al. Pulse wave analysis and prevalent cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Atherosclerosis* 2010;213(2):469-74.
- [69] Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, et al. Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *QJM* 2000;93(7):441-8.
- [70] Li Y, Dolan E, Wang JG, et al. Ambulatory arterial stiffness index: determinants and outcome. *Blood Press Monit* 2006;11(2):107-10.
- [71] Dolan E, Thijs L, Li Y, et al. Ambulatory arterial stiffness index as a predictor of cardiovascular mortality in the Dublin Outcome Study. *Hypertension* 2006;47(3):365-70.
- [72] Laugesen E, Hansen KW, Knudsen ST, et al. Reproducibility of the ambulatory arterial stiffness index in patients with type 1 diabetes mellitus. *Blood Press Monit* 2010;15(1):18-22.
- [73] Philips JC, Marchand M, Scheen A. Mesure de l'AASI (Ambulatory Arterial Stiffness Index) calculé lors d'un test court avec mesure continue de la pression artérielle. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2007;100(Hors série):46, p41.
- [74] Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, et al. Relation of pulse pressure and blood pressure reduction to the incidence of myocardial infarction. *Hypertension* 1994;23(3):395-401.
- [75] Benetos A, Rudnichi A, Safar M, et al. Pulse pressure and cardiovascular mortality in normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 1998;32(3):560-4.
- [76] Chae CU, Pfeffer MA, Glynn RJ, et al. Increased pulse pressure and risk of heart failure in the elderly. *JAMA* 1999;281(7):634-9.
- [77] Franklin SS, Larson MG, Khan SA, et al. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation* 2001;103(9):1245-9.
- [78] Khatrar RS, Senior R, Soman P, et al. Regression of left ventricular remodeling in chronic heart failure: Comparative and combined effects of captopril and carvedilol. *Am Heart J* 2001;142(4):704-13.
- [79] Fang J, Madhavan S, Alderman MH. Pulse pressure: a predictor of cardiovascular mortality among young normotensive subjects. *Blood Press* 2000;9(5):260-6.

- [80] Glynn RJ, Chae CU, Guralnik JM, et al. Pulse pressure and mortality in older people. *Arch Intern Med* 2000;160(18):2765-72.
- [81] Schram MT, Kostense PJ, Van Dijk RA, et al. Diabetes, pulse pressure and cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *J Hypertens* 2002;20(9):1743-51.
- [82] Cockcroft JR, Wilkinson IB, Evans M, et al. Pulse pressure predicts cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 2005;18(11):1463-7; discussion 68-9.
- [83] Scheen AJ, Philips JC. Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity. *Clin Auton Res* 2012;22:35-41.
- [84] Philips JC, Scheen AJ. Squatting test : a posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction. *Auton Neurosci* 2011;162(1-2):3-9.
- [85] Scheen AJ, Geronooz I, Marchand M. Le Finapres, une technique performante pour évaluer l'hypotension orthostatique, la neuropathie autonome et la syncope vaso-vagale. *Rev Med Liège* 2001;56(8):577-82.
- [86] Scheen AJ, Marchand M, Lefèbvre PJ. Variations de la pression artérielle lors d'un test de «squatting» chez des patients diabétiques de type 2 sous inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou sous bêta-bloquant. *Arch Mal Cœur Vaiss* 1999;92(Suppl):39, P49.
- [87] Imholz BP, Wieling W, Langewouters GJ, van Montfrans GA. Continuous finger arterial pressure: utility in the cardiovascular laboratory. *Clin Auton Res* 1991;1:43-53.
- [88] Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, et al. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998;38(3):605-16.
- [89] Lansdorp B, Ouweneel D, de Keijzer A, et al. Non-invasive measurement of pulse pressure variation and systolic pressure variation using a finger cuff corresponds with intra-arterial measurement. *Br J Anaesth* 2011;107(4):540-5.
- [90] Pinna GD, La Rovere MT, Maestri R, et al. Comparison between invasive and non-invasive measurements of baroreflex sensitivity; implications for studies on risk stratification after a myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21(18):1522-9.
- [91] Rossberg F, Penaz J. Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988;57(1):93-7.
- [92] Bogert LW, van Lieshout JJ. Non-invasive pulsatile arterial pressure and stroke volume changes from the human finger. *Exp Physiol* 2005;90(4):437-46.
- [93] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting, a posture test for studying cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes Metab* 2011;37(6):489-96.
- [94] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31(2):322-4.
- [95] Marfella R, Giugliano D, di Maro G, et al. The squatting test. A useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994;43(4):607-12.
- [96] Nakagawa M, Shinohara T, Anan F, et al. New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008;25(11):1309-15.
- [97] Pickering TG, Gribbin B, Sleight P. Comparison of the reflex heart rate response to rising and falling arterial pressure in man. *Cardiovasc Res* 1972;6(3):277-83.
- [98] Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, et al. Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol* 1999;276(5 Pt 2):H1691-8.
- [99] Tank J, Diedrich A, Szczech E, et al. Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension* 2005;45(6):1159-64.

- [100] Weston PJ, James MA, Panerai R, et al. Abnormal baroreceptor-cardiac reflex sensitivity is not detected by conventional tests of autonomic function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)* 1996;91(1):59-64.
- [101] Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1(8476):307-10.
- [102] Bernardi L, Spallone V, Stevens M, et al. Investigation methods for cardiac autonomic function in human research studies. *Diabetes Metab Res Rev* 2011;27(7):654-64.
- [103] Philips JC, Marchand M, Estrella F, et al. Gain baroréflexe calculé lors d'un test d'orthostatisme (« squatting ») : reproductibilité et effet de l'âge dans une population normale. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2004;97(Hors série):53,P92.
- [104] Iellamo F, Legramante JM, Raimondi G, et al. Evaluation of reproducibility of spontaneous baroreflex sensitivity at rest and during laboratory tests. *J Hypertens* 1996;14(9):1099-104.
- [105] Valensi P, Attali JR, Gagant S. Reproducibility of parameters for assessment of diabetic neuropathy. The French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy. *Diabet Med* 1993;10(10):933-9.
- [106] Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, et al. Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol* 1999;276(5 Pt 2):H1691-8.
- [107] Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, et al. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003;26(5):1553-79.
- [108] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25(5):442-51.
- [109] Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med* 1980;49(193):95-108.
- [110] Barantke M, Krauss T, Ortak J, et al. Effects of gender and aging on differential autonomic responses to orthostatic maneuvers. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2008;19(12):1296-303.
- [111] Huxley VH. Sex and the cardiovascular system: the intriguing tale of how women and men regulate cardiovascular function differently. *Adv Physiol Educ* 2007;31(1):17-22.
- [112] Laitinen T, Hartikainen J, Vanninen E, et al. Age and gender dependency of baroreflex sensitivity in healthy subjects. *J Appl Physiol* 1998;84(2):576-83.
- [113] Beske SD, Alvarez GE, Ballard TP, et al. Gender difference in cardiovascular vagal baroreflex gain in humans. *J Appl Physiol* 2001;91(5):2088-92.
- [114] Pop-Busui R, Low PA, Waberski BH, et al. Effects of prior intensive insulin therapy on cardiac autonomic nervous system function in type 1 diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study (DCCT/EDIC). *Circulation* 2009;119(22):2886-93.
- [115] Group DR. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *Diabetologia* 1998;41(4):416-23.
- [116] Philips JC, Marchand M, Scheen A. Baroreflex gain is more efficient than RR E/I ratio to detect progression of cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetes patients. In : Abstract Book of the World Diabetes Congress (International Diabetes Federation), 2011;422:P-1289.
- [117] Philips JC, Marchand M, Geronoz I, et al. Influence of blood glucose control on the progression of cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004;47(Suppl 1):A368-A69,P1029.

- [118] Larsen JR, Sjöholm H, Berg TJ, et al. Eighteen years of fair glycaemic control preserves cardiac autonomic function in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(4):963-6.
- [119] Rosengard-Barlund M, Bernardi L, Sandelin A, et al. Baroreflex sensitivity and its response to deep breathing predict increase in blood pressure in type 1 diabetes in a 5-year follow-up. *Diabetes Care* 2011;34(11):2424-30.
- [120] Reichard P, Jensen-Urstad K, Ericsson M, et al. Autonomic neuropathy--a complication less pronounced in patients with Type 1 diabetes mellitus who have lower blood glucose levels. *Diabet Med* 2000;17(12):860-6.
- [121] Gaede P, Vedel P, Larsen N, et al. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348(5):383-93.
- [122] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Haemodynamic changes during a squat test, pulsatile stress and indices of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with long-duration type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 2011:Oct24 [Epub ahead of print].
- [123] Lefrandt JD, Hoogenberg K, van Roon AM, et al. Baroreflex sensitivity is depressed in microalbuminuric Type I diabetic patients at rest and during sympathetic manoeuvres. *Diabetologia* 1999;42(11):1345-9.
- [124] Mogensen CE. Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. *J Intern Med* 2003;254(1):45-66.
- [125] Voulgari C, Psallas M, Kokkinos A, et al. The association between cardiac autonomic neuropathy with metabolic and other factors in subjects with type 1 and type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2011;25(3):159-67.
- [126] Scheen A, Philips JC, Marchand M. Decreased baroreflex gain more strongly predicts microalbuminuria and increased pulsatile stress than decreased RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2011;54(Suppl):S464, 1149.
- [127] Lipman RD, Salisbury JK, Taylor JA. Spontaneous indices are inconsistent with arterial baroreflex gain. *Hypertension* 2003;42(4):481-7.
- [128] Zollei E, Paprika D, Rudas L. Measures of cardiovascular autonomic regulation derived from spontaneous methods and the Valsalva maneuver. *Auton Neurosci* 2003;103(1-2):100-5.
- [129] Forsen A, Kangro M, Sterner G, et al. A 14-year prospective study of autonomic nerve function in Type 1 diabetic patients: association with nephropathy. *Diabet Med* 2004;21(8):852-8.
- [130] Ayad F, Belhadj M, Paries J, et al. Association between cardiac autonomic neuropathy and hypertension and its potential influence on diabetic complications. *Diabet Med* 2010;27(7):804-11.
- [131] Pavy-Le Traon A, Fontaine S, Tap G, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res* 2010;20(3):153-60.
- [132] Bode AS, Leermakers J, Kroon JW, et al. Determination of brachial artery stiffness prior to vascular access creation: reproducibility of pulse wave velocity assessment. *Nephrol Dial Transplant* 2011; Dec 20 [Epub ahead of print].
- [133] Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003;21(11):2005-7.
- [134] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure x heart rate product during squatting in Type 1 diabetes according to age. *Diabet Med* 2010;27(7):753-61.
- [135] Philips JC, Marchand M, Scheen A. Augmentation plus marquée de la pression pulsée avec l'âge chez les femmes que chez les hommes présentant un diabète de type 1. *Diabetes Metab* 2009;35 (Suppl 1):A35.
- [136] Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, et al. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 1999;16(4):291-7.

- [137] Philips JC, Estrella F, Marchand M, et al. Influence du contrôle glycémique sur l'évolution de la pression artérielle pulsée chez le patient diabétique de type 1 : premiers résultats d'une étude longitudinale. *Arch Mal Cœur Vaiss* 2004;97(Suppl):25, P2.
- [138] Palombo C, Kozakova M, Morizzo C, et al. Circulating endothelial progenitor cells and large artery structure and function in young subjects with uncomplicated Type 1 Diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2011;10:88.
- [139] Prince CT, Secrest AM, Mackey RH, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy, HDL cholesterol, and smoking correlate with arterial stiffness markers determined 18 years later in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2010;33(3):652-7.
- [140] Lefrandt JD, Smit AJ, Zeebregts CJ, et al. Autonomic dysfunction in diabetes: a consequence of cardiovascular damage. *Curr Diabetes Rev* 2010;6(6):348-58.
- [141] Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, et al. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2005;48(1):164-71.
- [142] Scheen A, Marchand M, Philips JC. Relations entre gain baroréflexe et stress pulsatile chez le patient diabétique de type 1. *Arch Mal Cœur Vaiss Pratique* 2011;(Hors-série 3):36-37.
- [143] Laugesen E, Hansen KW, Knudsen ST, et al. Increased ambulatory arterial stiffness index and pulse pressure in microalbuminuric patients with type 1 diabetes. *Am J Hypertens* 2009;22(5):513-9.
- [144] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared with nondiabetic control subjects. *Diabetes Care* 2010;33(11):2424-29.
- [145] Scheen AJ, Juchmes J, Pochet T. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab Metab* 1990;16:382-84.
- [146] Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, et al. Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 1994;17(2):149-51.
- [147] Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003;90(5-6):449-57.
- [148] Spallone V, Morganti R, Fedele T, et al. Reappraisal of the diagnostic role of orthostatic hypotension in diabetes. *Clin Auton Res* 2009;19(1):58-64.
- [149] Chakrabarti SD, Ganguly R, Chatterjee SK, et al. Is squatting a triggering factor for stroke in Indians? *Acta Neurol Scand* 2002;105(2):124-7.
- [150] Rosengard-Barlund M, Bernardi L, Fagerudd J, et al. Early autonomic dysfunction in type 1 diabetes: a reversible disorder? *Diabetologia* 2009;52(6):1164-72.
- [151] Philips JC, Marchand M, Scheen A. Augmentation plus marquée de la pression pulsée avec l'âge chez les femmes que chez les hommes présentant un diabète de type 1. *Diabet Metab* 2009;35:A35-A35.
- [152] Retnakaran R, Zinman B. Type 1 diabetes, hyperglycaemia, and the heart. *Lancet* 2008;371(9626):1790-9.
- [153] Stella P, Tabak AG, Zgibor JC, et al. Late diabetes complications and non-dipping phenomenon in patients with Type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;71(1):14-20.
- [154] de Boer IH, Rue TC, Cleary PA, et al. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: an analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications cohort. *Arch Intern Med* 2011;171(5):412-20.
- [155] Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, et al. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 1999;16(4):291-7.

- [156] Secrest AM, Marshall SL, Miller RG, et al. Pulse wave analysis and cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes: a report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetes Technol Ther* 2011;12:1264-8.
- [157] Liatis S, Alexiadou K, Tsiakou A, et al. Cardiac autonomic function correlates with arterial stiffness in the early stage of type 1 diabetes. *Experimental diabetes research* 2011;2011:957901.
- [158] Cabezas-Cerrato J, Hermida RC, Cabezas-Agricola JM, et al. Cardiac autonomic neuropathy, estimated cardiovascular risk, and circadian blood pressure pattern in diabetes mellitus. *Chronobiol Int* 2009;26(5):942-57.
- [159] Yakubovich N, Gerstein HC. Serious cardiovascular outcomes in diabetes: the role of hypoglycemia. *Circulation* 2011;123(3):342-8.

8. ARTICLES SOUS-TENDANT LA THESE

8.1. Annexe A : Articles de revue (Annexes A1-A4)

- A1.** Philips J-C, Marchand M, Scheen AJ
La neuropathie autonome cardiaque diabétique.
Revue Médicale de Liège 2005;60:498-504.
- A2.** Scheen AJ, Philips JC.
Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity.
Clinical Autonomic Research 2012; 22: 35-41.
- A3.** Philips JC, Scheen AJ.
Squatting test: A posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction.
Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical 2011;162:3-9.
- A4.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.
Squatting, a posture test for studying cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes.
Diabetes & Metabolism 2011;37 :489-96.

8.2. Annexe B : Articles originaux (Annexes B1-B6)

- B1.** Philips JC, Marchand M, Weekers L, Scheen AJ.
Effets de la durée du diabète de type 1 sur la pression artérielle pulsée: étude transversale contrôlée.
Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux 2006;99 :683-6.
- B2.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.
Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes.
Diabetes Care 2008;31:322-4.
- B3.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.
Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes.
Diabetes Metabolism Research Reviews 2009;25:442-51.
- B4.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.
Changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure x heart rate product during squatting in Type 1 diabetes according to age.
Diabetic Medicine 2010;27:753-61.
- B5.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.
Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared with nondiabetic control subjects.
Diabetes Care 2010;33:2424-29.
- B6.** Philips JC, Marchand M, Scheen AJ
Hemodynamic changes during a squatting test, pulsatile stress and indices of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with long duration type 1 diabetes.
Diabetes & Metabolism 2011: Oct 24. [Epub ahead of print].

8.3. Annexe C : Résumés de congrès (Annexes C1-C8)

C1. Philips J-C, Marchand M, Estrella F, Scheen AJ.

Gain baroréflexe calculé lors d'un test d'orthostatisme (« squatting ») : reproductibilité et effet de l'âge dans une population normale.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux, 2004, **97** (Suppl. Hors série), 53, P92.

C2. Philips JC, Estrella F, Marchand M, et al.

Influence du contrôle glycémique sur l'évolution de la pression artérielle pulsée chez le patient diabétique de type 1 : premiers résultats d'une étude longitudinale.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux 2004;97 (Suppl):25, P2.

C3. Philips J-C, Marchand M, Geronooz I, Scheen AJ.

Influence of blood glucose control on the progression of cardiac autonomic neuropathy in Type 1 diabetes.

Diabetologia 2004, **47** (Suppl 1), A368-A369, P1029.

C4. Philips J-C, Marchand M, Scheen AJ.

Augmentation plus marquée de la pression pulsée avec l'âge chez les femmes que chez les hommes présentant un diabète de type 1.

Diabetes & Metabolism 2009, 35 (Suppl 1), A35.

C5. Scheen AJ, Marchand M, Philips J-C

Remarquables corrélations entre le gain baroréflexe, le stress pulsatile et la présence d'une microalbuminurie dans la population diabétique de type 1.

Diabetes & Metabolism 2011, 37 (Suppl 1), A45-46.

C6. Scheen AJ, Philips JC, Marchand M.

Decreased baroreflex gain more strongly predicts microalbuminuria and increased pulsatile stress than decreased RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes.

Diabetologia 2011, 54, (Suppl 1), S464, 1149.

C7. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Baroreflex gain is more efficient than RR E/I ratio to detect progression of cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetes patients.

In : Abstract Book of the World Diabetes Congress (International Diabetes Federation), 2011;422:P-1289.

C8. Scheen A, Marchand M, Philips JC.

Relations entre gain baroréflexe et stress pulsatile chez le patient diabétique de type 1.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux - Pratique 2011, Hors Série 3, 36-37, CO-58.

ANNEXE A : Articles de revue

A1. Philips J-C, Marchand M, Scheen AJ

La neuropathie autonome cardiaque diabétique.

Revue Médicale de Liège 2005;60:498-504.

A2. Scheen AJ, Philips JC.

Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity.

Clinical Autonomic Research 2012; 22: 35-41.

A3. Philips JC, Scheen AJ.

Squatting test: A posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction.

Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical 2011;162:3-9.

A4. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Squatting, a posture test for studying cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes.

Diabetes & Metabolism 2011;37 :489-96.

LA NEUROPATHIE AUTONOME CARDIAQUE DIABÉTIQUE

J-C. PHILIPS (1), M. MARCHAND (2), A.J. SCHEEN (3)

RÉSUMÉ : La neuropathie autonome cardiaque (NAC) est une complication fréquente du diabète sucré, associée à un risque accru de morbi-mortalité. Elle peut être détectée en étudiant les variations spontanées (enregistrement Holter) ou provoquées (batterie de tests d'Ewing) de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle. Le gain baro-réflexe est un indice particulièrement intéressant à étudier. Notre laboratoire a acquis une grande expérience dans l'exploration de la NAC chez les patients diabétiques, grâce au recours au Finapres®, appareil qui permet un enregistrement non invasif continu de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque au bout du doigt, et à un test d'orthostatisme actif particulier et discriminant, le test de «squatting» (debout-accroupi-debout).

MOTS-CLÉS : *Diabète sucré – Neuropathie autonome cardiaque – Fréquence cardiaque – Pression artérielle*

INTRODUCTION

La neuropathie autonome cardiaque (NAC) est une des complications les plus fréquentes du diabète sucré. Elle reste cependant la moins étudiée sur le plan pratique et fait figure de «parent-pauvre» en comparaison avec l'intérêt pour les autres complications de micro et macro-angiopathie (néphropathie, rétinopathie, coronaropathie). En effet, malgré une prévalence élevée et une relation évidente avec la survenue d'événements cardio-vasculaires, sa recherche systématique, sa quantification précise et, davantage encore, son traitement restent largement insuffisants. Certaines explications quant à ce moindre impact (sur les médecins et, donc, sur les patients) de cette complication résident, au moins en partie, dans un certain manque d'harmonisation dans son diagnostic et dans les incertitudes en ce qui concerne les stratégies de prise en charge.

La NAC a, dans son évolution ultime, une traduction clinique grave sous la forme d'une hypotension orthostatique sévère, et son influence en terme de pronostic vital n'est pas négligeable à ce stade. Cependant, elle peut être beaucoup plus insidieuse, tout en étant déjà accompagnée d'une morbidité accrue, et il existe plusieurs techniques pour la dépister précocement. Le laboratoire du Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies Métaboliques du CHU de Liège a acquis une grande expérience dans ce domaine grâce à une technique non inva-

DIABETIC CARDIAC AUTONOMIC NEUROPATHY

SUMMARY : Cardiac autonomic neuropathy (CAN) is a common complication of diabetes mellitus, which is associated with a higher risk of morbidity and mortality. It can be detected by analyzing spontaneous (Holter) or provoked (Ewing's test battery) changes in heart rate and arterial blood pressure. Baroreflex gain is a specific index of great interest. Our laboratory has acquired a large experience in the assessment of CAN in diabetic patients. We use the Finapres®, a device that allows continuous noninvasive monitoring of blood pressure and heart rate, and a special and discriminative active orthostatic manoeuvre, the «squatting» test (standing-squatting-standing).

KEYWORDS : *Diabetes mellitus – Cardiac autonomic neuropathy – Heart rate – Blood pressure*

sive et très informative faisant appel à un enregistrement continu non invasif de la fréquence cardiaque (FC) et de la pression artérielle (PA) dans différents tests dynamiques simples à réaliser (1).

DÉFINITION ET PRÉVALENCE

La neuropathie diabétique peut être divisée schématiquement en atteintes périphériques, touchant surtout les membres inférieurs (polynévrite sensitivo-motrice distale), et en atteintes autonomes, touchant alors les différents systèmes (cardio-vasculaire, digestif, uro-génital et même broncho-pulmonaire) (2,3).

La NAC est définie comme une anomalie du système nerveux autonome, sympathique et parasympathique, et peut être reconnue sur base d'éléments cliniques ou «subcliniques» (tests de dépistage positifs). Le diagnostic de la NAC, tout comme celui de la neuropathie périphérique, peut être suggéré sur base de plusieurs symptômes et signes (4). La fatigue, la faiblesse, les sensations vertigineuses, une vue trouble et parfois une syncope après un passage de la position couchée à la position debout sont les signes d'appel de l'hypotension orthostatique. Celle-ci est responsable de la grande majorité des plaintes évoquées par les patients souffrant de NAC. L'hypotension orthostatique, vérifiée lors d'un examen clinique standard, n'est cependant pas pathognomonique de la NAC et, par ailleurs, son absence n'exclut nullement cette dernière. D'autres complications cardio-vasculaires sont possibles tels que la tachycardie fixe et les troubles vasomoteurs périphériques, avec comme complication ultime la mort subite. Des atteintes d'autres systèmes peuvent être suspectées en présence de plaintes évocatrices de ves-

(1) Résident-spécialiste; (2) Technicienne, Responsable de l'Unité d'exploration fonctionnelle circulatoire; (3) Professeur ordinaire, Université de Liège, Chef de Service, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies Métaboliques, Département de Médecine, CHU Sart Tilman.

sie neurogène, de dysfonction érectile, de gastroparésie, de diarrhée motrice souvent nocturne et d'hypoglycémies à répétition (favorisées par une contre-régulation adrénargique abolie et une vidange gastrique erratique) (2,4,5).

Outre les indices cliniques, le diagnostic de la NAC peut reposer sur différents tests de dépistage. Des tests simples permettent, en effet, de reconnaître la NAC à un stade précoce. Il s'agit notamment de l'étude de la perte de la variabilité de la FC lors de tests standardisés (respiration forcée, manœuvre de Valsalva, test d'orthostatisme) (*vide infra*).

La NAC est une complication très fréquente du diabète sucré et la prévalence varie de 2,4% dans une population chez qui on vient de poser un diagnostic de diabète à plus de 36 % dans certaines grandes cohortes de patients diabétiques (de type 1 notamment). Les tests basés sur la variation de la FC sont positifs dans 20 à 60 % de la population diabétique et sous-entendent que la présence d'une NAC précède largement la survenue de l'hypotension orthostatique et son cortège de symptômes (6). On remarque parfois la survenue d'une NAC dès les premières années après la survenue du diabète et il est maintenant établi que la NAC ne doit pas être perçue comme une complication tardive, et sans conséquence, dans l'évolution du sujet diabétique.

IMPORTANCE DE LA NAC ET FACTEURS DE RISQUE

Les différentes causes classiques de mortalité du patient diabétique sont plus élevées chez les sujets atteints de NAC. En effet, cette mortalité excessive pourrait être expliquée par une incidence plus élevée d'infarctus silencieux du myocarde, une mortalité accrue après un infarctus du myocarde, un allongement de l'intervalle QT responsable de mort subite et, enfin, un plus haut risque de présenter une néphropathie, sans doute par trouble de l'hémodynamique rénale (7).

La physiopathologie de la NAC reste malheureusement encore très peu connue et cet élément reste un obstacle majeur pour l'élaboration de traitements adéquats. Des phénomènes de dégradation neuronale en rapport avec l'hyperglycémie, une atteinte des petits vaisseaux sanguins irriguant les nerfs (*vasa nervorum*) ainsi que des facteurs immunologiques (présence d'auto-anticorps) ont été identifiés. Cependant, la séquence et l'implication exacte de ces différents phénomènes restent largement méconnues (5,8).

Tout comme l'atteinte dite périphérique (2,3), la NAC est très influencée par la durée du diabète et la qualité d'équilibration de celui-ci. Ces

éléments restent les principaux facteurs de risque pour la survenue de cette complication. Durant les 5 ans de suivi de la grande étude «Diabetes Control and Complications Trial» (DCCT) chez des patients diabétiques de type 1, le traitement dit «intensif» du diabète (abaissant le taux moyen d'hémoglobine glyquée [HbA_{1c}] de 9,0 à 7,2 %) a permis une réduction de 53% de l'incidence de la NAC (9). Néanmoins, ni un excellent contrôle du diabète au long cours, ni un diagnostic récent de diabète n'excluent la présence d'une NAC chez certains patients, laissant ainsi supposer que d'autres facteurs jouent un rôle important. Récemment, la cohorte de patients diabétiques de type 1 de EURODIAB (plus de mille patients) a été étudiée pour évaluer, entre autres complications, la survenue de la neuropathie diabétique, périphérique et autonome (10). La survenue de la NAC, en particulier, a fait l'objet d'une publication spécifique indiquant que, après un suivi moyen de 7 ans, la NAC était diagnostiquée chez 17 % des patients (11). Il est important de signaler que les critères de définition de la NAC utilisés dans cette étude étaient particulièrement sévères et qu'une incidence plus importante aurait été retrouvée avec des critères moins stricts, plus fréquemment utilisés. En résumé, l'étude de cette population a confirmé l'importance de la durée du diabète et de l'équilibration du diabète comme facteurs prédictifs de survenue d'une NAC. Après ajustement pour le sexe, la durée du diabète et l'HbA_{1c}, d'autres éléments ont également été identifiés comme facteurs de risque significatifs pour le développement d'une NAC : la pression artérielle, le poids, la présence de maladie cardio-vasculaire au départ, l'albuminurie et la présence initiale d'une neuropathie périphérique ou d'une rétinopathie (10,11). Certains de ces facteurs de risque étant considérés comme «modifiables», il apparaît donc utile de les combattre avec la plus grande rigueur.

Cette notion n'est, bien entendu, pas une nouveauté en diabétologie, mais elle confirme l'importance de l'acharnement dont les médecins doivent faire preuve lorsqu'ils suivent et traitent les patients diabétiques, qu'ils soient de type 1 ou de type 2. Dans l'étude STENO-2 réalisée chez des patients de type 2, une approche intensive multi-risque a permis de réduire fortement l'incidence de la NAC (- 63 % ; $p < 0,002$ après ajustement pour différents facteurs de confusion) après un suivi de quelque 8 années, par rapport à un groupe de patients traités de façon conventionnelle. Curieusement, dans cette étude, il n'y avait pas, concomitamment de

réduction significative en ce qui concerne la neuropathie périphérique (12).

COMMENT DÉTECTER LA NAC ?

1) BATTERIE CLASSIQUE DES TESTS DE PROVOCATION D'EWING

De manière schématique, la NAC peut être suspectée de manière précoce si on observe un amortissement ou une perte de la variabilité sinusale, en particulier de l'arythmie respiratoire observée lors d'une respiration forcée (voir ci-dessous). Ensuite, une tachycardie de repos relativement fixe traduit une dénervation parasymphatique et, enfin, la survenue d'une hypotension orthostatique témoigne d'une absence de vasoconstriction périphérique, associée à la perte de la tachycardie réflexe, et indique une atteinte sympathique plus prononcée (13).

a) Variations de la fréquence cardiaque (ou des espaces R-R)

L'étude des variations de la FC explore essentiellement la fonction parasymphatique. La présence ou non d'une NAC est souvent recherchée par l'étude des variations des intervalles électrocardiographiques R-R lors de trois tests simples standardisés par Ewing et son équipe (14). L'indice le plus souvent utilisé est le rapport entre l'intervalle R-R maximum et l'intervalle R-R minimum; plus ce rapport est proche de l'unité, plus la NAC est sévère. Il est important de comparer les résultats obtenus chez des patients diabétiques aux résultats de sujets sains appariés pour l'âge puisqu'il existe une perte progressive de la variabilité sinusale en fonction de l'âge. Les trois tests généralement utilisés sont la respiration forcée («deep breathing»), la manœuvre de Valsalva et le test d'orthostatisme (Tableau I).

La respiration forcée à six cycles par minute est le test le plus fréquemment utilisé en clinique pour dépister la présence d'une NAC. Elle permet de bien étudier l'arythmie respiratoire (Fig. 1). Pour rappel, le nerf vague est responsable des variations de FC observées lors de ce test (tachycardie à l'inspiration et bradycardie à l'expiration). Le rapport entre les espaces R-R maximum (phase expiratoire) et les R-R minimum (phase inspiratoire), appelé E/I ratio, donne un indice qui est précocement altéré (diminution d'autant plus marquée que l'atteinte est sévère), bien avant toute manifestation clinique de la NAC.

Le même rapport des intervalles R-R maximum et minimum peut être calculé lors de la manœuvre de Valsalva : la tachycardie qu'induit celle-ci est liée à une stimulation orthosymphatique (en rapport avec la chute de pression arté-

TABLEAU I : TESTS ET INDICES PERMETTANT D'ÉVALUER LA NEUROPATHIE AUTONOME CARDIAQUE. PA : PRESSION ARTÉRIELLE. PAS : PA SYSTOLIQUE. PAD : PA DIASTOLIQUE. FC : FRÉQUENCE CARDIAQUE.

Tests	Indices
1) Battering d'Ewing	
a) Mesure de la FC (ou espaces R-R)	
Respiration forcée ("deep breathing")	E/I ratio
Couché-debout	R-R 30/R-R 15
Valsalva	R-R max / R-R min
b) Mesure de la PA	
Couché-debout	_ exagérée PAS
Contraction isométrique («handgrip»)	_ insuffisante PAD
2) Variabilité sinusale spontanée (enregistrement Holter)	
a) Analyse temporelle	SDNN, PNN50
b) Analyse spectrale	HF, LF, LF/HF
c) Baro-réflexe spontané	indice BRS
(si enregistrement concomitant de la PA)	
3) Test de « squatting »	
a) Indices basés sur la fréquence cardiaque	SqTv, SqTs
b) Gain baro-réflexe	R-R/PA
(si enregistrement concomitant de la PA)	(en msec/mmHg)

rielle secondaire à la diminution du retour veineux) et le relâchement est caractérisé par une bradycardie médiée par l'activation du système parasymphatique.

Enfin, le test d'orthostatisme étudie le passage de la position couchée à la position debout et fait intervenir le réflexe baro-sensible. On observe d'abord une tachycardie (souvent maxi-

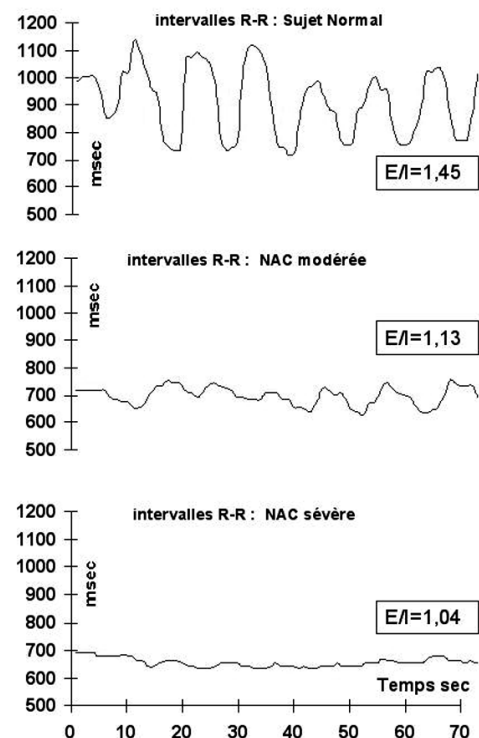


Fig. 1 : Illustration de l'arythmie respiratoire lors du test de «deep breathing» (respiration forcée à 6 cycles par minute). La diminution du rapport E/I des espaces R-R traduit la présence d'une neuropathie autonome cardiaque (parasymphatique) de sévérité progressivement croissante.

male 15 battements après le redressement), suivie d'une bradycardie (maximale après 30 battements). Le rapport entre les intervalles R-R mesurés respectivement 30 et 15 battements suivant le redressement peut également être utilisé en routine clinique.

b) Variations de la pression artérielle

Les variations de la PA peuvent apporter des informations complémentaires, notamment sur une éventuelle atteinte sympathique, et leur étude est donc complémentaire de celles de la FC. Elles peuvent être étudiées soit lors d'un test d'orthostatisme, soit lors d'une manœuvre de contraction musculaire isométrique de la main à l'aide d'un dynamomètre («handgrip»), deux manœuvres qui entraînent une stimulation orthosympathique. Si celle-ci est présente, la vasoconstriction périphérique qui en résulte permet de limiter la chute de la PA systolique à l'orthostatisme (< 30 mm Hg) et de réaliser une augmentation suffisante de la PA diastolique lors de la contraction isométrique (> 10 mm Hg). Force est cependant de reconnaître que ces variations de PA sont beaucoup moins recherchées en clinique, et même en recherche, essentiellement parce qu'elles sont moins faciles à mesurer en continu (voir plus loin) que celles de la FC qui peuvent être suivies par un simple électrocardiogramme. En pratique, beaucoup se contentent de la classique recherche d'une hypotension orthostatique, définie par une chute de PA de plus de 30 mm Hg lors du passage de la position couchée à la position debout, mesure qui peut être faite aisément au cabinet médical.

2) ÉTUDE DE LA VARIABILITÉ SINUSALE SPONTANÉE

Même en l'absence de stimuli externes, des modifications périodiques de FC s'observent. Les variations rapides de FC sont secondaires à la respiration et se produisent tout au long du nyctémère; elles sont étroitement liées à l'activation du système parasympathique. Des variations très lentes seraient liées, entre autres, à des modifications neuro-humorales. Ces modifications permanentes de FC, appelées variabilité de FC ou HRV (pour «Heart Rate Variability»), peuvent être mesurées au moyen de différentes techniques. Plusieurs études ont démontré que l'étude de la variabilité sinusale pouvait apporter des informations précieuses à la fois sur l'activité du système nerveux autonome et sur l'«état de santé global» du cœur (15).

Il existe deux grands types de méthode pour étudier la variabilité sinusale spontanée chez un individu donné : 1) analyse dans le domaine temporel, donnant plusieurs indices comme le

SDNN et le PNN50, sensibles aux variations rapides de FC et bons marqueurs du système parasympathique; et 2) analyse dans le domaine spectral, permettant d'analyser différentes bandes de fréquence : «very low frequency» (VLF : < 0,04 Hz), probablement en rapport avec des mécanismes de régulation à long terme comme la thermorégulation ou via certaines hormones; «Low Frequency» (LF : 0,04 – 0,15 Hz), représentant essentiellement l'activation du système sympathique; et «High Frequency» (HF : 0,15 - 0,4 Hz), reflet de l'activité du système parasympathique (15). Le rapport HF/ LF est souvent utilisé pour évaluer la balance parasympathique/sympathique.

L'analyse par un programme informatique des variations spontanées de FC et de PA permet le calcul d'un baroréflexe «spontané». La méthode séquentielle est basée sur l'identification par l'ordinateur, dans le domaine temporel, de séquences de trois battements successifs (ou plus) au cours desquels on observe une élévation progressive de la pression artérielle et, en conséquence, un accroissement de la longueur des intervalles R-R correspondants ou l'inverse. La moyenne des pentes des droites de régression construites à partir de ces triplets de points représente l'indice BRS (baroréflexe spontané) et est considérée comme le reflet de l'efficacité du baroréflexe. La méthode spectrale (coefficient α) et la méthode auto-régressive sont deux autres techniques permettant le calcul du baroréflexe spontané sur base de différents modes d'analyse mathématique (15).

3) AUTRES TECHNIQUES

D'autres techniques (ou la combinaison de plusieurs d'entre-elles) peuvent aussi étudier les résistances périphériques et le débit cardiaque : ces mesures offrent la possibilité de mieux étudier la riposte sympathique vasoconstrictrice normalement présente lors d'une hypotension et, à l'opposé, son déficit en présence d'une neuropathie autonome touchant le versant sympathique. Enfin, il a été rapporté tout récemment qu'un test basé sur la respiration d'un air contenant 35 % de CO₂ permettrait d'observer une réponse du système nerveux autonome; celle-ci est altérée chez les patients diabétiques souffrant de CAN (pas de bradycardie induite par le CO₂, contrairement à ce qui est observé chez les sujets sains ou diabétiques sans NAC) (16).

LA NAC DANS LE DIABÈTE DE TYPE 1, L'EXPÉRIENCE LIÉGEOISE

Nous présentons brièvement quelques résultats de notre expérience de recherche dans le domaine de la NAC (1).

1) APPAREIL DE MESURE

Depuis une quinzaine d'années, nous utilisons, dans notre laboratoire au CHU de Liège, un appareil dénommé Finapres® (Ohmeda, Louisville, CO, USA). Les caractéristiques et les potentialités, en détails, de cet équipement ont été rapportés dans un article récent dans la Revue Médicale de Liège (17). Cet appareil permet une mesure non invasive, continue (c'est-à-dire cycle par cycle) de la PA systolodiastolique. La mesure est obtenue grâce à une micro-manchette pléthysmographique, généralement placée sur la deuxième phalange du majeur, en faisant appel à une méthode photoélectrique. Ce système est particulièrement utile pour étudier les variations rapides de PA, par exemple lors des changements posturaux. La connexion du Finapres® à un ordinateur permet d'enregistrer en continu différentes données telles que les PA systolique, diastolique, moyenne (PA systolique + 2 x PA diastolique / 3) et pulsée (PA systolique - PA diastolique), de même que la FC.

2) TEST D'ORTHOSTATISME : «SQUATTING»

Outre les différents tests de la batterie d'Ewing, nous avons privilégié une manœuvre d'orthostatisme particulièrement intéressante, à savoir le «squatting» (18). Il s'agit d'un redressement actif de la position accroupie à la position debout. Ce test (1 min debout - 1 min accroupi - 1 min debout) paraît être une manœuvre à la fois sensible et reproductible (1). Des indices d'évaluation de l'activité vagale

(SqTv) et sympathique (SqTs) ont été proposés à partir des variations de la seule fréquence cardiaque pendant le squatting et après le redressement (19,20). Nous avons plutôt privilégié l'analyse simultanée de la FC et de la PA (1). Les patients diabétiques avec une NAC sévère sont caractérisés par une hypertension en position accroupie et par une hypotension orthostatique, plus marquée et surtout plus prolongée, lors du redressement avec, dans le même temps, un amortissement important des variations de la FC (moins bradycardie en position accroupie et moins tachycardie lors du redressement). Les variations de la FC et de la PA lors d'un test de squatting ont déjà été illustrées précédemment (17).

Le gain baro-réflexe est un indice utile qui peut être déterminé lors de ce test : il représente la modification de l'intervalle R-R par variation de PA lors du redressement, période durant laquelle la PA moyenne et la FC varient «en miroir» : il est exprimé en msec/mmHg (1) (Figure 2).

3) POPULATION DIABÉTIQUE DE TYPE 1 ÉTUDIÉE

Le souhait d'étudier essentiellement les patients diabétiques de type 1 réside dans le fait que ces patients sont plus jeunes que les sujets diabétiques de type 2 et qu'ils constituent une population plus homogène. Ceci permet de réduire les risques d'«interférences» pour les données recueillies au travers des différents tests décrits ci-dessus. En effet, les patients diabétiques de type 1 souffrent moins souvent d'arthrose aux genoux ou aux doigts (pathologie qui peut poser des problèmes pour la réalisation du squatting et/ou l'enregistrement fiable de la PA au bout du doigt), ont moins d'antécédents cardio-vasculaires non liés au diabète et, surtout, prennent moins de médicaments susceptibles

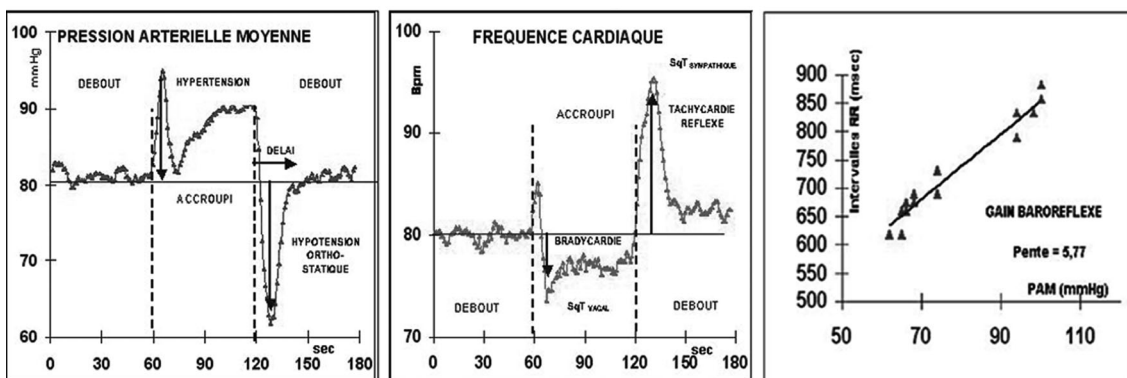


Figure 2 : Illustration des variations en miroir de pression artérielle et de fréquence cardiaque lors d'un test de squatting, permettant le calcul du gain baroréflexe par l'analyse de la pente de corrélation liant les intervalles cardiaques R-R et les modifications de pression artérielle lors de la phase de transition accroupi-debout. Une diminution de la pente de corrélation (partie droite de la figure) traduit une réduction du gain baro-réflexe et la présence d'une neuropathie autonome.

d'interférer avec les indices étudiés lors de ces tests.

4) RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX RÉSULTATS

Les principales observations qui ont pu être obtenues dans cette population de patients diabétiques de type 1 étudiés au CHU de Liège peuvent être résumées de la façon suivante (1) :

- Le «squatting» est un test d'orthostatisme discriminant et reproductible : il permet le calcul du gain baro-réflexe qui diminue avec l'âge dans une population adulte normale et d'objectiver la présence, la sévérité et la progression d'une NAC.

- Le gain baro-réflexe calculé lors du «squatting» est significativement abaissé chez les patients diabétiques de type 1 avec NAC (dépis-tée par un ratio E/I abaissé) en comparaison à la même population sans NAC ainsi que des sujets sains appariés.

- La durée du diabète influence significativement la survenue d'une NAC : les stigmates de la NAC sont particulièrement importants après 20 années d'évolution de diabète, mais il est possible de la détecter à des stades précoces.

- Chez des patients diabétiques de longue date, un mauvais équilibre glycémique de quelques années (3 à 4 ans) est suffisant pour altérer le gain baro-réflexe.

- Les patients diabétiques avec microalbuminurie pathologique présentent des signes de NAC plus marqués que ceux exempts de microalbuminurie, même si les deux pathologies peuvent être dissociées.

- La PA pulsée, un facteur de risque cardio-vasculaire indépendant, augmente avec la durée du diabète, indépendamment de l'âge.

TRAITEMENT

On ne peut pas réellement parler de traitement dans le cadre de cette complication du diabète, mais plutôt de conseils à mettre en œuvre pour limiter l'impact clinique de la NAC ou alors de nouvelles perspectives, certes pleines d'espoirs, mais encore à l'état de recherche. En effet, la physiopathologie de la NAC n'étant pas clairement élucidée, il n'est guère possible actuellement de proposer un traitement étiologique.

Différentes mesures pratiques ont déjà été évoquées et restent importantes pour réduire les problèmes en rapport avec l'hypotension orthostatique (21). Elles comprennent des approches mécaniques (port de bas de contention, par exemple) ou pharmacologiques (9-alpha-fluohydrocortisone pour augmenter la masse sanguine

ou, encore, médicaments potentiellement vasoconstricteurs).

A titre plus expérimental, plusieurs molécules ont été étudiées ou sont toujours en cours d'investigation dans l'espoir d'aider les patients qui présentent une NAC sévère. Ainsi, la midodrine et d'autres sympathicomimétiques tels que l'éphédrine et des agonistes- α pourraient être utiles. Des agents comme la clonidine ou la yohimbine semblent utiles dans la décompensation autonome et l'érythropoïétine est également étudiée comme traitement possible de l'hypotension orthostatique (grâce à l'augmentation de la masse sanguine). Enfin, des techniques neurochirurgicales tentant d'améliorer le système baro-réflexe sont en voie d'investigations (22,23) et des effets favorables ont parfois été rapportés après des séances d'électro-acupuncture (24).

CONCLUSIONS

La NAC est une complication fréquente chez le patient diabétique. Son impact en terme de complications cardio-vasculaires ainsi que de morbidité/mortalité indique qu'il est utile de la dépister. Plusieurs méthodes d'évaluation des différents réflexes du système nerveux autonome cardiaque existent et plusieurs d'entre elles ne nécessitent pas d'exploration invasive. Les différents tests réalisés au sein de notre laboratoire permettent une mesure continue de la FC et de la PA grâce au Finapres®. L'étude de ces paramètres lors d'un redressement actif tel que le «squatting» permet de calculer le gain baro-réflexe qui est un excellent marqueur de la NAC et qui diminue rapidement au fil de l'évolution chez de nombreux patients diabétiques de type 1. La prévalence et la sévérité de la NAC dans cette population dépendent de la durée de la maladie ainsi que de l'équilibre glycémique (quelques années de mauvais contrôle suffisent pour développer ou aggraver une NAC). Cette diminution du gain baro-réflexe est associée à la présence d'autres complications du diabète, l'atteinte rénale précoce (présence d'une microalbuminurie), par exemple. Il est possible d'établir différentes combinaisons de tests diagnostiques capables d'identifier cette complication à un stade très précoce. Ce diagnostic est important pour le suivi de ces patients (importance d'un bon équilibre métabolique et attention particulière à certains autres facteurs de risque), en attendant des traitements plus spécifiques.

RÉFÉRENCES

1. Geronooz I, Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.— Cardiovascular autonomic neuropathy : an underestimated complication. In : *Clinical implications of Belgian Diabetological Research* (Eds : De Leeuw I, Lefèbvre P), Belgian Diabetes Study Group, 2004, 69-81.
2. Scheen AJ.— La neuropathie diabétique : données épidémiologiques et prédictives. *Diab Metab*, 1998, **24** (suppl 3), 45-49.
3. Dive D, Lievens I, Moonen G, Wang FC.— La neuropathie diabétique périphérique. *Rev Med Liège*, 2005, **60**, 490-497.
4. Low PA, Benrud-Larson LM, Sletten DM, et al.— Autonomic symptoms and diabetic neuropathy : a population-based study. *Diabetes Care*, 2004, **27**, 2942-2947.
5. Vinik A, Maser R, Mitchell B, et al.— Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*, 2003, **26**, 1553-1579.
6. Ziegler D, Dannehl K, Muhlen H, et al.— Prevalence of cardiovascular autonomic dysfunction assessed by spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses at various stages of diabetic neuropathy. *Diabet Med*, 1992, **9**, 806-814.
7. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, et al.— The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*, 2003, **26**, 1895-1901.
8. Ziegler D, Sohr CG, Nourooz-Zadeh J.— Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic polyneuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabetes Care*, 2004, **27**, 2178-2183.
9. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.— The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New Engl J Med*, **329**, 977-986.
10. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, et al.— Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med*, 2005, **352**, 341-350.
11. Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, et al.— Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2005, **48**, 164-171.
12. Gaede P, Vedel P, Larsen N, et al.— Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 2003, **348**, 383-393.
13. Valensi P, Gautier JF, Amarenco G, et al.— Recommandations de l'ALFEDIAM. Neuropathie autonome chez le diabétique. *Diab Metab*, 1997, **23**, 89-99.
14. Ewing D, Martin C, Young R, et al.— The value of cardiovascular autonomic function tests : 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care*, 1985, **8**, 491-498.
15. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.— Heart rate variability : standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*, 1996, **93**, 1043-1065.
16. Kaye JM, Corral RJ, Lightman SL.— A new test for autonomic cardiovascular and neuroendocrine responses in diabetes mellitus: evidence for early vagal dysfunction. *Diabetologia*, 2005, **48**, 180-186.
17. Scheen AJ, Geronooz I, Marchand M.— Le Finapres® une technique performante pour évaluer l'hypotension orthostatique, la neuropathie autonome et la syncope vaso-vagale. *Rev Med Liège*, 2001, **56**, 577-582.
18. Roosberg F, Penaz J.— Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol*, 1988, **57**, 93-97.
19. Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, et al.— Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care*, 1994, **17**, 149-151.
20. Marfella R, Giugliano D, di Maro G, et al.— The squatting test. A useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes*, 1994, **43**, 607-12.
21. Scheen AJ.— Comment je traite...Un patient avec hypotension orthostatique. *Rev Med Liège*, 1997, **52**, 134-137.
22. Sato T, Kawada T, Sugimachi M, et al.— Bionic technology revitalizes native baroreflex function in rats with baroreflex failure. *Circulation*, 2002, **106**, 730-4.
23. Yanagiya Y, Sato T, Kawada T, et al.— Bionic epidural stimulation restores arterial pressure regulation during orthostasis. *J Appl Physiol*, 2004, **97**, 984-990.
24. Zhou W, Fu LW, Tjen-A-Looi SC, et al.— Afferent mechanisms underlying stimulation modality-related modulation of acupuncture-related cardiovascular responses. *J Appl Physiol*, 2005, **98**, 872-880.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr. J-C. Philips, Service de Diabétologie, CHU Sart Tilman, B- 4000 Liège. Email : jcphilips@ulg.ac.be

Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity

André J. Scheen · Jean-Christophe Philips

Received: 14 January 2011 / Accepted: 7 July 2011 / Published online: 4 August 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract

Introduction Squatting is an active posture test that can be used to assess baroreflex sensitivity. Indeed, the shift from squatting to standing imposes a major orthostatic stress leading to rapid and large changes in arterial blood pressure (BP) and heart rate (HR) allowing precise baroreflex assessment.

Material and methods BP and HR can be continuously and non-invasively monitored with a Finapres device.

Results The standing to squatting transition is accompanied by rises in BP, pulse pressure and cardiac output, mainly due to increased venous return, and by a secondary reduction in HR. Conversely, the squatting to standing transition is associated with an immediate drop in BP and both reflex tachycardia and vasoconstriction. This mirror changes in BP and HR, mimicking those observed with the classical pharmacological approach using vasopressor/vasodilating agents, allows the calculation of the so-called baroreflex gain.

Discussion The present review describes the haemodynamic changes occurring in normal subjects during the shifts from standing to squatting and from squatting to standing and discusses the underlying cardiovascular and autonomic mechanisms.

Conclusion This careful analysis in healthy individuals should help in the understanding of disturbances that may be observed in patients with autonomic dysfunction, such

as in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy.

Keywords Baroreflex · Blood pressure · Finapres · Heart rate · Orthostatic hypotension · Squatting

Introduction

Although arterial blood pressure (BP) is regulated via the interaction of various local, humoral and neural factors, acute BP regulation during posture changes mainly involves baroreflexes. In response to baroreceptor activation/deactivation, key determinants of BP, such as cardiac period (RR interval)/heart rate (HR) (via the sympathetic and parasympathetic nervous system) and vascular resistance (via the sympathetic nervous system), are modified to maintain BP homeostasis [1]. In normal subjects, BP is tightly regulated and the variations are generally of limited amplitude and, even more typically, of short duration despite acute postural changes. However, alterations in baroreflex function with age may explain the higher risk of postural hypotension in elderly people [2]. Furthermore, several pathological entities may be associated with autonomic disorders and dysregulation of BP homeostasis leading to orthostatic hypotension and syncope as most obvious adverse events [3, 4].

Non-invasive continuous monitoring of systolic and diastolic BP together with HR, using the servoplethysmomanometry and the volume clamp technique at the finger level (Finapres[®], Finometer[®]), has greatly facilitated the study of haemodynamic changes during postural tests in both clinical research and practice [5, 6]. Similar information can be obtained with non-invasive Finapres[®] BP recordings as with invasive intra-arterial pressure

A. J. Scheen (✉) · J.-C. Philips
Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders,
Department of Medicine, CHU Liège, University of Liège,
CHU Sart Tilman (B35), 4000 Liège 1, Belgium
e-mail: andre.scheen@chu.ulg.ac.be

measurements (considered as the gold standard method) for the assessment of the continuous BP responses to orthostatic stress [5].

Various posture tests are classically used to assess haemodynamic orthostatic adaptation and autonomic function. The most popular posture test in clinical research is the passive head-up tilt table test at 70°. Alternatively, an active manoeuvre, the so-called squatting test, produces even a stronger acute orthostatic stress when the subject stands up [7]. Careful analysis of BP and HR changes during both transition states, from standing to squatting and from squatting to standing, respectively, provides interesting information as far as performance of baroreflexes and haemodynamic homeostasis [6]. For instance, the analysis of HR and BP changes occurring during a squatting test has been used by our group in patients with diabetes mellitus to assess orthostatic hypotension [7], cardiovascular autonomic neuropathy [7, 8] and pulsatile stress [8].

The present article is the first review paper written in English that systematically analyses the haemodynamic changes during standing–squatting–standing transitions in healthy subjects allowing the calculation of the so-called baroreflex gain. It aims at summarizing all the pertinent data published in the literature when using this active postural test to assess baroreflex sensitivity. This careful analysis of physiological changes during the transition from standing to squatting and from squatting to standing is a prerequisite before considering corresponding changes in subjects with autonomic dysfunction, such as diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy [4].

Changes from standing to squatting

Sharpey-Schafer, in a study of normal subjects performed in 1956, found that squatting caused an increase in systemic arterial BP that was followed by bradycardia [9]. He suggested that squatting increased cardiac output (CO) by increasing venous return, and that the bradycardia was secondary to baroreceptor activity. In 1962, another study showed that squatting from the standing position increased arterial BP, CO and “central blood volume” [10]. All healthy subjects had an immediate increase in systolic BP, diastolic BP and pulse pressure (PP) when they squatted from the standing position. About four beats after squatting there was a bradycardia, which was interpreted as a baroreceptor response to the rise in systolic BP and PP. It has been demonstrated later on that lengthening of the R–R interval during squatting was abolished by atropine [11]. Squatting increased both CO and central blood volume [10]. The steady-state measurements of BP were all higher in the squatting than in the standing position, but were

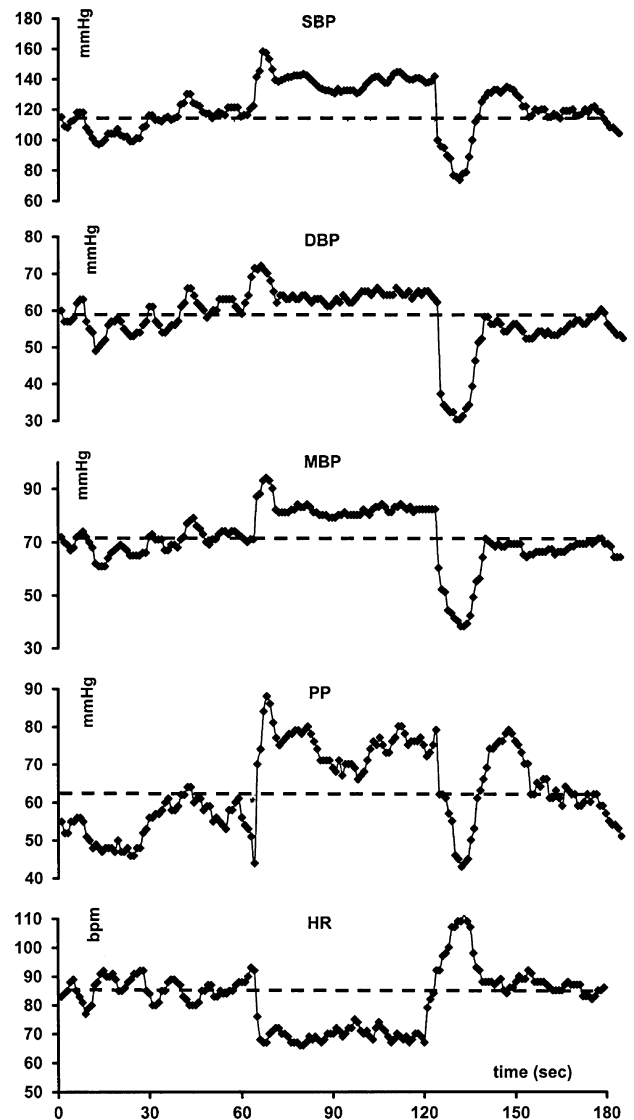


Fig. 1 Haemodynamic changes during standing–squatting–standing in a normal subject. Changes in systolic (SBP), diastolic (DBP) and mean blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) measured continuously with a Finapres® during a standing (0–60 s)—squatting (60–120 s)—standing (120–180 s) postural test in a normal subject. Please note the transient drop in BP with reflex tachycardia after standing up following squatting

always less than the values obtained immediately after squatting (Fig. 1).

Prompt active postural manoeuvres induce an immediate arterial BP variation followed by a period of regulation. In the squatting manoeuvre, initial hypertension was initially explained by a rise of cardiac filling pressure due to “squeezing blood out of the veins of the legs”, leading to an increase in stroke output by Frank-Starling mechanism. The observations of an increase in central blood volume led to the idea of a rise of cardiac filling [10]. For a minor part, it was also explained by “kinking” of the femoral arteries.

However, no such consistent circulatory variations were detected when postural changes were realized in a water tank. Similarly, squatting in the lying position has no significant haemodynamic effects [10, 12]. These observations demonstrate that squatting exerts its main action on the circulation not by kinking arteries and veins to the legs.

The haemodynamic changes induced by squatting are prompt rises in arterial BP and CO, as well [6, 10, 13]. Several reports have shown that squatting increases preload by augmentation of venous return, whereas systemic vascular resistance does not change by squatting [10, 14]. These changes will result in greater increase of systolic BP than of diastolic BP and thus augmentation of PP in squatting as compared to standing position. A study reported a significant increase in systolic/diastolic BP (+6.5/+3.7 mmHg) in healthy female and male adults [15]. Another study elucidated the pulsatile haemodynamic change induced by squatting and concluded that this change is induced by enhanced aortic wave reflection [16]. Although systolic BP (+8.2 mmHg), diastolic BP (+3 mmHg) and PP (+5.2 mmHg) during squatting were higher than those during standing, only the difference in systolic BP was statistically significant. Like in another study [13], we observed a 5–6 mmHg increase in PP in squatting as compared to standing position in normal subjects (Fig. 1). Interestingly, this increase was amplified in patients with long-lasting type 1 diabetes, a finding attributed to increased arterial stiffness [17].

Little data are available concerning the relation between the muscular pumping mechanism and the variation of superficial and deep venous pressure during normal action of the calf pump. A study determined the pressure values in three muscular compartments of the calf and in the deep and the superficial venous system and established correlation between muscular and venous pressure. When healthy young women were squatting, an increase of 414% in the deep posterior muscular compartment pressure, 734% in the superficial posterior compartment and 492% in the anterior tibial compartment was noticed. Thus, the significant boost in the pressure of all muscular compartments can partially explain the rise in the deep and superficial venous pressures and consequently the increased venous return [10]. The increased compartmental and venous pressures link back to the original idea of “squeezing blood out of the veins of the legs”, which in the end looks quite close to the current thoughts of a muscle pump action leading to the initial sharper rise followed by persistently increased venous pressure.

The dynamics of haemodynamic and cardiac changes was investigated in healthy men by comparing non-invasively registered parameters of left ventricular performance in standing (control), at the onset of squatting (‘prompt squat’) and at 2 min of squatting [18]. Squatting produced

decreases in HR, isovolumic contraction time, pre-ejection period and pulse transmission time from onset of depolarisation to the first heart sound, left ventricular ejection time and the ejection time index. These results of systolic time intervals are consistent with the bradycardia and increased ventricular filling induced by squatting. Major changes from control measurements were found at the onset of squatting, showing the impact of prompt squat on left ventricular performance. The effects of changes in posture on left ventricular diameter and function were also studied by echocardiography in healthy children [19]. Squatting was accompanied by an increase in left ventricular cavity dimension, while HR fell slightly and calculated stroke index (+35%) and cardiac index (+33%) increased. Mean BP increased by 19%.

In summary, the transition from squatting to standing elicits muscle pumping and increased venous return, which leads to prompt increases in CO, systolic BP and PP, followed by reflex bradycardia.

Changes from squatting to standing

Squatting to standing involves volume changes and systemic pressure changes. Therefore, the hemodynamic results are due both to activation of volume sensors and pressure sensors. The immediate HR increase upon fast standing is mainly due to vagal withdrawal and then sympathetic activation.

A detailed description of normal haemodynamic changes during the transition from squatting to standing has been reported [6] (Fig. 1). Without exception, the first beat after changing from squatting to standing showed a decrease in systolic BP, diastolic BP and mean BP by 14.6, 10.6 and 13.9 mmHg, respectively. Mean BP reached a minimum of 57.8 mmHg after 7 s. Thereafter, the BP increased to a new level within about 15 s. Most subjects demonstrated a biphasic HR response. The maximum HR was reached after 11 s of standing. Propranolol, a beta-adrenergic blocking agent, markedly attenuated shortening of the R–R interval at standing from squatting [11]. In all experiments, the peaks in HR were distinctly delayed after the BP dips, suggesting that an arterial baroreflex could be implicated in the immediate HR increase. In the same experiments, the influence of posture on the rhythms in BP, HR and respiration was tested by means of spectral analysis [6, 20]. During each posture, the finger BP was recorded non-invasively together with cardiac intervals and respiratory movements. The power spectra obtained from 5-min samples showed that the respiratory components of cardiac interval and PP were reduced significantly in standing. Compared to squatting, a significant increase of total power in the medium frequency band (0.05–0.15 Hz) for cardiac interval, diastolic and mean BP could be detected.

To our knowledge, there is no detailed study reporting the changes in stroke volume and CO during the transition from squatting to standing. In a preliminary study, we combined measurements of stroke volume by bioimpedance cardiography (KardioCom[®]) with measurements of mean arterial BP and HR by the Finapres[®] to derive CO and systemic vascular resistance [21]. We showed that the initial drops in stroke volume and systemic vascular resistance were more marked during the squat–stand transition, leading to a significantly greater initial drop in BP [7], compared to the reference tilt test, especially in diabetic patients with autonomic neuropathy. Over the first 30 s of a head-up tilt test, there is a steady parallel decline of thoracic blood volume and stroke volume; there is also an initial surge of CO followed by a steady decrease [22]. However, several differences may be pointed out between the active squatting to standing transition and the passive head-up tilt table manoeuvre, among which are the absence of kinking of the arteries and the almost absence of active muscular contraction during the tilt test. In contrast, the squatting test is accompanied by a strong muscular contraction leading to increased venous pumping during active stand up [23]. Furthermore, squatting may be described as a fast way of standing, contrasting with tilt that is a slow way of standing. Therefore, the homeostatic mechanisms are the same, but with different quantity of the same time-dependent quality. A carefully performed study compared haemodynamic changes during active standing and following passive 60° tilt in young healthy subjects [24]. BP and HR were continuously recorded by a Finapres[®], and simultaneous beat-to-beat stroke volume was obtained using an ultrasound Doppler technique. Active standing (but not from squatting position in that study) caused a transient but greater reduction of BP (−39 vs. −16 mmHg), and a higher increase of HR (+35 vs. +12 beats/min) than passive tilt during the first 30 s. There was a significantly larger increase in CO during active standing (+37 vs. 0%) and a more marked decrease in total peripheral resistance (−58 vs. −16%). A precipitous rise in intra-abdominal pressure (43 mmHg) could be observed upon rising only in active standing. This was interpreted as an indication of translocation of blood to the thorax. The greater BP reduction in the initial phase of active standing may reflect systemic vasodilatation caused by activation of cardiopulmonary baroreflexes; this is probably due to a rapid shift of blood from the splanchnic vessels in addition to the shift from muscular vessels associated with abdominal and calf muscle contraction [24]. At least similar, and probably even amplified, changes may be expected during the shift from squatting to standing.

An experimental study investigated if the cardiovascular adaptation observed following ten +75° head-up tilts in 70 min would improve the responses to the squatting–standing test

[25]. After repetitive tilting, BP (diastolic more than systolic) was significantly increased during the first 30 s of post-squatting standing when compared with the same test performed before repetitive tilting. In contrast, there were no differences observed in the control group when comparing BP changes during the squat–stand transition before and after 70 min of rest. Thus, cardiovascular responses to the squatting–standing test can be improved with consecutive head-up tilts. This effect is predominantly due to an increase in diastolic BP, indicative of a change in vascular resistance.

In summary, the squat–stand transition provokes an immediate ample reduction in BP, which most probably reflects a decrease in stroke volume and CO, and results in a rapid reflex tachycardia and peripheral vasoconstriction. Therefore, normal baroreflex homeostasis leads to a return to baseline BP and HR within about 15–20 s.

Calculation of the baroreflex gain

The arterial baroreflex is a key mechanism for BP homeostasis and is physiologically relevant as an indicator of autonomic control. The sensitivity, or gain, of the arterial baroreflex is calculated routinely from the relation of tachycardic and/or bradycardic responses to decreases and/or increases in systemic arterial pressure [26, 27]. The classical assessment of baroreflex gain used a pharmacological approach with the infusion of angiotensin or phenylephrine to generate a vasopressor stimulus and of nitroprusside or amyl nitrite to induce vasodilation and BP fall [28, 29]. These pharmacological tools were designed to perturb the system, induce rapid and large HR responses and assess reflex gain. This “gold standard” approach is based on the fact that baroreceptor responses are greatest and most apparent with rapidly changing pressures, as opposed to stationary or minimally changing BP levels [30]. However, this procedure can only be performed in experimental conditions and is not used in clinical practice, leading to the increasing use of spontaneous concomitant changes in HR and BP [26, 27].

However, spontaneous short-term fluctuations in RR interval are not intimately and always linked to those in BP via the baroreflex, and thus simple observation of arterial BP and heart period alone may not reveal the extent of arterial baroreflex involvement [30, 31]. If baroreflex function is to be assessed with the fewest and safest assumptions, the input to the system should be driven externally to create large and apparent responses. A non-invasive method based on BP changes during the late phases of Valsalva manoeuvre was proposed. Indeed, phase IV of the Valsalva manoeuvre is normally characterized by BP overshoot with concomitant reflex bradycardia, allowing to calculate cardiac vagal baroreflex gain [32–35].

Fig. 2 Calculation of the baroreflex gain during a squat–stand test. Mirror image of changes in heart rate (HR) and systolic blood pressure (BP) during the transition from squatting to standing and illustration of the mode of calculation of the baroreflex gain by plotting RR intervals according to systolic BP

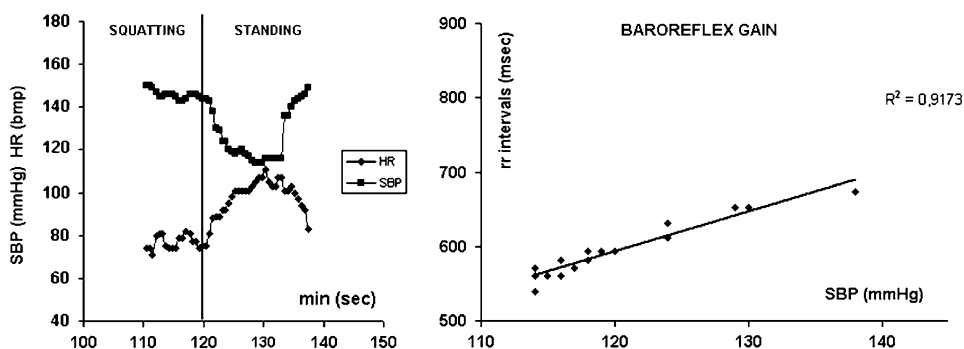
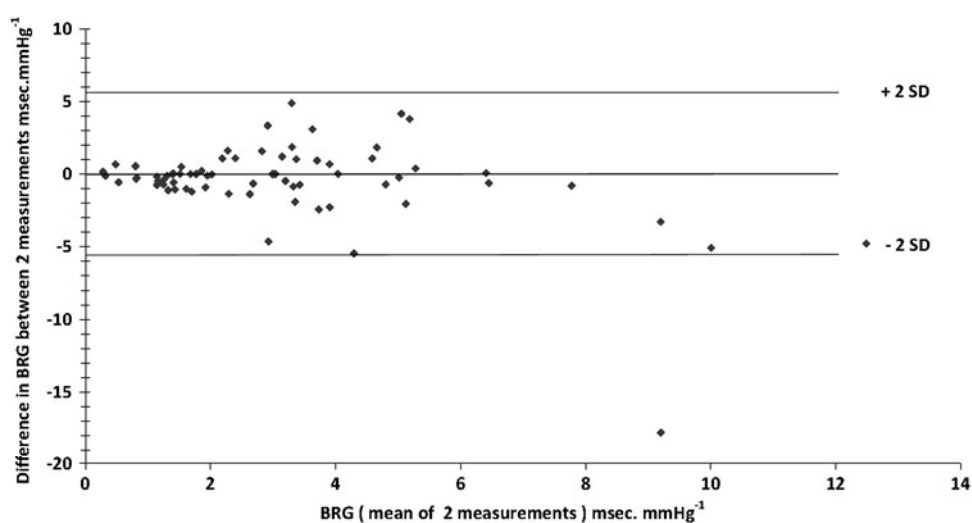


Fig. 3 Reproducibility of baroreflex gain (BRG) during a squat–stand test. Graphic representation according to Bland and Altman [41] of repeated measures of baroreflex gain (BRG) calculated during a squat–stand test. According to this evaluation, 95% of between-test differences are expected to be less than two standard deviations. There does not appear to be any major relation between the between-test difference and the size of the mean BRG. Please note that there is a clear outlier in our series



Cardiovascular barosensitivity can also be studied during early phase II of the Valsalva manoeuvre, which is characterized by a progressive fall in systolic BP associated with reflex tachycardia [36]. Of note, the Valsalva manoeuvre involves an increase in the CO₂, and CO₂ is known to affect the baroreceptor sensitivity. Furthermore, the Valsalva manoeuvre is not an easy test to be performed and standardized, and results may be affected by various confounding factors [37].

The squatting test may be used as an alternative dynamic procedure to assess the baroreflex gain [8, 38, 39]. During the transition from squatting to standing, there is an abrupt drop in BP associated with a reflex tachycardia, and these initial changes are followed by a rapid return to baseline values of both parameters (secondary BP increase and HR decrease) (Fig. 1). Propranolol markedly attenuated reflex tachycardia at standing from squatting [11]. The large mirror changes in HR and systolic BP during a squatting test allow to calculate a baroreflex gain; indeed, such haemodynamic changes are almost similar to those seen when using a vasodilating drug (hypotension with reflex tachycardia) and a vasoconstricting agent (hypertension associated with bradycardia) [26, 38]. The baroreflex gain was calculated by plotting the pulse intervals

(R–R) against systolic BP during the transition phase from squatting to standing (Fig. 2). The slope represents the baroreflex sensitivity [39] and corresponds to changes in pulse intervals per millimetre change in arterial BP. The changes in systolic BP and HR are more abrupt and transient during the squat–stand manoeuvre than during the infusion of a vasodilating/vasopressor pharmacological agent. However, a Japanese study reported that indices of the squatting test show a significant correlation with baroreflex sensitivity assessed by the phenylephrine method in patients with diabetes [38].

A study that investigated the reproducibility of various pharmacological (phenylephrine infusion) and physiological (Valsalva manoeuvre, spectral analysis) methods to assess baroreflex sensitivity in normal subjects reported quite heterogeneous results [40]. We studied the reproducibility of the measurement of baroreflex gain in 70 subjects who were submitted to two squat–stand tests (unpublished results). We used the recommended Bland and Altman's representation to assess repeatability of the measurement [41] and obtained acceptable results (Fig. 3).

We also assessed the baroreflex sensitivity using such a squat–stand test in a large cohort of healthy subjects and we separated the population according to gender, body

Table 1 Baroreflex gain (BRG) calculated during a squatting test in healthy subjects divided according to gender, body mass index (BMI) and age

Subjects	Gender (n, F/M)	BMI (kg/m ²)	Age (years)	BRG (ms mmHg ⁻¹)	P
Female	78/0	22.3 ± 2.8	40 ± 12	3.64 ± 2.31	
Male	0/77	25.1 ± 3.1	41 ± 12	3.42 ± 2.27	0.55
Lean	20/20	22.2 ± 1.6	50 ± 6	4.03 ± 2.25	
Overweight	20/20	28.6 ± 2.7	50 ± 6	2.85 ± 2.23	0.03
Young	40/38	22.8 ± 2.7	31 ± 6	3.63 ± 2.29	
Old	22/22	24.7 ± 4.0	69 ± 6	2.04 ± 2.24	0.0006

Results are expressed as mean ± SD (unpublished results)

mass index and age. Baroreflex gain was similar in men and women, confirming previous observations obtained with the pharmacological reference test [42]. However, baroreflex gain was slightly but significantly decreased in overweight/obese subjects versus lean subjects and markedly decreased in elderly versus young individuals, also in agreement with data obtained from the pharmacological test using sequential nitroprusside-phenylephrine infusions [29] (Table 1).

Finally, the changes in baroreflex gain measured during such a squatting test have been used to assess cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients [8, 38]. As an example, we previously reported that the baroreflex gain progressively decreased according to the duration of the disease in a population of patients with type 1 diabetes, whereas such reduction was not significant in a control nondiabetic population matched for age [8].

In summary, the ample mirror changes in systolic BP and HR occurring during the initial squat–stand transition mimic those observed during a pharmacological test using vasodilator/vasopressor agents or during the Valsalva manoeuvre. By plotting R–R intervals according to systolic BP changes, a baroreflex gain can be calculated, which may be used to assess cardiovagal baroreflex sensitivity and autonomic function.

Limitations

There are some limitations of the use of the squat–stand test to calculate baroreflex sensitivity. First, many elderly or disabled individuals have much difficulties or are not capable of maintaining the squatting position, thus not allowing the correct assessment of haemodynamic changes during the squat–stand transition. Second, standardizing method for squatting has been requested, as various groups used different protocols [8, 11, 38]. Third, the calculation of baroreflex gain during a squatting test has not been validated in comparison to the classical pharmacological procedure in healthy volunteers [33, 34], even if a significant correlation between the barosensitivity indices measured by the two methods has been recently reported in diabetic patients [38].

Conclusion

Squatting may be used as a dynamic postural test capable of detecting baroreflex sensitivity by measuring continuously BP and HR during the transition from standing to squatting and even more from squatting to standing. Thus, squatting may be considered as an interesting posture in both experimental and clinical situations and a better understanding of the squatting-induced haemodynamic changes may be important in cardiovascular physiology and pathology. The knowledge of changes occurring in healthy subjects may help in analysing the abnormalities in patients with autonomic failure, especially diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy.

Acknowledgments The authors thank Monique Marchand for her valuable help in the experimental measurements and in the illustrations of this paper.

Conflict of interest None declared.

References

1. Sunagawa K, Sato T, Kawada T (2001) Integrative sympathetic baroreflex regulation of arterial pressure. *Ann N Y Acad Sci* 940:314–323
2. Monahan KD (2007) Effect of aging on baroreflex function in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293:R3–R12
3. Freeman R (2008) Clinical practice. Neurogenic orthostatic hypotension. *N Engl J Med* 358:615–624
4. Philips JC, Scheen, AJ (2011) Squatting test: a posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction. *Auton Neurosci* doi:10.1016/j.autneu.2011.03.001
5. Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH (1998) Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 38:605–616
6. Rossberg F, Penaz J (1988) Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57:93–97
7. Scheen AJ, Juchmes J, Pochet T (1990) Noninvasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab Metab* 16:382–384
8. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ (2009) Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 25:442–451

9. Sharpey-Schafer EP (1956) Effects of squatting on the normal and failing circulation. *Br Med J* 1:1072–1074
10. O'Donnell TV, Mc Ilroy MB (1962) The circulatory effects of squatting. *Am Heart J* 64:347–356
11. Marfella R, Giugliano D, Dimaro G, Acompora R, Giunta R, Donofrio F (1994) The squatting test—a useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 43:607–612
12. Brotmacher L (1957) Haemodynamic effects of squatting during repose. *Br Heart J* 19:559–566
13. Rickards CA, Newman DG (2003) A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 90:449–457
14. Hanson P, Slane PR, Rueckert PA, Clark SV (1995) Squatting revisited: comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br Heart J* 74:154–158
15. Kim KH, Cho JG, Lee KO et al (2005) Usefulness of physical maneuvers for prevention of vasovagal syncope. *Circ J* 69:1084–1088
16. Murakami T (2002) Squatting: the hemodynamic change is induced by enhanced aortic wave reflection. *Am J Hypertens* 15:986–988
17. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ (2008) Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 31:322–324
18. Lance VQ, Spodick DH (1977) Physiological responses to prompt and sustained squatting. Measurement by systolic time intervals. *Br Heart J* 39:559–562
19. Lewis BS, Lewis N, Gotsman MS (1980) Effect of standing and squatting on echocardiographic left ventricular function. *Eur J Cardiol* 11:405–412
20. Rossberg F, Penaz J (1992) Heart rate and arterial pressure variability in humans during different orthostatic load. *Physiol Res* 41:19–23
21. Scheen AJ, Marchand M, Lefèbvre PJ (1999) Cardiovascular monitoring during tilt and squatting tests in diabetic patients with autonomic neuropathy (Abstract). *Diabetologia* 42:A297
22. Smith JJ, Porth CM, Erickson M (1994) Hemodynamic response to the upright posture. *J Clin Pharmacol* 34:375–386
23. Alimi YS, Barthelemy P, Juhan C (1994) Venous pump of the calf—a study of venous and muscular pressures. *J Vasc Surg* 20:728–735
24. Tanaka H, Sjoberg BJ, Thulesius O (1996) Cardiac output and blood pressure during active and passive standing. *Clin Physiol* 16:157–170
25. Berry NM, Rickards CA, Newman DG (2006) Squat–stand test response following 10 consecutive episodes of head-up tilt. *Aviat Space Environ Med* 77:1125–1130
26. La Rovere MT, Pinna GD, Raczak G (2008) Baroreflex sensitivity: measurement and clinical implications. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 13:191–207
27. Parati G, Di Rienzo M, Mancia G (2000) How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens* 18:7–19
28. Pickering TG, Gribbin B, Sleight P (1972) Comparison of the reflex heart rate response to rising and falling arterial pressure in man. *Cardiovasc Res* 6:277–283
29. Rudas L, Crossman AA, Morillo CA et al (1999) Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol* 276:H1691–H1698
30. Lipman RD, Salisbury JK, Taylor JA (2003) Spontaneous indices are inconsistent with arterial baroreflex gain. *Hypertension* 42:481–487
31. Diaz T, Taylor JA (2006) Probing the arterial baroreflex: is there a 'spontaneous' baroreflex? *Clin Auton Res* 16:256–261
32. Palmero HA, Caeiro TF, Iosa DJ, Bas J (1981) Baroreceptor reflex sensitivity index derived from Phase 4 of the Valsalva maneuver. *Hypertension* 3:II-134–137
33. Goldstein DS, Horwitz D, Keiser HR (1982) Comparison of techniques for measuring baroreflex sensitivity in man. *Circulation* 66:432–439
34. Milic M, Sun P, Liu F et al (2009) A comparison of pharmacologic and spontaneous baroreflex methods in aging and hypertension. *J Hypertens* 27:1243–1251
35. Zollei E, Paprika D, Rudas L (2003) Measures of cardiovascular autonomic regulation derived from spontaneous methods and the Valsalva maneuver. *Auton Neurosci* 103:100–105
36. Schrezenmaier C, Singer W, Swift NM, Sletten D, Tanabe J, Low PA (2007) Adrenergic and vagal baroreflex sensitivity in autonomic failure. *Arch Neurol* 64:381–386
37. Looga R (2005) The Valsalva manoeuvre—cardiovascular effects and performance technique: a critical review. *Respir Physiol Neurobiol* 147:39–49
38. Nakagawa M, Shinohara T, Anan F et al (2008) New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 25:1309–1315
39. Zhang R, Claassen JA, Shibata S et al (2009) Arterial-cardiac baroreflex function: insights from repeated squat–stand maneuvers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297:R116–R123
40. Lord SW, Clayton RH, Hall MC et al (1998) Reproducibility of three different methods of measuring baroreflex sensitivity in normal subjects. *Clin Sci (Lond)* 95:575–581
41. Bland JM, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1:307–310
42. Tank J, Diedrich A, Szczech E, Luft FC, Jordan J (2005) Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension* 45:1159–1164



Contents lists available at ScienceDirect

Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical

journal homepage: www.elsevier.com/locate/autneu

Review

Squatting test: A posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction

Jean-Christophe Philips, André J. Scheen *

University of Liège, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Liège, Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 November 2010
 Received in revised form 21 February 2011
 Accepted 1 March 2011

Keywords:

Blood pressure
 Cardiovascular autonomic neuropathy
 Diabetes
 Dysautonomia
 Heart rate
 Orthostatic hypotension
 Squatting
 Syncope

ABSTRACT

The squatting test is an active posture manoeuvre that imposes one of the most potent orthostatic stresses. In normal subjects, the changes in blood pressure and heart rate are transient because of appropriate baroreflex homeostasis and do not provoke symptoms. However, in various pathological conditions, both the increase in blood pressure during squatting and the decrease in blood pressure during standing may be more important and sustained, potentially leading to complaints and adverse events. Squatting has been used to evaluate patients with tetralogy of Fallot, heart transplant, dysautonomia, including diabetic cardiovascular autonomic neuropathy, and individuals prone to vasovagal syncope. Careful analysis of changes in blood pressure and heart rate during the transition from standing to squatting and from squatting to standing allows the early detection of altered vagal and/or sympathetic function. Of note squatting position has been proposed as a therapeutic means to counteract the fall in blood pressure in patients suffering from dizziness due to dysautonomia and orthostatic hypotension or presenting pre-syncope symptoms, such as soon after exercise. The aims of the present review are to analyse the haemodynamic pattern during a squatting test in various pathological situations and to describe what may be the negative and positive haemodynamic changes associated with this posture. We were especially interested in using the squatting test for the assessment of cardiovascular autonomic neuropathy associated with diabetes mellitus.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	3
2. Physiology of the standing–squatting–standing test	4
3. Clinical applications	5
3.1. Cyanotic patients with cardiac malformations	5
3.2. Patients with heart transplant	5
3.3. Patients with autonomic failure and orthostatic hypotension	5
3.4. Patients with vasovagal syncope	6
3.5. Diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy (CAN)	7
4. Conclusion	8
Acknowledgement	8
References	9

1. Introduction

In normal subjects, blood pressure (BP) is tightly regulated and the variations are generally of small amplitude and/or of short duration despite acute postural changes, including the squatting to standing

manoeuvre that represents the most potent orthostatic stress (Scheen et al., 1990). However, several pathological entities may be associated with autonomic disorders and dysregulation of BP homeostasis leading to orthostatic hypotension and syncope as most obvious adverse events (Wieling et al., 2007; Freeman 2008; Medow et al., 2008). Orthostatic hypotension has been shown to be associated with an increased risk of cardiovascular morbidity and all-cause mortality in the general population (Fedorowski et al., 2010) and in diabetic patients (Maser et al., 2003). Other orthostatic syndromes are also

* Corresponding author at: Department of Medicine, CHU Sart Tilman (B35), B-4000 Liege 1, Belgium. Tel.: +32 4 3667238; fax: +32 4 3667068.

E-mail address: andre.scheen@chu.ulg.ac.be (A.J. Scheen).

quite frequent such as postural tachycardia and syncope, and appear to be different from classical orthostatic hypotension (Raj, 2010). Laboratories able to test that autonomic function are increasingly available and rely on batteries of well-accepted, non-invasive tests among which tests of parasympathetic cardiovagal heart rate (HR) variability and sympathetic vasoconstriction are most commonly employed (Weimer, 2010).

Non-invasive continuous monitoring of systolic and diastolic BP together with HR has greatly facilitated the study of haemodynamic changes during dynamic tests (Rossberg and Penaz, 1988; Imholz et al., 1998; Imholz et al., 1990). Various posture tests are classically used to assess haemodynamic orthostatic adaptation and autonomic function. The most popular posture test used in clinical research is the passive head-up tilt table test at 70° (Grubb and Kosinski, 1997; Madden et al., 2008). Another active manoeuvre, the so-called squatting test, produces the strongest acute orthostatic stress when the subject stands up (Scheen et al., 1990; Marfella et al., 1994a). Careful analysis of BP and HR changes during both transition states, from standing to squatting and from squatting to standing, respectively, provides interesting information as far as performance of baroreflexes and haemodynamic homeostasis are concerned (Rossberg and Penaz, 1988). For instance, the analysis of HR and BP changes occurring during a squatting test has been used by our group to assess orthostatic hypotension (Scheen et al., 1990), cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) (Philips et al., 2009) and pulsatile stress (Philips et al., 2008); Philips et al., 2010a; Philips et al., 2010b) in patients with type 1 diabetes mellitus. Furthermore, squatting position is a long recognized therapeutic manoeuvre that can improve haemodynamics in patients with some congenital cardiac diseases (tetralogy of Fallot) (Lurie, 1953; Guntheroth et al., 1968). More recently, squatting has also been proposed as a therapeutic manoeuvre to counteract BP fall in individuals suffering from orthostatic hypotension (van Lieshout et al., 1992), a frequent complication of autonomic failure, or vasovagal syncope (Krediet et al., 2008).

The present review will first present a brief description of the haemodynamic changes occurring during the standing–squatting–standing transition phases in normal subjects. Afterwards we will

analyze the postural changes in patients with autonomic failure, including diabetic CAN, in order to better understand the adverse events but also the positive haemodynamic changes that are reported with this squatting posture. In all instances, it is important to separate haemodynamic changes occurring from standing to squatting (Table 1) from those observed during the transition from squatting to standing in patients with cardiovascular disease and/or autonomic dysfunction (Table 2).

2. Physiology of the standing–squatting–standing test

In healthy subjects, the transition from standing to squatting is accompanied by complex haemodynamic changes (Rickards and Newman, 2003). An initial burst in systolic, diastolic and mean arterial BP, a rise in pulse pressure (PP) and a brief peak in heart rate (HR) are systematically detected (Fig. 1). After a few seconds there is a trend to return to baseline values for all parameters followed by a more sustained rise in systolic, diastolic and mean BP and in PP levels. This increase in BP is associated with a reduction in HR. The bradycardia is secondary to baroreceptor activity and is abolished by atropine (Marfella et al., 1994b). Squatting augments cardiac output (CO) by increasing venous return secondary to muscular pumping in the legs. The kinking of femoral arteries, which might increase peripheral resistance, does not seem to play a major role. Thus increased preload by augmentation of venous return rather than increased systemic vascular resistance mainly explains the rise in BP. This may contribute to the greater increase of systolic BP compared to diastolic BP, and thus the augmentation of PP in squatting position.

The squat–stand transition induces profound haemodynamic changes (Rossberg and Penaz, 1988, Smith et al., 1994). When normal subjects stand up, systolic BP, diastolic BP, and PP invariably fall. After 8 to 10 beats the BP starts to rise to its original level. The immediate cardiac response is characterized by a prompt rise in HR, which peaks at about 8 to 15 s and then tapers (Fig. 1). Propranolol, a beta-adrenergic blocking agent, markedly attenuates reflex tachycardia (Marfella et al., 1994a). At standing from squatting the total vascular resistance decreases sharply at 5 to 10 s, which explains the abrupt fall in BP, followed by a rapid rebound and overshoot. Over the first 30 s there is a steady parallel decline of thoracic blood volume, stroke volume and CO (after an initial surge). During the stabilized response (30 s to 20 min), the haemodynamic variables are relatively steady, showing average increases in HR of about 15 to 30% and in total vascular resistance of 30 to 40%, with only modest changes in BP values. Thus, after squatting, the upright posture results in profound haemodynamic changes, most occurring during the first 30 s (Fig. 1).

Table 1
Summary of haemodynamic changes occurring in squatting position (versus standing) in various pathologies.

Disease	Reference	Haemodynamic changes
Tetralogy of Fallot	Guntheroth et al., 1968	↑ BP, ↑ arterial O ₂ saturation
Heart transplant	Li et al., 2009 Hanson et al., 1995	↑ pulse O ₂ saturation ↑ BP, ↑ SV, no ↑ HR,
Dysautonomia with orthostatic hypotension	Wieling et al., 1993 Van Lieshout et al., 1992 Titianova et al., 1997	↑ PAR (less than in controls) ↑ BP ↑↑ BP
Neurocardiogenic syncope	Tutaj et al., 2006 Kim et al., 2005 Krediet et al., 2005b	↑↑ BP, ↑ CO, ↑ PAR, ≈ HR ↑ BP, syncope abortion Prevention of exercise-related vasovagal syncope
Arterial hypertension	Chakrabarti et al., 2002	Exaggerated ↑ BP
Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy	Marfella et al., 1994a Nakagawa et al., 2008 Philips et al., 2009	Reduced bradycardia (SqTv index) Reduced bradycardia (Delta HRsq) Reduced bradycardia Increased BP and PP

BP: blood pressure, O₂: oxygen, SV: stroke volume, PAR: peripheral arterial resistance, CO: cardiac output, HR: heart rate.

Table 2
Summary of haemodynamic changes occurring in post-squatting standing position in various pathologies.

Disease	Reference	Haemodynamic changes
Dysautonomia with orthostatic hypotension	Titianova et al., 1997	↓ BP, no ↑ HR, ↓ cerebral blood flow velocity
Neurocardiogenic syncope	Krediet et al., 2007, 2008	Less ↓ BP with lower body skeletal muscle tensing
Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy	Marfella et al., 1994a Marfella et al., 1994b Nakagawa et al., 2008 Philips et al., 2009	Reduced tachycardia (SqTs index) Greater ↓ BP versus controls Reduced tachycardia (delta HRSt) Reduced baroreflex gain Delayed BP recovery

BP: blood pressure, HR: heart rate.

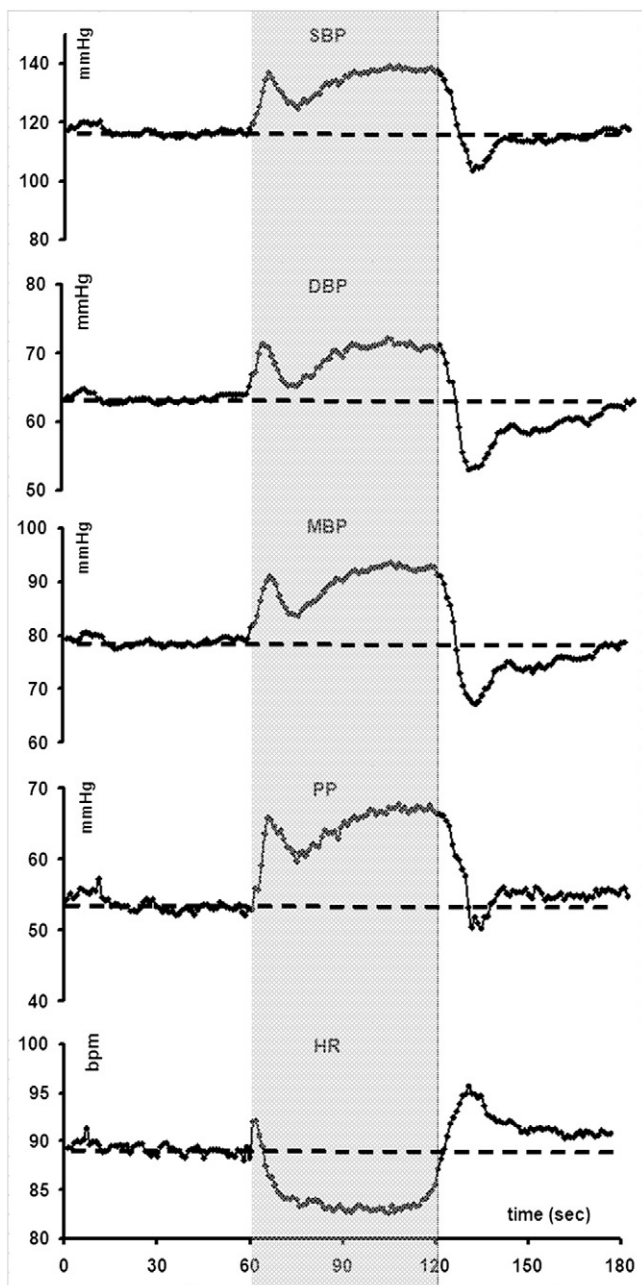


Fig. 1. Mean changes in systolic (SBP), diastolic (DBP), and mean blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) measured continuously with a Finapres® during a standing–squatting (grey zone)–standing test in 40 healthy subjects (20 men, 20 women; mean age : 50 years.; mean body mass index : 22.2 kg/m²). Please note the two-phase changes during squatting and the biphasic initial changes after standing up.

3. Clinical applications

3.1. Cyanotic patients with cardiac malformations

William Hunter (1784) noted in 1784 that cyanotic patients obtained relief from faintness by assuming the posture that we now call “squatting”. The tetralogy of Fallot is the most common form of cyanotic congenital heart diseases (Apitz et al., 2009). Children with the tetralogy of Fallot soon discovered the symptomatic relief obtained by squatting after exercise (Lurie, 1953). Several explanations have been proposed for this observation. The rise in systemic vascular resistance that occurs during squatting was proposed to be responsible for increasing the relative flow into the pulmonary artery (Hamilton et al., 1950). The knee–chest position adopted during

squatting after exercise has been shown to be accompanied by a rise in systemic arterial BP and a rise in arterial oxygen saturation, which had fallen to low levels during exercise (Guntheroth et al., 1968). Because squatting impedes the venous return from the legs, it has been proposed that it minimizes the tendency of the arterial oxygen saturation to fall with exercise (Brotmacher, 1957). From all available data, it may be concluded that the beneficial effect of squatting in patients with tetralogy of Fallot is mainly due to two mechanisms: on the one hand, the exclusion from the circulation of the highly unsaturated blood from the legs, due to the compression of the femoral veins; on the other hand, the reduction in the degree of right-to-left shunting due to the increase of peripheral vascular resistance, resulting in a favourable increase of the blood flow to the lungs.

A recent study measured the difference in transcutaneous pulse oxygen saturation between the standing position and squatting position in patients with tetralogy of Fallot (Li et al., 2009). The mean pulse oxygen saturation was 79% in standing patients and 84% in squatting patients (significant mean difference of 5%). The authors proposed this difference in pulse oxygen saturation to be used as a supplement to echocardiography and cardiac catheter in evaluating tetralogy of Fallot before surgery.

3.2. Patients with heart transplant

To determine the role of cardiac autonomic innervation in the mediation of cardiovascular responses, haemodynamic patterns were examined in nine normal men and six heart transplant recipients during 2 min of squatting (Hanson et al., 1995). As compared to normal individuals, heart transplant recipients exhibited similar increases in stroke volume index monitored by thoracic impedance cardiography and mean arterial BP (+8.5 versus +5.0 mm Hg), which were sustained throughout squatting. Each group also showed an initial decrease in peripheral resistance followed by a return to baseline values after 20 s. HR decreased in normal individuals (–10 bpm) but was unchanged or minimally increased (+2 bpm) in heart transplant recipients, in agreement with cardiac denervation. Forearm vascular resistance was conspicuously decreased in normal individuals (–47.8 units) but more modestly (–20.9 units) in heart transplant recipients. Thus, the major haemodynamic responses to squatting (increased CO and BP) are similar in normal individuals and heart transplant recipients (Fig. 2). As already discussed, these responses are primarily due to augmented venous return and are not altered by cardiac denervation. Both groups also exhibited a transient decline in peripheral vascular resistance which is most likely mediated by arterial baroreflexes activated by the acute rise in arterial BP.

3.3. Patients with autonomic failure and orthostatic hypotension

Orthostatic hypotension is the most disabling and serious manifestation of adrenergic failure (Wieling et al., 2007; Freeman, 2008; Medow et al., 2008). Upright posture requires rapid and effective circulatory and neurologic compensations to maintain BP and consciousness. There is a broad, heterogeneous group of disturbances in the autonomic nervous system, each of which is manifested by hypotension, orthostatic intolerance, and syncope. Haemodynamic assessment using head-up tilt with the determination of cardiopulmonary volume and systemic vascular resistance differentiated between venous pooling and autonomic insufficiency in these patients (Schutzman et al., 1994). In patients with chronic orthostatic intolerance (postural tachycardia syndrome), blunted arterial vasoconstriction produces passive redistribution of blood within peripheral venous capacitance beds, while venous compliance is similar to that of control subjects (Stewart, 2002). This contrasts with patients with neurocardiogenic syncope (see below), who are

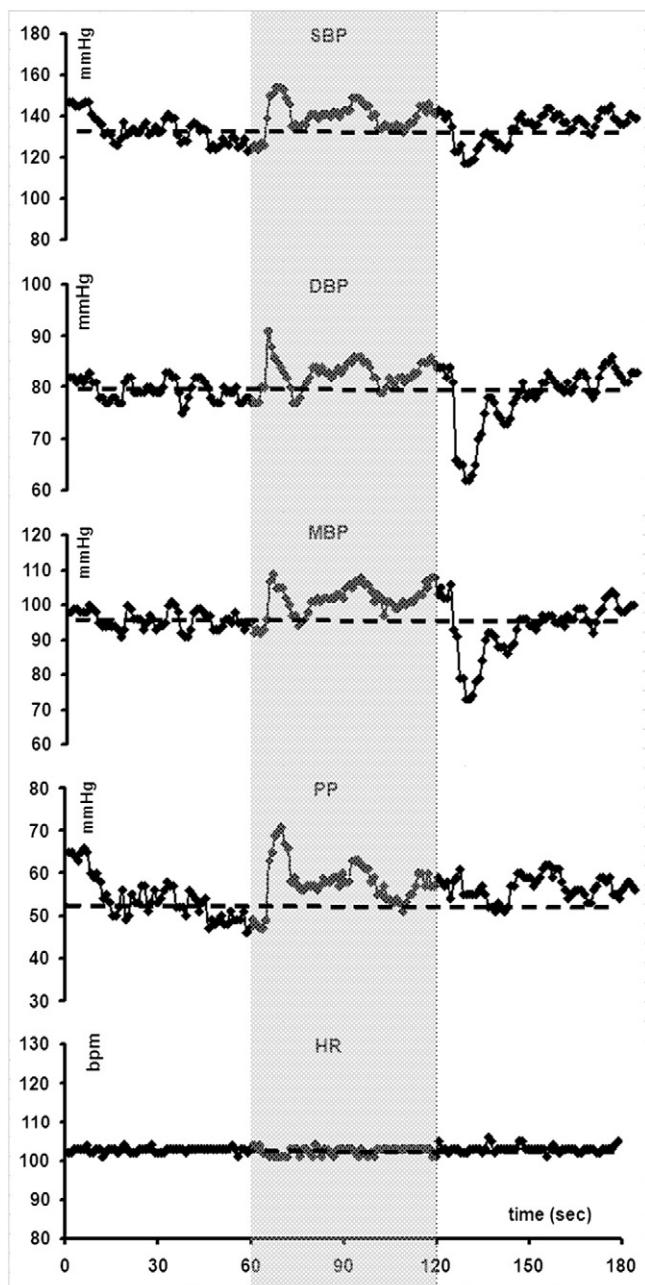


Fig. 2. Changes in systolic (SBP), diastolic (DBP), and mean blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) measured continuously with a Finapres® during a standing–squatting (grey zone)–standing test in a patient with heart transplant. Please note the fixed tachycardia but the almost normal changes in BP (compared to Fig. 1).

characterized by normal peripheral vascular physiology (Stewart and Weldon, 2003).

Drug treatment of orthostatic hypotension needs to be combined with non-pharmacological approaches, such as compression of venous capacitance beds and use of physical counter manoeuvres (Low and Singer, 2008). Indeed denervation increases vascular capacity, and venous compression improves orthostatic hypotension by reducing this capacity and increasing peripheral resistance index. A reduction in venous capacity, secondary to some physical counter manoeuvres (e.g., squatting or leg crossing), or the use of compressive garments, can ameliorate orthostatic hypotension. Compression of all compartments is the most efficacious, followed by abdominal compression, whereas leg compression alone was less effective, presumably reflecting the large capacity of the abdomen relative to

the legs (Denq et al., 1997). Another study confirms that in patients with neurogenic orthostatic hypotension, abdominal compression (somewhat mimicking that occurring during squatting) increases standing BP to a varying degree by increasing stroke volume (Smit et al., 2004). Thus, various physical manoeuvres, among which is squatting posture, can reduce postural hypotension in autonomic failure (Wieling et al., 1993). Of note squatting has been recommended by the European Federation of the Neurological Societies among the physical measures for the management of patients with orthostatic hypotension (Lahrmann et al., 2006).

Haemodynamic changes associated with orthostatic hypotension in one patient with pure progressive autonomic failure were studied by a passive head-up 70° tilt manoeuvre and an active squatting test (Titianova et al., 1997). Stand-up tilting induced slight decrease in mean BP and mean blood flow velocity during transcranial Doppler sonography monitoring of the right middle cerebral artery, without changes in HR. Changes of systemic haemodynamics occurred during the first minute of passive standing and they increased within the first hour; however, the cerebral haemodynamics remained relatively stable. Active standing from squatting was accompanied by a more severe decrease in the mean BP and the mean cerebral blood flow velocity, and an increase in vascular resistance immediately after the upright position. The haemodynamic changes were not followed by a secondary cardiac acceleration; they increased within the first minute of active standing and evoked a syncope. During squatting as a self-selected preventive mechanism in this patient an increase in mean BP and mean cerebral blood flow velocity occurred.

Squatting-induced BP changes were studied in 7 patients with hypoadrenergic orthostatic hypotension and in 6 healthy subjects. Squatting was associated with marked increase in mean BP of 44 mm Hg compared with only 8 mm Hg in healthy controls. Patients with orthostatic intolerance should be told about this BP-raising manoeuvre in order combat orthostatic dizziness (van Lieshout et al., 1992). The effectiveness of squatting has been tested in patients with familial dysautonomia who frequently experience debilitating orthostatic hypotension (Tutaj et al., 2006). Squatting was compared to other counter manoeuvres (bending forward, abdominal compression, and leg crossing). All these manoeuvres were initiated after standing up, when systolic BP had fallen by 40 mm Hg or diastolic BP by 30 mm Hg or presyncope had occurred. During active standing, BP and total peripheral resistance decreased, calf volume increased but CO remained stable. Squatting induced significant increases in mean BP (+50.8 mm Hg), and CO (+18%), and total peripheral resistance (+37%), without significant change in HR. Squatting has the greatest effect on orthostatic BP in such patients and was the only counter manoeuvre capable of significantly increasing total peripheral resistance (Fig. 3).

3.4. Patients with vasovagal syncope

Neurocardiogenic syncope is a rather complex phenomenon, which implicates several reflex mechanisms, especially the Bezold–Jarisch reflex (Somers & Abboud, 1996). There is evidence that left ventricular mechanoreceptors may not be the exclusive afferent trigger for syncope and that central mechanisms may be implicated. Autonomic and particularly sympathetic mechanisms play a central role in the pathophysiology of vasovagal syncope (Morillo et al., 1997). Patients with orthostatic vasovagal reactions have impaired vagal baroreflex responses to BP changes below resting levels but normal initial responses to upright tilt. Even if subtle vasovagal physiological changes begin before overt presyncope, the final trigger of human orthostatic vasovagal reactions appears to be the abrupt disappearance of muscle sympathetic nerve activity (Morillo et al., 1997). Furthermore, baroreceptor gain, assessed by administering bolus injections of nitroprusside and phenylephrine, was shown to be

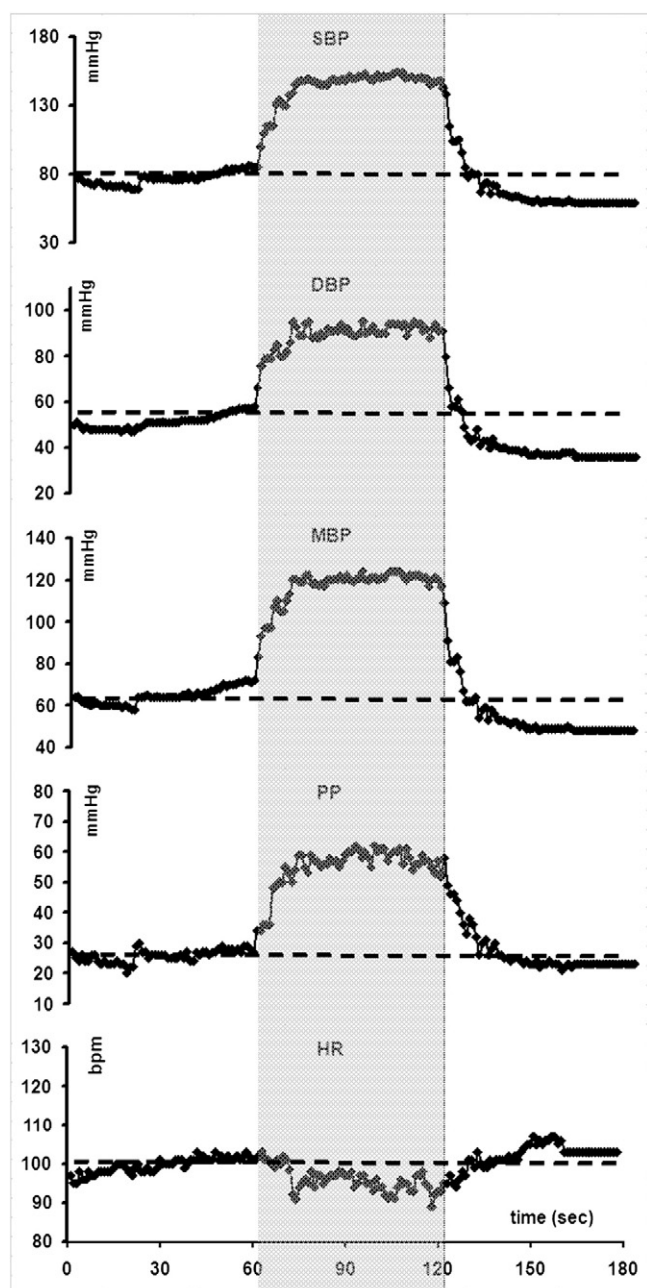


Fig. 3. Changes in systolic (SBP), diastolic (DBP), and mean blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) measured continuously with a Finapres® during a standing–squatting (grey zone)–standing test in a patient with dysautonomia and severe orthostatic hypotension (orthostatic intolerance). Please note the marked elevation of BP and PP while squatting and the abrupt drop after standing, without major changes in HR.

significantly reduced in patients with carotid sinus hypersensitivity and a history of recurrent unexplained syncope (Morillo et al., 1999).

Nonpharmacological treatment has been proposed for reflex syncope (Wieling et al., 2004), as it was the case for orthostatic hypotension (Wieling et al., 1993). Leg crossing, muscle tensing, squatting, and the crash position are effective against vasovagal reactions through increases in CO (Krediet et al., 2005a). A Japanese study investigated haemodynamic changes during squatting in patients with a positive or a negative head-up tilt test to evaluate syncope (Kim et al., 2005). Squatting significantly and similarly increased systolic BP and diastolic BP in the two groups (+7.1/+4.6 mm Hg versus +7.8/+4.3 mm Hg). Of note, in the same study, squatting aborted syncope in 7 of 8 patients.

If squatting is a potent physical manoeuvre to prevent syncope, a major drawback is that standing up from squatting is a large haemodynamic stressor, which often causes new presyncopal symptoms. Nevertheless lower body skeletal muscle tensing attenuates the decrease of mean arterial BP upon standing from squatting when used as a manoeuvre to prevent vasovagal syncope. This hypothesis has been confirmed experimentally (Krediet et al., 2007). After standing up from squatting mean BP decreased to a nadir of 64 mm Hg, related to a reduction in CO (73% of supine values). Standing up with lower body skeletal muscle tensing limited the reduction in CO (85%) and mean BP nadir (76 mm Hg) with fewer or no presyncopal symptoms. Standing up from squatting with and without lower body skeletal muscle tensing did not affect total peripheral resistance (99% versus 101%). Thus, squatting may be optimized as a physical manoeuvre to prevent vasovagal syncope; lower body skeletal muscle tensing is proposed as an effective follow-up manoeuvre to squatting when applied to prevent syncope.

Orthostatic tolerance is reduced following prolonged exercise and post-exercise syncope episodes are common (Murrell et al., 2009). One simple way to minimize this phenomenon is to adopt the squatting position at the end of the effort, in order to increase BP, a posture spontaneously adopted by many athletes after a run. The therapeutic value of squatting to prevent loss of consciousness in exercise-related vasovagal syncope has been illustrated in a young woman who had one episode of transient loss of consciousness and several of near-unconsciousness during exercise (Krediet et al., 2005b).

3.5. Diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy (CAN)

CAN is a common complication in diabetes mellitus and is considered as an independent risk factor of cardiovascular mortality (Maser et al., 2003).

The HR responses observed after both squatting (bradycardia abolished by atropine) and standing (tachycardia attenuated by propranolol) are of reflex nature and may be useful to assess the functional integrity of, respectively, parasympathetic and sympathetic nerves in diabetes (Marfella et al., 1994b). SqTv index (Squatting Test vagal index, reflecting squatting-induced bradycardia) and SqTs index (Squatting Test sympathetic index, reflecting standing-induced reflex tachycardia) were calculated in a large cohort of healthy subjects and diabetic patients. Normal ranges for healthy subjects between 20 and 74 years showed a statistically significant negative correlation with age. Age and duration of diabetes had a negative influence on both SqT ratios. In the same study SqT ratios were compared with other reflex tests currently used for diagnosis of CAN: deep breathing, lying-to-standing, Valsalva manoeuvre, and BP change after standing (orthostatic hypotension). The conclusion was that SqT ratios can discriminate between healthy subjects and diabetic patients to an equal or greater extent than the other tests but are better than other single tests in identifying mild autonomic involvement.

By comparing changes in HR and finger arterial BP during three postural tests (lying-to-standing, sitting-to-standing, and squatting test), a significantly greater BP drop occurred in type 2 diabetic patients with CAN (defined by the presence of a pathological deep breathing value) compared with patients without CAN or normal subjects during the squatting test, but not during the two other postural tests (Marfella et al., 1994a). The conclusion was that the intrinsic orthostatic load of the squatting test, which is greater than conventional postural manoeuvres (Scheen et al., 1990), makes the squatting test an easy and useful test to detect early orthostatic dysregulation in diabetes.

In a recent Japanese study, the differences between basal HR and HR during squatting, on the one hand, and between HR during standing and HR during squatting, on the other hand, correlated well with baroreflex sensitivity measured using the phenylephrine

method in diabetic patients ($r=0.66$, $P<0.0001$ and $r=0.61$, $P<0.0001$, respectively) (Nakagawa et al., 2008). According to the authors, these squatting test indices provide useful information for assessing CAN and for identifying diabetic patients at high risk of cardiovascular events.

In a cross-sectional controlled study, we evaluated 159 patients with type 1 diabetes mellitus during a 3-min posture test (standing–squatting–standing) with continuous measurement of BP and HR by a Finapres® device (Philips et al., 2009). CAN was assessed by the E/I RR ratio during deep breathing and by three indices measured during the squatting test: SqTv and SqTs indices according to Marfella et al. (1994a, 1994b) and the baroreflex gain assessed by plotting RR intervals according to systolic BP during the transition from squatting to standing, as previously reported (Philips et al., 2009). RR E/I ratio ($p<0.0001$) and baroreflex gain ($p<0.0005$) progressively decreased with diabetes duration. The parasympathetic index SqTv significantly increased ($p<0.0001$) whereas the sympathetic index SqTs only tended to decrease ($p=0.12$) according to diabetes duration. No such changes in CAN indices were observed in the age-matched non-diabetic population. Classically, parasympathetic dysfunction precedes sympathetic dysfunction. In agreement with this observation, SqTv index was markedly and significantly affected by diabetes duration whereas changes in SqTs did not reach the level of statistical significance in our population with T1DM. However, both SqTv and SqTs indices were significantly altered in diabetes when comparing patients with long duration T1DM and age-matched healthy controls (Philips et al., 2009; Philips et al., 2010b).

In a recent study (unpublished results), we compared the haemodynamic changes during an active orthostatic test in 20 type 1 diabetic patients with low RR E/I ratio during a deep breathing test (used as marker of CAN) and in 40 matched healthy subjects. Compared with controls, diabetic patients had lower RR E/I ratio (1.05 versus 1.29, $P<0.00001$), higher HR values throughout the test (90 versus 82 bpm, $P=0.0252$), greater squatting-induced PP rise (+13 versus +7 mm Hg, $P=0.0063$), and reduced reflex tachycardia (+18 versus +32 bpm, $P=0.0004$) combined with a delayed return to baseline BP after standing (33 versus 21 s, $P=0.0167$) (Fig. 4). Consequently, diabetic patients with CAN had both markedly reduced baroreflex gain (1.39 versus 3.90 ms mm Hg⁻¹, $P=0.0001$) and elevated pulsatile stress (pulse pressure × HR) (4947 versus 4303 mm Hg min⁻¹, $P=0.00443$), especially in squatting position (Philips et al., 2008). SqTs was significantly reduced in type 1 diabetic patients (1.10 versus 1.22, $P=0.0001$) whereas the trend to altered SqTv did not reach statistical significance in this group of patients.

Finally, we also reported in a large cohort of 159 patients with type 1 diabetes that squatting is associated with a greater increase in BP and PP according to diabetes duration (especially after 20 years of disease duration) and age than in non-diabetic controls, a finding that was attributed to accelerated arterial stiffness resulting from chronic hyperglycaemia (Philips et al., 2008; Philips et al., 2009). Whether this increase in BP and PP during squatting may exaggerate cardiovascular risk is unknown. It is noteworthy, however, that squatting-associated BP increase has been suspected to be a triggering factor for stroke in hypertensive patients from India (Chakrabarti et al., 2002).

4. Conclusion

Historically, squatting is known in the field of cardiology since many centuries when it was shown that this posture is able to alleviate symptoms of young patients with tetralogy of Fallot. Although the squatting test is less popular than the head-up tilt test, an extensive survey of the literature reveals many recent reports devoted to this posture test that represents the most powerful orthostatic stress compared to other manoeuvres. Squatting may be used as an active postural test capable to detect baroreflex haemodynamic dysregulation by measuring continuously BP and HR during the transition from standing to squatting (Table 1) and from squatting to standing (Table 2).

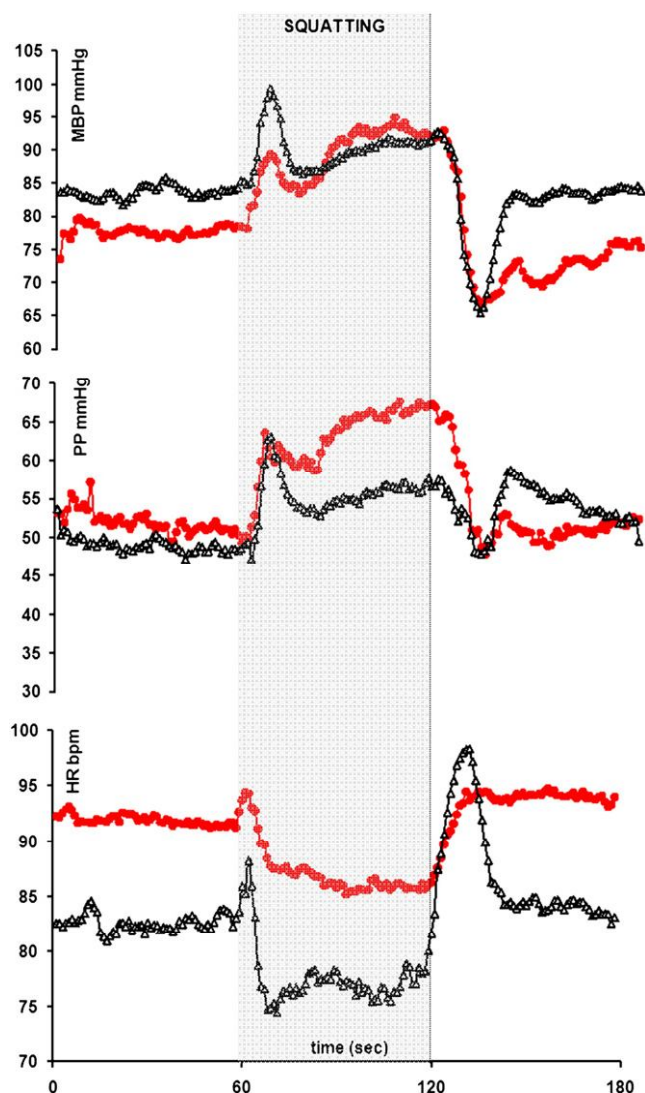


Fig. 4. Changes in mean arterial blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) during a posture test [1 min standing–1 min squatting (grey zone)–1 min standing] in 20 patients with type 1 diabetes (T1DM) and low RR E/I ratio indicative of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) (full circles) versus 40 non-diabetic subjects (controls) (open triangles) matched for age, sex and body mass index.

This postural manoeuvre has been used to investigate baroreflex adaptation among patients with heart transplant (a model of heart denervation), with orthostatic hypotension (especially when resulting from autonomic failure), with neurocardiogenic vasovagal syncope and with diabetic CAN. Squatting may also be used as a therapeutic posture, not only in patients with tetralogy of Fallot, but more commonly in individuals prone to orthostatic hypotension or vasovagal syncope because the squatting position is associated with a significant BP and CO increase. In contrary, the squatting position may be deleterious in hypertensive patients. Thus, the standing to squatting and squatting to standing transitions can induce profound haemodynamic changes, especially in patients with autonomic failure, whose careful analysis may provide valuable information about baroreflex homeostasis. The squatting test may be considered as an interesting posture in both experimental and clinical situations.

Acknowledgement

The authors thank Monique Marchand for her valuable help in the illustration of this paper.

References

- Apitz, C., Webb, G.D., Redington, A.N., 2009. Tetralogy of Fallot. *Lancet* 374, 1462–1471.
- Brotmacher, L., 1957. Haemodynamic effects of squatting during recovery from exertion. *Br. Heart J.* 19, 567–573.
- Chakrabarti, S.D., Ganguly, R., Chatterjee, S.K., Chakravarty, A., 2002. Is squatting a triggering factor for stroke in Indians? *Acta Neurol Scand.* 105, 124–127.
- Denq, J.C., Opfer-Gehrking, T.L., Giuliani, M., Felten, J., Convertino, V.A., Low, P.A., 1997. Efficacy of compression of different capacitance beds in the amelioration of orthostatic hypotension. *Clin. Auton. Res.* 7, 321–326.
- Fedorowski, A., Stavenow, L., Hedblad, B., Berglund, G., Nilsson, P.M., Melander, O., 2010. Orthostatic hypotension predicts all-cause mortality and coronary events in middle-aged individuals (The Malmo Preventive Project). *Eur. Heart J.* 31, 85–91.
- Freeman, R., 2008. Clinical practice. Neurogenic orthostatic hypotension. *N. Engl. J. Med.* 358, 615–624.
- Grubb, B.P., Kosinski, D., 1997. Tilt table testing: concepts and limitations. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 20, 781–787.
- Guntheroth, W.G., Mortan, B.C., Mullins, G.L., Baum, D., 1968. Venous return with knee-chest position and squatting in tetralogy of Fallot. *Am. Heart J.* 75, 313–318.
- Hamilton, W.F., Winslow, J.A., Hamilton Jr., W.F., 1950. Notes on a case of congenital heart disease with cyanotic episodes. *J. Clin. Invest.* 29, 20–27.
- Hanson, P., Slane, P.R., Tueckert, P.A., Clark, S.V., 1995. Squatting revisited: comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br. Heart J.* 74, 154–158.
- Hunter, W., 1784. Three cases of malformation of the heart. *Medical Observations and Inquiries by a Society of Physicians in London*, 6, p. 291.
- Imholz, B.P., Settels, J.J., van der Meiracker, A.H., Wesseling, K.H., Wieling, W., 1990. Non-invasive continuous finger blood pressure measurement during orthostatic stress compared to intra-arterial pressure. *Cardiovasc. Res.* 24, 214–221.
- Imholz, B.P., Wieling, W., van Montfrans, G.A., Wesseling, K.H., 1998. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc. Res.* 38, 605–616.
- Kim, K.H., Cho, J.G., Lee, K.O., Seo, T.J., Shon, C.Y., Lim, S.Y., Yun, K.H., Sohn, I.S., Hong, Y.J., Park, H.W., Kim, J.H., Kim, W., Ahn, Y.K., Jeong, M.H., Park, J.C., Kang, J.C., 2005. Usefulness of physical maneuvers for prevention of vasovagal syncope. *Circ. J.* 69, 1084–1088.
- Krediet, C.T., van Lieshout, J.J., Bogert, L.W., Immink, R.V., Kim, Y.S., Wieling, W., 2005a. Leg crossing, muscle tensing, squatting, and the crash position are effective against vasovagal reactions solely through increases in cardiac output. *J. Appl. Physiol.* 99, 1697–1703.
- Krediet, C.T., Wilde, A.A., Halliwill, J.R., Wieling, W., 2005b. Syncope during exercise, documented with continuous blood pressure monitoring during ergometer testing. *Clin. Auton. Res.* 15, 59–62.
- Krediet, C.T., Go-Schön, I.K., Kim, Y.S., Linzer, M., Van Lieshout, J.J., Wieling, W., 2007. Management of initial orthostatic hypotension: lower body muscle tensing attenuates the transient arterial blood pressure decrease upon standing from squatting. *Clin. Physiol. Lond.* 113, 401–407.
- Krediet, C.T., Go-Schön, I.K., van Lieshout, J.J., Wieling, W., 2008. Optimizing squatting as a physical maneuver to prevent vasovagal syncope. *Clin. Auton. Res.* 18, 179–186.
- Lahrman, H., Cortelli, P., Hiltz, M., Mathias, C.J., Struhal, W., Tassinari, M., 2006. EFNS guidelines on the diagnosis and management of orthostatic hypotension. *Eur. J. Neurol.* 13, 930–936.
- Li, Q., Zhang, J., Li, B., Wang, W., Liu, J., Zhu, H., Wang, H., Yu, S., Cui, Q., Sun, G., Wu, X., Yi, D., 2009. Pulse oxygen saturation measured in standing and squatting positions may be useful in evaluating tetralogy of Fallot. *Heart Surg. Forum* 12, E35–E38.
- Low, P.A., Singer, W., 2008. Management of neurogenic orthostatic hypotension: an update. *Lancet Neurol.* 7, 451–458.
- Lurie, P.R., 1953. Postural effects in tetralogy of Fallot. *Am. J. Med.* 15, 297–306.
- Madden, K.M., Tedder, G., Lockhart, C., Meneilly, G.S., 2008. Euglycemic hyperinsulinemia alters the response to orthostatic stress in older adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 31, 2203–2208.
- Marfella, R., Giugliano, D., Di Maro, G., Acampora, R., Giunta, R., D'Onofrio, F., 1994a. The squatting test: a useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 43, 607–612.
- Marfella, R., Salvatore, T., Giugliano, D., Di Maro, G., Giunta, R., Torella, R., Juchmes, J., Scheen, A., Lefebvre, P.J., 1994b. Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 17, 149–151.
- Maser, R.E., Mitchell, B.D., Vinik, A.I., Freeman, R., 2003. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 26, 1895–1901.
- Medow, M.S., Stewart, J.M., Sanyal, S., Mumtaz, A., Sica, D., Frishman, W.H., 2008. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of orthostatic hypotension and vasovagal syncope. *Cardiol. Rev.* 16, 4–20.
- Morillo, C.A., Eckberg, D.L., Ellenbogen, K.A., Beightol, L.A., Hoag, J.B., Tahvanainen, K.U., Kuusela, T.A., Diedrich, A.M., 1997. Vagal and sympathetic mechanisms in patients with orthostatic vasovagal syncope. *Circulation* 96, 2509–2513.
- Morillo, C.A., Camacho, M.E., Wood, M.A., Gilligan, D.M., Ellenbogen, K.A., 1999. Diagnostic utility of mechanical, pharmacological and orthostatic stimulation of the carotid sinus in patients with unexplained syncope. *J. Am. Coll. Cardiol.* 34, 1587–1594.
- Murrell, C., Cotter, J.D., George, K., Shave, R., Wilson, L., Thomas, K., Williams, M.J., Lowe, T., Ainslie, P.N., 2009. Influence of age on syncope following prolonged exercise: differential responses but similar orthostatic intolerance. *J. Physiol.* 587, 5959–5969.
- Nakagawa, M., Shinohara, T., Anan, F., Yufu, K., Takahashi, N., Okada, N., Hara, M., Yoshimatsu, H., Saikawa, T., 2008. New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 25, 1309–1315.
- Philips, J.C., Marchand, M., Scheen, A.J., 2008. Squatting amplifies pulse pressure increase according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 31, 322–324.
- Philips, J.C., Marchand, M., Scheen, A.J., 2009. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diab. Metab. Res. Rev.* 25, 442–451.
- Philips, J.C., Marchand, M., Scheen, A.J., 2010a. Changes in pulse pressure, heart rate and double product during squatting in type 1 diabetes according to age. *Diabet. Med.* 27, 753–761.
- Philips, J.C., Marchand, M., Scheen, A.J., 2010b. Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared to nondiabetic controls. *Diabetes Care* 33, 2424–2429.
- Raj, S.R., 2010. Highlights in clinical autonomic neurosciences: orthostatic tachycardia and orthostatic hypotension. *Auton. Neurosci.* 154, 1–2.
- Rickards, C.A., Newman, D.G., 2003. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur. J. Appl. Physiol.* 90, 449–457.
- Rosberg, F., Penaz, J., 1988. Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur. J. Appl. Physiol.* 57, 93–97.
- Scheen, A.J., Juchmes, J., Pochet, Th., 1990. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab. Metab.* 16, 382–384.
- Schutzman, J., Jaeger, F., Maloney, J., Fouad-Tarazi, F., 1994. Head-up tilt and hemodynamic changes during orthostatic hypotension in patients with supine hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 24, 454–461.
- Smit, A.A., Wieling, W., Fujimura, J., Denq, J.C., Opfer-Gehrking, T.L., Akarriou, M., Karemaker, J.M., Low, P.A., 2004. Use of lower abdominal compression to combat orthostatic hypotension in patients with autonomic dysfunction. *Clin. Auton. Res.* 14, 167–175.
- Smith, J.J., Porth, C.M., Erickson, M., 1994. Hemodynamic response to the upright posture. *J. Clin. Pharmacol.* 34, 375–386.
- Somers, V.K., Abboud, F.M., 1996. Neurocardiogenic syncope. *Adv. Intern. Med.* 41, 399–435.
- Stewart, J.M., 2002. Pooling in chronic orthostatic intolerance: arterial vasoconstrictive but not venous compliance defects. *Circulation* 105, 2274–2281.
- Stewart, J.M., Weldon, A., 2003. Contrasting neurovascular findings in chronic orthostatic intolerance and neurocardiogenic syncope. *Clin. Sci.* 104, 329–340.
- Titianova, E., Karakaneva, S., Velcheva, I., 1997. Orthostatic dysregulation in progressive autonomic failure—a transcranial Doppler sonography monitoring. *J. Neurol. Sci.* 146, 87–91.
- Tutaj, M., Marthol, H., Berlin, D., Brown, C.M., Axelrod, F.B., Hiltz, M.J., 2006. Effect of physical countermeasures on orthostatic hypotension in familial dysautonomia. *J. Neurol.* 253, 65–72.
- van Lieshout, J.J., ten Harkel, A.D., Wieling, W., 1992. Physical manoeuvres for combating orthostatic dizziness in autonomic failure. *Lancet* 339, 897–898.
- Weimer, L.H., 2010. Autonomic testing: common techniques and clinical applications. *Neurologist* 16, 215–222.
- Wieling, W., van Lieshout, J.J., van Leeuwen, A.M., 1993. Physical manoeuvres that reduce postural hypotension in autonomic failure. *Clin. Auton. Res.* 3, 57–65.
- Wieling, W., Colman, N., Krediet, C.T., Freeman, R., 2004. Nonpharmacological treatment of reflex syncope. *Clin. Auton. Res.* 14 (Suppl 1), 62–70.
- Wieling, W., Krediet, C.T., van Dijk, N., Linzer, M., Tschakovsky, M.E., 2007. Initial orthostatic hypotension: review of a forgotten condition. *Clin. Sci. Lond.* 112, 157–165.

Review

Squatting, a posture test for studying cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes

J.C. Philips, M. Marchand, A.J. Scheen*

Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

Received 15 July 2011; received in revised form 23 September 2011; accepted 29 September 2011

Available online 8 November 2011

Abstract

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) is a frequent complication of diabetes mellitus, which is associated with increased morbidity and mortality. It involves both the parasympathetic and sympathetic nervous systems, and may be diagnosed by classical dynamic tests with measurements of heart rate (HR) and/or arterial blood pressure (BP). An original squat test (1-min standing, 1-min squatting, 1-min standing) was used with continuous monitoring of HR and BP, using a Finapres® device. This active test imposes greater postural stress than the passive head-up tilt test, and provokes large changes in BP and HR that can be analyzed to derive indices of CAN. In healthy subjects, squatting is associated with BP increases and HR decreases (abolished by atropine: SqTv index), whereas the squat–stand transition is accompanied by a deep but transient drop in BP associated with sympathetic-driven tachycardia (abolished by propranolol: SqTs index). In diabetic patients with CAN, BP increases are accentuated during squatting whereas reflex bradycardia is reduced. When standing from squatting position, the fall in BP tends to be more pronounced and orthostatic hypotension more prolonged, while reflex tachycardia is markedly dampened. The baroreflex gain, similar to that calculated during pharmacological testing with vasodilator/vasopressor agents, can be derived by plotting pulse intervals (R–R) against systolic BP levels during the biphasic response following the squat–stand transition. The slope, which represents baroreflex sensitivity, is significantly reduced in patients with CAN. This discriminatory index allows study of the natural history of CAN in a large cohort of diabetic patients.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Baroreflex sensitivity; Cardiovascular autonomic neuropathy; Finapres®; Squatting; Diabetes; Heart rate; Orthostatic hypotension; Posture test; Review

Résumé

Test postural d'accroupissement pour étudier la neuropathie autonome cardiovasculaire diabétique.

La neuropathie autonome cardiaque (NAC) est une complication fréquente du diabète qui est associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité. Elle concerne à la fois les systèmes parasympathique et sympathique et peut être diagnostiquée classiquement par des tests dynamiques avec mesure des variations de la fréquence cardiaque (FC) et de la pression artérielle (PA). Notre groupe a utilisé un test postural original (1-min debout–1-min accroupi ou « *squatting* »–1-min debout) avec un monitoring continu de FC et PA avec un appareil Finapres®. Ce test de redressement actif impose un stress postural plus prononcé que le test d'inclinaison passif sur une table basculante et provoque des variations amples de PA et FC qui peuvent être analysées pour dériver des indices de NAC. Chez des sujets sains, le « *squatting* » entraîne une augmentation de PA et une diminution de FC (abolie par l'atropine : indice SqTv) alors que la transition accroupi-debout induit une chute importante mais transitoire de PA accompagnée d'une tachycardie d'origine sympathique (abolie par le propranolol : indice SqTs). Chez les patients diabétiques avec NAC, l'augmentation de PA durant le « *squatting* » est accentuée alors que la bradycardie réflexe est réduite. Lors du passage de la position accroupie à la position debout, la chute de PA tend à être plus marquée et surtout plus prolongée alors que la tachycardie réflexe est amputée. Un gain baroréflexe, similaire à celui calculé lors d'un test pharmacologique avec des agents vasodilatateurs/vasopresseurs, peut être dérivé de la pente de la relation linéaire entre les intervalles R–R et la PA systolique suivant la transition accroupi-debout. Cette pente, qui représente la sensibilité du baroréflexe, est significativement diminuée chez les patients avec NAC. Cet indice performant nous a permis d'étudier l'histoire naturelle de la NAC dans une large cohorte de patients diabétiques.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Baroréflexe ; Diabète ; Finapres® ; Fréquence cardiaque ; Hypotension orthostatique ; Neuropathie autonome cardiovasculaire ; Pression artérielle ; Revue générale

* Corresponding author.

E-mail address: andre.scheen@chu.ulg.ac.be (A.J. Scheen).

1. Introduction

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) is a classical, albeit underestimated, complication of diabetes mellitus (DM) in both type 1 (T1DM) and type 2 (T2DM) categories [1,2]. The most recognized features associated with CAN are reduced heart rate (HR) variability [3] and postural hypotension [4]. CAN is responsible for an increased risk in mortality, as revealed by a meta-analysis published in 2003 [5], and confirmed by two recent studies of patients with T1DM [6] and T2DM [7]. Therefore, the early diagnosis of CAN is recommended in clinical practice [1].

Non-invasive continuous monitoring of HR and arterial blood pressure (BP), using devices such as Finapres[®] and Finometer[®], has greatly facilitated the study of haemodynamic changes during posture tests in clinical research and practice [8,9]. Various posture tests are classically used to assess haemodynamic adaptation and autonomic function [10,11]. The most commonly used tests are the lying-to-standing active manoeuvre in clinical practice, and the head-up 70°-tilt table test passive manoeuvre in clinical research [11]. Another active test, the so-called squat test, produces the strongest orthostatic stress [10,12], more so than the head-up tilt [10,13,14], and can therefore be used to assess autonomic dysfunction [15]. Indeed, careful analysis of BP and HR changes during the transitions from standing to squatting and, even more interesting, from squatting to standing, provides invaluable information [8]. The squat test can be used to assess autonomic dysfunction especially through calculation of the so-called baroreflex gain [12,15]. Our research group [16], as with others [13,17,18], was particularly interested in applying this original potent posture test to assess diabetic CAN.

The aim of the present review was to analyze the information obtained by continuously measuring BP and HR changes during a squat test to derive indices of CAN in patients with T1DM and T2DM (Table 1).

2. Guidelines for the detection of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN)

The CAN Subcommittee of Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy recently published updated guidelines that were especially focused on the diagnosis and usefulness of CAN testing [1]. Criteria for CAN diagnosis and staging are:

- one abnormal cardiovagal test to identify possible or early CAN;
- at least two abnormal cardiovagal tests to identify definite or confirmed CAN;
- the presence of orthostatic hypotension, in addition to HR test abnormalities, to identify severe or advanced CAN.

Progressive stages of CAN are associated with an increasingly poorer prognosis.

The same committee critically reviewed the limitations and strengths of the available diagnostic approaches for CAN, and emphasized the need to develop new tests for autonomic function. It was concluded that the most sensitive and specific

Table 1

Summary of haemodynamic changes, derived indices and abnormalities in the presence of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) during the three successive phases of the squat test (standing–squatting–standing).

Posture	Standing	Squatting	Standing
Haemodynamic changes	Baseline	↑ BP ↑ PP ↓ HR	↓ BP (transient) ↑ HR (transient)
Squatting-derived indices		SqTv	SqTs Baroreflex gain
Abnormalities in presence of CAN	↑ HR (fixed tachycardia)	Dampened bradycardia ↑ SqTv ↑ BP ↑ PP ↑ Pulsatile stress	Dampened tachycardia ↓ SqTs ↓ Baroreflex gain Orthostatic hypotension, (accentuated, prolonged)

↑: increased; ↓: decreased; BP: blood pressure; PP: pulse pressure; HR: heart rate; SqTv: vagal index, or ratio between baseline cardiac R–R interval in initial standing position and longest R–R interval in the first 15 s of squatting; SqTs: sympathetic index, or ratio between baseline cardiac R–R interval and shortest R–R interval in the first 10 to 20 s of standing after squatting; Pulsatile stress = PP × HR.

approaches currently available to evaluate CAN in clinical research are:

- HR variability;
- baroreflex sensitivity;
- muscle sympathetic nerve activity;
- plasma catecholamines;
- heart sympathetic imaging.

It was also recommended that efforts be undertaken to develop new non-invasive and safe CAN tests to be used in clinical research with higher sensitivity and specificity for studying the pathophysiology of CAN, as well as new therapeutic approaches [11].

3. Haemodynamic changes during squatting and the squat–stand transition

Our experimental squat test protocol (1-min standing, 1-min squatting, 1-min standing) included two successive transitions: first, from standing to squatting; and, second, from squatting to standing. Each transition provokes specific haemodynamic changes that can be monitored by a Finapres device, as recently described in detail elsewhere (Fig. 1) [12].

The transition from standing to squatting elicits muscle pumping and increased venous return, which leads to prompt increases in cardiac output, systolic BP, and pulse pressure (PP), followed by reflex bradycardia [12,19]. Bradycardia was shown to be significantly dampened by the administration of atropine in healthy volunteers, consistent with vagal activation [17], and was not observed in heart transplant recipients [20]. Forearm

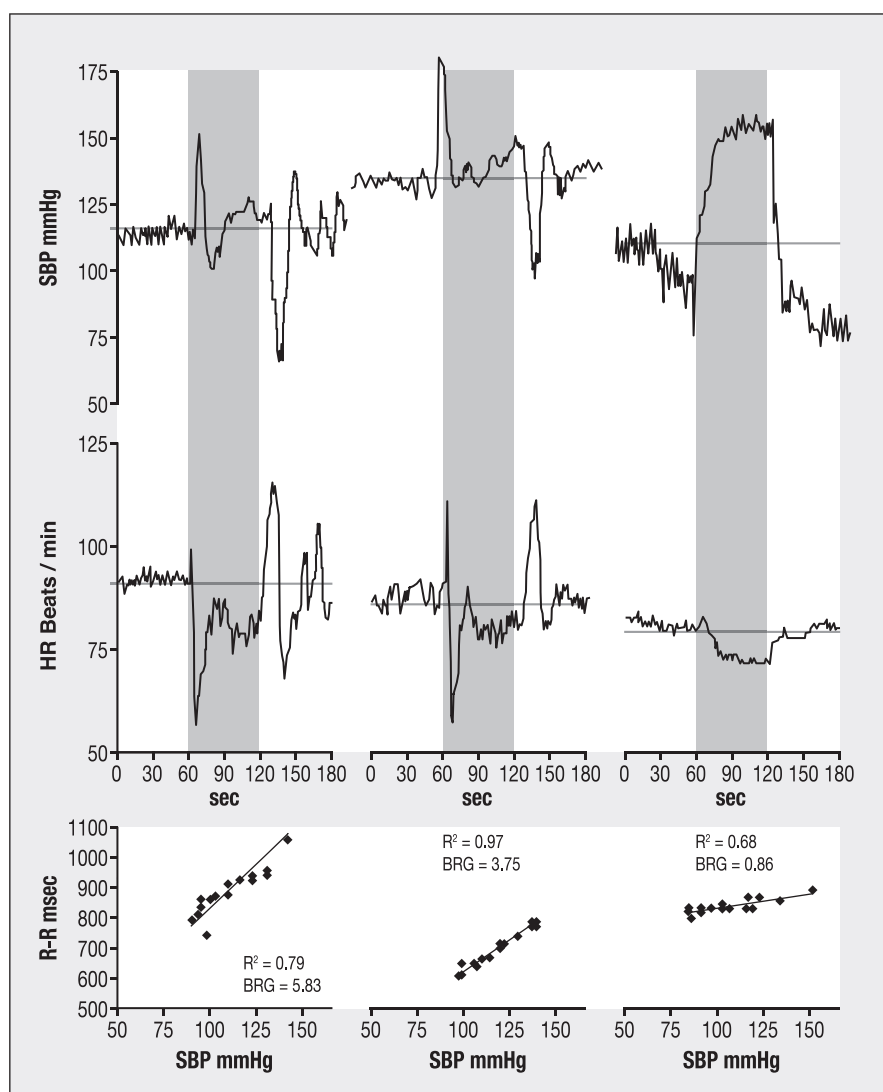


Fig. 1. Changes in systolic blood pressure (SBP) and heart rate (beats/min) during a squat test (1-min standing, 1-min squatting, 1-min standing) in: (left column) a representative healthy subject (R–R E/I ratio = 1.38); (middle column) a patient with type 1 diabetes mellitus (T1DM) without cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) (R–R E/I ratio = 1.41); and (right column) a patient with T1DM complicated by severe cardiovascular autonomic neuropathy (R–R E/I ratio = 1.08). The lowermost row shows the mode of calculation of baroreflex gain (BRG) in each subject by plotting the pulse intervals (R–R) against the SBP following the transition phase from squatting to standing.

vascular resistance was markedly decreased in squatting position in healthy individuals, but only minimally in patients with heart transplants, despite similar BP increases [20].

The squat–stand transition provokes an immediate sizeable reduction in BP, reflecting an instantaneous fall in systemic vascular resistance due to vasodilatation in the leg muscles (an effect that can be minimized by lower-body skeletal muscle-tensing) [21,22]. In normal, healthy subjects, cardiac output increases over the first 5 s after standing from squatting position due to compression of the leg and abdominal vessels. Rapid (within 15–20 s) BP recovery implies baroreflex stimulation [8], which is associated with tachycardia and secondary peripheral vasoconstriction [12,15]. Propranolol can markedly attenuate reflex tachycardia in normal subjects, suggesting that sympathetic activation plays a key role in this abrupt HR rise [17].

4. Detection of diabetic CAN during a squat test

4.1. Heart rate changes

In healthy individuals during autonomic blockade, HR changes are mainly controlled by vagal tone (blocked by atropine) during squatting and sympathetic tone (blocked by propranolol) during standing [17,18]. Therefore, such HR responses may be useful for assessing the functional integrity of the parasympathetic and sympathetic nerves, respectively, in patients with DM. Marfella and colleagues [17] proposed calculating a so-called vagal index (SqTv, the ratio between the baseline cardiac R–R interval in the initial standing position and the longest R–R interval in the first 15 s of squatting) and a so-called sympathetic index (SqTs, the ratio between the baseline cardiac R–R interval and the shortest R–R interval in the

first 10–20 s of standing after squatting). These indices, based on HR reduction during squatting and reflex tachycardia during standing, are considered markers of CAN: a higher SqTv value indicates parasympathetic neuropathy; while a lower SqTs is an indicator of sympathetic neuropathy (Table 1) [17].

Both SqTv and SqTs indices were calculated in a large cohort of healthy subjects and diabetic patients (one-third T1DM, two-thirds T2DM), all of whom submitted to standardized squat-testing [17]. Normal ranges of SqT ratios for healthy subjects aged 20–74 years showed a statistically significant negative correlation with age. The SqTv was outside the 99% confidence interval (CI) in 42% of the diabetic patients vs 1.3% of the control subjects; the corresponding figures for the SqTs were 40% and 0.8%, respectively. Age and duration of diabetes had a negative influence on both SqTv and SqTs ratios. In the same study, SqT ratios were compared with other reflex tests currently used for the diagnosis of CAN, including deep-breathing, lying-to-standing, the Valsalva manoeuvre and BP changes after standing (orthostatic hypotension) [2,11]. The conclusion was that SqT ratios can discriminate between healthy subjects and diabetic patients to an equal or greater extent than other tests, but are better than other tests on their own at identifying mild autonomic involvement [17].

The same Italian group reported that more diabetic patients treated with tolrestat, an aldose-reductase inhibitor, for 52 weeks had normalized SqTv or SqTs indices than those in the placebo group [23]. In another study, the same researchers reported that these squatting ratios significantly deteriorated after acute hyperglycaemia in T2DM patients ($P < 0.01$) [24]. Such changes were prevented by glutathione and reversed by L-arginine, suggesting their possible interference with endogenous nitric-oxide (NO) availability. Similar findings had been previously reported in healthy volunteers subjected to acute elevations of plasma glucose concentrations (15 mmol/L, a level similar to that observed in poorly-controlled diabetic patients); in that study, hyperglycaemia produced relevant systemic haemodynamic changes (increases in BP and HR) and altered baroreflex activity (also assessed during a squat test). These haemodynamic changes were completely reversed by simultaneous infusion of glutathione, a free-radical scavenger that lowers oxidative stress, thereby suggesting a role for a glutathione-sensitive, presumably free-radical-mediated pathway [25].

In a more recent study performed in Japanese T2DM patients, average changes in HR were calculated after completing the squatting (Δ -HRSq) and standing (Δ -HRSt) manoeuvre [18], and a positive correlation was noted between Δ -HRSq and Δ -HRSt ($r = 0.86$, $P < 0.0001$). Furthermore, both indices significantly correlated with baroreflex sensitivity, as measured using the phenylephrine reference method (see below; $r = 0.66$, $P < 0.0001$ and $r = 0.61$, $P < 0.0001$, respectively). The authors concluded that these squatting-derived indices based on HR variations provide useful information for assessing CAN and for identifying diabetic patients at high risk of cardiovascular events.

In a cross-sectional controlled study, 159 patients with T1DM of various durations were evaluated during a 3-min squat test [16]. CAN was assessed by the R–R interval expiration/inspiration (E/I) ratio during deep breathing, and by the

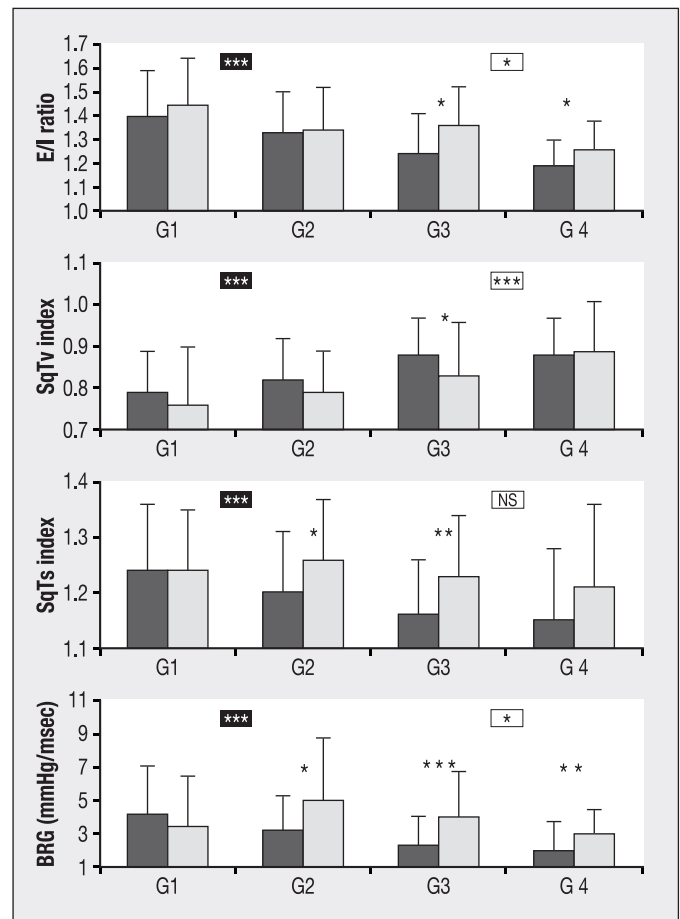


Fig. 2. Comparison of various indices (means \pm SD) of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) according to age (G1: 20–30 years; G2: 31–40 years; G3: 41–50 years; G4: 51–60 years; $n = 40$ in each group) in patients with type 1 diabetes (black histograms) vs age-, gender- and BMI (body mass index)-matched healthy subjects (white histograms): R–R expiration/inspiration (E/I) ratio; vagal index (SqTv); sympathetic index (SqTs); and baroreflex gain (BRG). Statistical analysis used analysis of variance (Anova) for trends with age in each population (stars in boxes), and Student's unpaired t test for differences between diabetic patients and non-diabetic subjects in each age group (stars above each pair of histograms). Data are from the cohort reported in Philips et al. [26].

SqTv and SqTs squatting-derived indices according to Marfella et al. [17]. While the R–R E/I ratio ($P < 0.0001$) progressively decreased with diabetes duration, the parasympathetic index SqTv significantly increased ($P < 0.0001$), whereas the sympathetic index SqTs only tended towards decrease ($P = 0.12$). In contrast, no such changes in CAN indices were observed in an age-matched non-diabetic population. Classically, parasympathetic dysfunction precedes sympathetic dysfunction in diabetic CAN [1,2]. In agreement with this observation, the SqTv index was markedly and significantly affected by diabetes duration, whereas changes in SqTs failed to reach the level of statistical significance in this T1DM population. However, in a larger database with a better balance according to age [26], SqTv significantly increased and SqTs significantly decreased across various age groups (from 20 to 60 years) in a T1DM population, as was the case for the R–R E/I ratio (Fig. 2). In a controlled age-, gender- and BMI (body mass index)-matched non-diabetic population, SqTv significantly decreased according to age, but

not SqTs. Furthermore, it was confirmed that both SqTv and SqTs indices were significantly altered in diabetes on comparing middle-aged patients with long-duration T1DM and their age-matched healthy, non-diabetic controls [27].

In a recent study [28], haemodynamic changes during a squat test were compared in 20 T1DM patients with low R–R E/I ratios during a deep-breathing test (used as a marker of CAN) and 40 matched healthy subjects. Compared with the controls, the diabetic patients had lower R–R E/I ratios (1.05 vs 1.29; $P < 0.00001$), higher HR values throughout the posture test (90 vs 82 beats.min⁻¹; $P = 0.0252$) and reduced reflex tachycardia following the transition from squatting to standing (+18 vs +32 beats.min⁻¹; $P = 0.0004$), thereby significantly reducing SqTs (1.10 vs 1.22; $P = 0.0001$).

4.2. Blood pressure changes

The standing–squatting shift normally results in a transient first-phase BP burst followed by a secondary, more sustained, BP rise that, nevertheless, is still of somewhat small amplitude in healthy subjects (Fig. 1) [12]. It was reported in a large cohort of 159 T1DM patients that squatting was associated with a greater increase in BP and PP according to diabetes duration (especially after 20 years of disease duration) and age than in non-diabetic controls, a finding that was attributed to accelerated arterial stiffness resulting from chronic hyperglycaemia [16,29]. In patients with T1DM and orthostatic hypotension (due to advanced CAN), a larger, sustained increase in BP was observed in the squatting position (Fig. 1), an observation in agreement with the use of squatting to counteract dizziness due to orthostatic hypotension in subjects with autonomic dysfunction [15]. However, whether the increase in BP and PP during squatting can exaggerate cardiovascular risk in certain conditions and/or some patients remains unknown.

The transition from squatting to standing results in an abrupt transient fall in BP that, in healthy subjects, is followed by a rapid return to baseline values according to a biphasic response (Fig. 1). In one detailed description, mean BP reached minimum after 7 s and, thereafter, increased to a new level, close to baseline level, within around 15 s [8].

A pilot study compared BP changes during three posture tests (lying-to-standing, sitting-to-standing and a squat test) in 10 healthy subjects, 10 T2DM patients without CAN and 10 T2DM patients with CAN assessed by the presence of a pathological R–R E/I ratio during a deep-breathing test [13]. A significantly greater BP drop was seen in T2DM patients with CAN compared with T2DM patients without CAN and the non-diabetic subjects ($P < 0.001$). Significant correlations were also observed between BP fall after squatting and either the R–R E/I ratio on deep breathing ($r = -0.77$, $P < 0.001$) or the duration of diabetes ($r = 0.76$, $P < 0.001$). Thus, the intrinsic orthostatic load of the squat test, which is greater than those in conventional postural manoeuvres [10,13,14], makes squatting a useful test for detecting early autonomic dysregulation leading to orthostatic hypotension [13,15].

In a similar, more recent study [28], haemodynamic changes during an active orthostatic test were compared in 20 T1DM

patients with low R–R E/I ratios during a deep-breathing test (used as a marker of CAN) and 40 matched healthy subjects. Compared with the controls, the diabetic patients did not exhibit any significantly greater initial BP drop but, instead, showed a delayed BP return to baseline after standing (33 vs 21 s; $P = 0.0167$); this abnormal response may be explained by dampened reflex tachycardia and presumably by reduced sympathetic-driven vasoconstriction.

4.3. Baroreflex sensitivity

Considered one of the most sensitive and specific approaches currently available to evaluate CAN in clinical research [11], the sensitivity of the arterial baroreflex (baroreflex gain, BRG) is routinely calculated from the relationship between HR increase and/or decrease responses (translated into respective R–R interval changes) and decreases and/or increases in arterial systolic BP [30,31]. The classical assessment of BRG uses a pharmacological approach, involving the infusion of angiotensin or phenylephrine to generate a vasopressor stimulus, associated with reflex bradycardia, and nitroprusside or amyl nitrite to induce vasodilatation and a fall in BP, associated with reflex tachycardia [32]. These pharmacological tools were designed to drastically perturb the system, thereby inducing rapid and large HR responses to facilitate the assessment of reflex gain. Indeed, baroreceptor responses are most apparent with rapidly changing pressures, rather than stationary or minimally changing BP levels during continuous monitoring under resting conditions [33]. It has also been reported that measurements of baroreflex sensitivity using non-invasive methods (Finapres) are highly correlated with measurements using intra-arterial invasive methods and can provide the equivalent prognostic information [34].

As previously reported by our group [16] and others [35,36], and as recently described in detail [12,16], the squat test can be used as an alternative dynamic procedure to assess BRG. During the transition from squatting to standing, there is an abrupt drop in BP associated with reflex tachycardia, and the initial changes are followed by a rapid return to the baseline values of both parameters (secondary BP increase and HR decrease; Fig. 1). Propranolol can markedly attenuate reflex tachycardia on standing from squatting [17,18]. The large biphasic mirrored changes in HR and systolic BP during a squat–stand test allow the calculation of BRG; indeed, such haemodynamic changes are almost identical to those seen with a vasodilator drug (hypotension with reflex tachycardia) and a vasoconstrictor agent (hypertension associated with bradycardia), although the haemodynamic changes occur more quickly in the squat test [18,30]. As previously described [12], BRG can be calculated by plotting the pulse intervals (R–R) against systolic BP following the transition phase from squatting to standing. The slope represents baroreflex sensitivity [36], and corresponds to changes in R–R pulse intervals per mm change in systolic BP (Fig. 1). Acceptable reproducibility of BRG measurement was also demonstrated in 70 (diabetic and non-diabetic) subjects who performed two squat–stand tests [12]. The BRG results in healthy subjects according to gender, BMI and age were also presented in a previous review [12].

Table 2
Comparison of baroreflex gain (BRG) calculated during a squat–stand test in patients with type 1 diabetes (T1DM), according to various criteria, and patients with type 2 diabetes (T2DM).

Subjects (group 1 vs group 2) and criteria	Reference	BRG group 1	BRG group 2	<i>P</i>
T1DM by diabetes duration: ≤ 10 vs 21–30 years	Philips et al., 2009 [16]	4.06 ± 2.42 (<i>n</i> = 39)	2.23 ± 1.95 (<i>n</i> = 57)	0.00024
T1DM by age: 20–30 vs 51–60 years	Philips et al., 2010 [26]	4.10 ± 2.93 (<i>n</i> = 40)	1.93 ± 1.74 (<i>n</i> = 40)	0.0002
T1DM by R–R E/I ratio: high (mean 1.27) vs low (mean 1.05)	Philips et al., 2011 [28]	2.43 ± 1.57 (<i>n</i> = 20)	1.39 ± 1.39 (<i>n</i> = 20)	0.0374
T1DM by μ A: < 30 vs ≥ 30 mg/L	Scheen et al., 2011 [37]	3.07 ± 2.45 (<i>n</i> = 136)	1.55 ± 1.67 (<i>n</i> = 26)	0.0005
T1DM by pulsatile stress: ^a ≤ 4500 vs > 4500 mmHg.min ⁻¹	Philips et al., 2010 [26]	3.33 ± 2.73 (<i>n</i> = 70)	2.52 ± 1.91 (<i>n</i> = 90)	0.038
T1DM by HbA _{1c} : ^b ≤ 8% (mean 7.4) vs > 8% (mean 9.4)	Philips et al., 2004 [38]	3.05 ± 1.10 (<i>n</i> = 21)	2.13 ± 1.59 (<i>n</i> = 27)	0.037
Middle-aged (50 years): lean controls vs T1DM patients	Philips et al., 2010 [27]	4.11 ± 2.26 (<i>n</i> = 40)	2.20 ± 1.73 (<i>n</i> = 40)	0.0002
Middle-aged (50 years): obese controls vs T2DM patients	Philips et al., 2010 [27]	2.97 ± 2.18 (<i>n</i> = 40)	2.05 ± 1.31 (<i>n</i> = 40)	0.0351

Results are expressed as means ± SD; *n* = number of subjects; μ A: microalbuminuria.

^a PP × HR, calculated during the whole 3-min squatting test.

^b In a longitudinal study after a mean follow-up of 43 ± 17 months, BRG significantly decreased from 3.89 to 2.13 ms/mmHg (*P* = 0.02) in type 1 diabetes (T1DM) patients with poor glucose control, but not in patients with acceptable glucose control (from 4.16 to 3.05 ms/mmHg, NS).

BRG measurements during a squat test have been used extensively by our group to assess CAN in diabetic individuals, mostly patients with T1DM. As summarized in Table 2, it was previously demonstrated that baroreflex gain is significantly reduced in T1DM patients with (a) longer disease duration [16], (b) greater age [26], (c) low R–R E/I ratios [28], (d) microalbuminuria (μ A) [37], (e) increased pulsatile stress [26], (f) poor metabolic control [38] and (g) compared with age-matched middle-aged non-diabetic individuals (which was also the case for T2DM patients compared with weight- and age-matched healthy subjects) [27].

In addition, it was previously reported that BRG progressively decreased according to duration of disease in a population of patients with T1DM, whereas such a reduction was not significant in a control non-diabetic population matched for age [16]. In a larger database [26], the progressive reduction in BRG according to age was more pronounced in T1DM patients compared with an age-, gender- and BMI-matched non-diabetic population (Fig. 2). Our results might suggest that BRG reduction occurs at an earlier stage than the R–R E/I ratio in the natural history of CAN in T1DM patients. These observations, obtained during a squat test, are in agreement with previous data reporting baroreceptor cardiac reflex sensitivity measured during phase 4 of the Valsalva manoeuvre [39]. In that study, reductions in baroreflex sensitivity were detected in T1DM patients compared with controls (although standard tests of autonomic function revealed no significant differences). Furthermore, there were significant relationships between baroreflex impairment and the duration of diabetes (*P* < 0.001) and poor diabetes control (*P* < 0.05).

On comparing the relationship of two markers of CAN — the R–R E/I ratio measured during a deep-breathing test and BRG assessed during a squat test — with μ A and pulsatile stress (the product of PP and HR) in 167 patients with T1DM [37], the patients with low BRG had an increased pulsatile stress index, especially in squatting position (*P* < 0.0001). Similarly, μ A was significantly higher in T1DM patients with low BRG (*P* = 0.0001). Also, there was an inverse correlation between BRG and log μ A (*r* = −0.28, *P* = 0.0006), but not between R–R E/I ratio and log μ A (*r* = 0.09, *P* = 0.12). Thus, the calculation of BRG during a squat–stand test in patients with T1DM allows for better detection of those patients with increased pulsatile stress, and even more so in patients with μ A, than the classical CAN index R–R E/I ratio. Thus, a decreased BRG measured during a squat test may be used to detect T1DM patients at high risk of cardiorenal complications compared with other current techniques [40].

In addition, to investigate the influence of blood glucose control on the progression of indices of CAN in patients with T1DM, 48 patients were subjected twice to a squat test over a time interval of 43 ± 17 months (range: 16–91 months) [38]. Overall blood glucose control was estimated by the mean value of several glycated haemoglobin (HbA_{1c}) measurements between the two tests, and patients were separated into two subgroups: HbA_{1c} levels ≤ 8% (in 21 patients; 7.42 ± 0.60%) vs > 8% (in 27 patients; 9.44 ± 1.04%). BRG tended to be negatively related (*P* < 0.10) to the duration of diabetes at the initial evaluation (19 ± 10 years, range: 3–38 years). Overall, this index of CAN decreased from 4.00 ± 3.41 to 2.53 ± 1.46 ms/mmHg

($P = 0.008$) during the 3.5-year period separating the two orthostatic tests. The BRG reduction was significant in patients with poor glucose control (from 3.89 to 2.13 ms/mmHg; $P = 0.02$), but not in patients with acceptable control (from 4.16 to 3.05 ms/mmHg; not significant, NS). While no significant differences were observed between the two groups at the initial evaluation, BRG was significantly lower at the second evaluation in the poorly-controlled vs better-controlled group ($P < 0.05$; Table 2). Significant negative correlations were also found between changes in BRG from test 1 to test 2 and mean HbA_{1c} levels during the period between the two tests ($r = -0.304$, $P < 0.01$), and between BRG at the second evaluation and the corresponding averaged HbA_{1c} levels ($r = -0.409$, $P < 0.001$), thereby confirming previous observations from a cross-sectional study [39]. Thus, in patients with long-standing (almost 20 years) T1DM, a period of 3 to 4 years with poor glucose control is sufficient to significantly decrease BRG [38].

These longitudinal observations need to be confirmed in a larger cohort of patients with longer follow-up. Interestingly, in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), T1DM patients (duration of disease < 15 years) were randomly assigned to either conventional (mean HbA_{1c} around 9%) or intensive (mean HbA_{1c} around 7%) therapy and followed for up to 9 years. Baseline and biannual measurements of autonomic function (R–R E/I variation, Valsalva ratio and postural testing) were performed throughout the trial. In general, autonomic abnormalities increased; however, R–R variation was less frequently abnormal in the intensively treated and better-controlled T1DM patients (an almost 2% difference in HbA_{1c} level, as in our study) [41]. The Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study, a prospective observational follow-up of the DCCT cohort, reported persistent benefits with prior intensive therapy of CAN 13 to 14 years after the DCCT closeout. Prior DCCT intensive therapy (and, thus, better glucose control) reduced the risks of incident CAN by almost 30% [42]. Similarly, in the Steno-2 trial, a target-driven, long-term, intensified intervention aimed at multiple risk factors in patients with T2DM (and also aiming to improve glucose control) reduced the risk of CAN by almost 60% after a mean follow-up of around 8 years [43]. These consistent results highlight the importance of good metabolic control in delaying the onset or slowing the progression of CAN in diabetic patients.

5. Conclusion

A recent consensus document critically reviewed the limitations and strengths of the available diagnostic approaches for CAN, and emphasized the need to develop new tests of autonomic function, although baroreflex sensitivity measurement is still considered to be among the most sensitive and specific approaches [11]. Our group used an original posture test, the squat test, to detect early signs of CAN in patients with DM. The substantial biphasic changes in systolic BP and HR arising during the initial squat–stand transition phase mimic those observed during pharmacological tests using vasodilator/vasopressor agents. By plotting the R–R intervals according to systolic BP changes following the squat–stand transitions,

the calculated BRG may be used to assess cardiovagal baroreflex sensitivity and autonomic function. It was also demonstrated that a BRG reduction calculated during a squat test is more informative for detecting early CAN in patients with T1DM than a decreased R–R E/I ratio measured during a deep-breathing test, a classical CAN index widely used in clinical research, or other squatting-related indices derived only from HR changes. Although some individuals (such as the elderly and very obese) may find it difficult or even impossible to perform the squatting manoeuvre, in our experience, most patients with T1DM can be appropriately evaluated by this posture test.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Acknowledgement

The experimental work underlying this review was supported by an unrestricted research grant from Novo Nordisk Belgium.

References

- [1] Spallone V, Ziegler D, Freeman R, Bernardi L, Frontoni S, Pop-Busui R, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; Epub 2011/06/23.
- [2] Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2007;115:387–97.
- [3] Risk M, Brill V, Broadbridge C, Cohen A. Heart rate variability measurement in diabetic neuropathy: review of methods. *Diabetes Technol Ther* 2001;3:63–76.
- [4] Purewal TS, Watkins PJ. Postural hypotension in diabetic autonomic neuropathy: a review. *Diabet Med* 1995;12:192–200.
- [5] 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;26:1895–901.
- [6] Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the Eurodiab prospective complications study (PCS). *Diabetes Care* 2008;31:1360–6.
- [7] Pop-Busui R, Evans GW, Gerstein HC, Fonseca V, Fleg JL, Hoogwerf BJ, et al. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the Action to control cardiovascular risk in diabetes (Accord) trial. *Diabetes Care* 2010;33:1578–84.
- [8] Rossberg F, Penaz J. Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988;57:93–7.
- [9] Imholz BP, Settels JJ, van der Meiracker AH, Wesseling KH, Wieling W. Non-invasive continuous finger blood pressure measurement during orthostatic stress compared to intra-arterial pressure. *Cardiovasc Res* 1990;24:214–21.
- [10] Scheen AJ, Juchmes J, Pochet T. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab Metab* 1990;16:382–4.
- [11] Bernardi L, Spallone V, Stevens M, Hilsted J, Frontoni S, Pop-Busui R, et al. Investigation methods for cardiac autonomic function in human research studies. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; Epub 2011/06/23.
- [12] Scheen A, Philips J-C. Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity. *Clin Aut Res* 2011; Epub 2011/08/04.

- [13] Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, Di Maro G, Giunta R, Torella R, et al. Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 1994;17:149–51.
- [14] Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003;90:449–57.
- [15] Philips JC, Scheen AJ. Squatting test: A posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction. *Auton Neurosci* 2011;162:3–9.
- [16] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25:442–51.
- [17] Marfella R, Giugliano D, di Maro G, Acampora R, Giunta R, D'Onofrio F. The squatting test. A useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994;43:607–12.
- [18] Nakagawa M, Shinohara T, Anan F, Yufu K, Takahashi N, Okada N, et al. New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008;25:1309–15.
- [19] O'Donnell TV, Mc IM. The circulatory effects of squatting. *Am Heart J* 1962;64:347–56.
- [20] Hanson P, Slane PR, Rueckert PA, Clark SV. Squatting revisited: comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br Heart J* 1995;74:154–8.
- [21] Krediet CT, Go-Schon IK, Kim YS, Linzer M, Van Lieshout JJ, Wieling W. Management of initial orthostatic hypotension: lower body muscle-tensing attenuates the transient arterial blood pressure decrease upon standing from squatting. *Clin Sci (Lond)* 2007;113:401–7.
- [22] Krediet CT, Go-Schon IK, van Lieshout JJ, Wieling W. Optimizing squatting as a physical maneuver to prevent vasovagal syncope. *Clin Auton Res* 2008;18:179–86.
- [23] Giugliano D, Acampora R, Marfella R, Di Maro G, De Rosa N, Misso L, et al. Tolrestat in the primary prevention of diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1995;18:536–41.
- [24] Marfella R, Nappo F, De Angelis L, Paolisso G, Tagliamonte MR, Giugliano D. Haemodynamic effects of acute hyperglycemia in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000;23:658–63.
- [25] Marfella R, Verrazzo G, Acampora R, La Marca C, Giunta R, Lucarelli C, et al. Glutathione reverses systemic haemodynamic changes induced by acute hyperglycemia in healthy subjects. *Am J Physiol* 1995;268:E1167–73.
- [26] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure \times heart rate product during squatting in type 1 diabetes according to age. *Diab Med* 2010;27:753–61.
- [27] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared with non diabetic control subjects. *Diabetes Care* 2010;33:2424–9.
- [28] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Haemodynamic changes during a squat test, pulsatile stress and indices of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with long-duration type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 2011, doi:10.1016/j.diabet.2011.07.007.
- [29] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:322–4.
- [30] La Rovere MT, Pinna GD, Raczak G. Baroreflex sensitivity: measurement and clinical implications. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2008;13:191–207.
- [31] Parati G, Di Rienzo M, Mancia G. How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens* 2000;18:7–19.
- [32] Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, Halliwill JR, Tahvanainen KU, Kuusela TA, et al. Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol* 1999;276:H1691–8.
- [33] Lipman RD, Salisbury JK, Taylor JA. Spontaneous indices are inconsistent with arterial baroreflex gain. *Hypertension* 2003;42:481–7.
- [34] Pinna GD, La Rovere MT, Maestri R, Mortara A, Bigger JT, Schwartz PJ. Comparison between invasive and noninvasive measurements of baroreflex sensitivity; implications for studies on risk stratification after a myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1522–9.
- [35] Nakagawa M, Takahashi N, Shinohara T, Taniguchi Y, Anan F, Yonemochi H, et al. Evaluation of autonomic function using posture change. *Rinsho Byori* 2006;54:838–43.
- [36] Zhang R, Claassen JA, Shibata S, Kilic S, Martin-Cook K, Diaz-Arrastia R, et al. Arterial-cardiac baroreflex function: insights from repeated squat-stand maneuvers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297:R116–23.
- [37] Scheen AJ, Marchand M, Philips JC. Decreased baroreflex gain more strongly predicts microalbuminuria and increased pulsatile stress than decreased RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2011;54 (Suppl 1):S464, 1149.
- [38] Philips JC, Marchand M, Geronooz I, Scheen AJ. Influence of blood glucose control on the progression of cardiac autonomic neuropathy in Type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004;47(Suppl 1):A368–9 [P1029].
- [39] Weston PJ, James MA, Panerai R, McNally PG, Potter JF, Thurston H, et al. Abnormal baroreceptor-cardiac reflex sensitivity is not detected by conventional tests of autonomic function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)* 1996;91:59–64.
- [40] Lefrandt JD, Smit AJ, Zeebregts CJ, Gans RO, Hoogenberg KH. Autonomic dysfunction in diabetes: a consequence of cardiovascular damage. *Curr Diabetes Rev* 2010;6:348–58.
- [41] Group DR. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the diabetes control and complications trial (DCCT). *Diabetologia* 1998;41:416–23.
- [42] Pop-Busui R, Low PA, Waberski BH, Martin CL, Albers JW, Feldman EL, et al. Effects of prior intensive insulin therapy on cardiac autonomic nervous system function in type 1 diabetes mellitus: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study (DCCT/EDIC). *Circulation* 2009;119:2886–93.
- [43] Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348:383–93.

ANNEXE B : Articles originaux

B.1. Philips JC, Marchand M, Weekers L, Scheen AJ.

Effets de la durée du diabète de type 1 sur la pression artérielle pulsée: étude transversale contrôlée.

Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux 2006;99 :683-6.

B2. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes.

Diabetes Care 2008;31:322-4.

B3. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes.

Diabetes Metabolism Research Reviews 2009;25:442-51.

B4. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure x heart rate product during squatting in Type 1 diabetes according to age.

Diabetic Medicine 2010;27:753-61.

B5. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared with nondiabetic control subjects.

Diabetes Care 2010;33:2424-29.

B6. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ

Hemodynamic changes during a squatting test, pulsatile stress and indices of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with long duration type 1 diabetes.

Diabetes & Metabolism 2011: Oct 24. [Epub ahead of print].

Effets de la durée du diabète de type 1 sur la pression artérielle pulsée : étude transversale contrôlée

Summary

Arterial pulse pressure in relation to the duration of type 1 diabetes: a cross-sectional controlled study

J.C. Philips, M. Marchand,
L.Weekers, A.J. Scheen*

Diabetes mellitus and arterial pulse pressure (PP) are two independent cardiovascular risk factors. This cross-sectional study investigated the influence of diabetes duration on PP in type 1 diabetic patients without any cardiovascular disease.

PP was measured continuously during 3 minutes (active orthostatic test: 1 min standing – 1 min squatting – 1 min standing) using a fingertip plethysmograph (Finapres) in 159 type 1 diabetic patients aged 20-60 yrs. They were divided into 4 groups according to diabetes duration: 1) G1: <10 yrs (n=39); G2: 11-20 yrs (n=45); G3: 21-30 yrs (n=57); and G4: >30 yrs (n=18). In order to separate the effects of age from the effects of diabetes duration, diabetic patients were compared to age- and sex-matched non diabetic controls.

PP (expressed in mmHg; mean±SD) was higher in men than in women in both diabetic (58 ± 15 vs 50 ± 14 ; $p=0.001$) and non diabetic subjects (55 ± 14 vs 47 ± 12 ; $p=0.001$). Overall PP was higher in diabetic than in non diabetic individuals (54 ± 15 vs 50 ± 13 ; $p=0.025$). PP progressively increased according to diabetes duration: 47 ± 16 vs 51 ± 13 vs 59 ± 14 vs 62 ± 12 , from G1 to G4 respectively; $p<0.0001$. Such an increase was not observed in age-matched non diabetic subjects: 50 ± 11 vs 52 ± 12 vs 49 ± 14 vs 52 ± 18 , from G1 to G4, respectively; NS. PP was higher in squatting than in standing position in non diabetic subjects (52 ± 16 vs 47 ± 13 ; $p<0.0001$) and even more in diabetic patients (59 ± 17 vs 50 ± 14 ; $p<0.0001$). Overall, PP difference between diabetic and non diabetic individuals was not significant in standing position (50 ± 14 vs 47 ± 13 ; NS) although it became highly significant in squatting position (59 ± 17 vs 52 ± 16 ; $p=0.0005$). The squatting-standing difference in PP markedly increased with diabetes duration: 69 ± 14 during squatting vs 50 ± 18 during standing in G4 compared to respectively 50 ± 17 vs 44 ± 15 in G1 diabetic patients. Finally, PP was similar (NS) in diabetic patients with HbA1c <8% (54 ± 14) or $\geq 8\%$ (55 ± 16), with (57 ± 17) or without (54 ± 14) microalbuminuria, treated (56 ± 14) or not (54 ± 15) by inhibitors of the renin-angiotensin system.

In conclusion, PP progressively increased with the duration of type 1 diabetes, independently of age. Such increase was more marked in squatting than in standing position. The role of such PP rise in the increased cardiovascular risk of patients with type 1 diabetes, although suspected in the recent EURODIAB Prospective Complications Study, deserves further investigation. Arch Mal Cœur Vaiss 2006; 99:683-6

Résumé

Le diabète sucré et la pression pulsée (PP) sont deux facteurs indépendants de risque cardiovasculaire. Cette étude transversale analyse l'influence de la durée du diabète sur l'évolution de la PP chez des patients diabétiques de type 1.

La PP est mesurée en continu pendant 3 minutes (1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout), par méthode photopléthysmographique au bout du doigt à l'aide d'un Finapres chez 159 patients diabétiques âgés de 20 à 60 ans. Ceux-ci ont été répartis en 4 groupes (G1-G4) en fonction de la durée du diabète et comparés à 4 groupes de sujets témoins, non diabétiques, appariés pour l'âge et le sexe.

La PP (mmHg ; moyenne ± écart-type) est plus élevée chez les patients diabétiques et s'accroît progressivement avec la durée du diabète. Semblable augmentation n'apparaît pas chez les sujets témoins à âge comparable. La PP est plus élevée en position accroupie qu'en position debout ($p < 0,0001$), surtout chez les patients diabétiques où la différence s'accroît avec la durée du diabète. La PP est comparable (NS) chez les patients avec une HbA1c < 8 % (54 ± 14) ou ≥ 8 % (55 ± 16), avec (57 ± 17) ou sans (54 ± 14) microalbuminurie, traités (56 ± 14) ou non (54 ± 15) par inhibiteurs du système rénine-angiotensine.

En conclusion, la PP augmente progressivement en fonction de la durée du diabète de type 1 et ce, indépendamment de l'âge. Cet effet est plus marqué en position accroupie qu'en position debout. Le rôle de cet accroissement de PP dans l'augmentation du risque cardiovasculaire associé au diabète de type 1 reste à préciser. Arch Mal Cœur Vaiss 2006; 99: 683-6

(*) Service de diabétologie, nutrition et maladies métaboliques, département de médecine, CHU Sart Tilman, Université de Liège, B-4000 Liège, Belgique.

E-mail : jcpilips@chu.ulg.ac.be

La pression pulsée (PP) est définie comme la différence entre la pression artérielle systolique (PAS) et la pression artérielle diastolique (PAD). Cette variable est reconnue, depuis plusieurs années, comme un facteur jouant un rôle important dans la morbidité et la mortalité cardiovasculaires [1, 2]. Le rôle délétère d'une élévation de PP a été bien établi dans différentes populations comme celles de patients hypertendus, coronariens ou décompensés cardiaques, et même dans la population générale, en particulier au-delà de la cinquantaine. La PP est intimement liée à la notion de rigidité vasculaire, un paramètre particulièrement marqué en présence d'un diabète sucré [3].

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de la durée du diabète sur la PP dans une population de patients diabétiques de type 1 en utilisant une technique de mesure de la pression artérielle en continu et en s'affranchissant des effets de l'âge en comparant les résultats des patients diabétiques avec ceux d'un groupe témoin de sujets non diabétiques appariés pour l'âge.

MÉTHODES

Population

Cette étude transversale compare la PP chez 159 patients diabétiques de type 1 âgés de 20 à 60 ans. Ceux-ci ont été répartis en 4 groupes en fonction de la durée du diabète : G1 : < 10 ans (n = 39) ; G2 : 11-20 ans (n = 45) ; G3 : 21-30 ans (n = 57) ; et G4 : > 30 ans (n = 18). Mis à part l'insuline, les patients diabétiques sélectionnés ne prenaient aucun médicament si ce n'est, dans certains cas (n = 31), des inhibiteurs du système rénine-angiotensine à titre de néphroprotection. Pour séparer les effets de l'âge des effets de la durée du diabète, les résultats des 4 sous-groupes de patients diabétiques ont été comparés à ceux de 4 sous-groupes de sujets non diabétiques appariés pour l'âge et le sexe, indemnes de toute pathologie cardiovasculaire et apparemment sains.

Mesure de la pression pulsée

La PP a été mesurée à l'aide d'un Finapres (Ohmeda, Louisville, USA). Cet appareil permet d'obtenir une mesure non invasive, continue (cycle par cycle) de la pression artérielle (PA) grâce à une micromanchette pléthysmographique placée à l'index en faisant appel à une mesure photoélectrique. Le Finapres fournit cycle par cycle la PAS, la PAD et la PA moyenne (PAM). La pression différentielle (PP) est calculée comme étant la différence entre PAS et PAD. La technique du Finapres a été validée par plusieurs équipes et permet d'obtenir des valeurs précises et reproductibles de ces différents paramètres, y compris lors de tests dynamiques d'orthostatisme [4, 5].

Tous les sujets diabétiques et non diabétiques inclus dans l'étude ont été testés durant 3 minutes successives lors d'un test d'orthostatisme actif, le redressement de la position accroupie (*squatting*) à la position

debout [6]. Durant cette épreuve dite de *squatting*, la PA est mesurée en continu, le sujet étant successivement 1 minute debout, 1 minute accroupi et 1 minute à nouveau debout. Ce changement de la position représente le stimulus orthostatique le plus intense rencontré dans la vie de tous les jours, et cet exercice peut facilement être réalisé par la grande majorité des individus âgés de moins de 60 ans, diabétiques de type 1 ou non. Le fait d'enregistrer les différents paramètres hémodynamiques à l'aide du Finapres lors de cette manœuvre permet d'obtenir des renseignements précis sur les adaptations cardiovasculaires [6] et sur le fonctionnement du système nerveux autonome [4].

Outre l'effet de la durée du diabète, nous nous sommes également intéressés à l'éventuelle influence de certains autres paramètres sur la PP. Ainsi, nous avons pu recueillir des données comprenant le dernier dosage d'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}), le fait que les patients avaient ou non une microalbuminurie sur un échantillon d'urine récent et, enfin, l'existence ou non d'un traitement par un médicament inhibant le système rénine-angiotensine (inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou antagoniste spécifique des récepteurs AT1).

Analyses statistiques

Les résultats de PP sont présentés par la moyenne arithmétique \pm l'écart type. Après analyse de variance, la comparaison de 2 moyennes est réalisée à l'aide du test *t* de Student pour échantillons appariés (pour tester l'effet de la position corporelle dans un même groupe de patients) ou non appariés (pour comparer différents sous-groupes de patients selon l'âge ou le statut diabétique) suivant le cas.

RÉSULTATS

La PP a d'abord été analysée en faisant appel à la moyenne de valeurs de PP mesurées pendant les 3 minutes d'enregistrement. Elle s'avère plus élevée chez les hommes que chez les femmes, aussi bien chez les patients diabétiques (58 ± 15 vs 50 ± 14 mmHg ; $p = 0,001$) que chez les sujets non diabétiques (55 ± 14 vs 47 ± 12 mmHg ; $p = 0,001$). La PP s'accroît progressivement avec la durée du diabète : 47 ± 16 vs 51 ± 13 vs 59 ± 14 vs 62 ± 12 mmHg, de G1 à G4 respectivement, $p < 0,0001$. Semblable augmentation n'apparaît pas chez les sujets non diabétiques à âge comparable : 50 ± 11 vs 52 ± 12 vs 49 ± 14 vs 52 ± 18 mmHg, de G1 à G4 respectivement, NS. En conséquence, le pourcentage de sujets avec une PP > 60 mmHg est multiplié par 3 (de 21 à 61 %) de G1 à G4 chez les patients diabétiques de type 1 alors qu'il n'augmente que de façon marginale (de 17 à 23 %) chez les sujets non diabétiques (tableau).

Ensuite, la PP a été analysée en fonction de la position corporelle : elle est plus élevée en position accroupie qu'en position debout, chez les sujets non diabétiques (52

TABEAU : COMPARAISON DES CARACTÉRISTIQUES D'ÂGE ET DE PRESSION ARTÉRIELLE PULSÉE

		Total 3 min	Debout 1 min	Accroupi 1 min	G1 Durée < 10 ans	G2 Durée 11-20 ans	G3 Durée 21-30 ans	G4 Durée > 30 ans	ANOVA G1-G4 (PP)
D	N	159	159	159	39	45	57	18	0,0001
	Âge (années)	40 ± 11	40 ± 11	40 ± 11	34 ± 10	37 ± 10	45 ± 9	48 ± 8	
	PP (mmHg)	54 ± 15	50 ± 14	59 ± 17	47 ± 16	51 ± 13	59 ± 14	62 ± 12	
	PP > 60 mmHg	32 %	21 %	43 %	21 %	24 %	37 %	61 %	
ND	N	120	120	120	30	30	30	30	NS
	Âge (années)	40 ± 10	40 ± 10	40 ± 10	33 ± 10	37 ± 11	44 ± 11	48 ± 9	
	PP (mmHg)	50 ± 13	47 ± 13	52 ± 16	50 ± 11	52 ± 12	49 ± 14	52 ± 18	
	PP > 60 mmHg	22 %	11 %	27 %	17 %	27 %	20 %	23 %	
p (PP)		0,025	NS	0,0005	NS	NS	0,007	0,01	

PP : pression pulsée ; moyenne de 3 min, 1 min debout et 1 min accroupi dans les 2 populations étudiées. Les patients diabétiques de type 1 (D) ont été répartis en 4 sous-groupes (en G1 à G4) en fonction de la durée du diabète et les sujets non diabétiques ont été appariés pour l'âge et utilisés comme témoins (ND).

± 16 vs 47 ± 13 mmHg ; p = 0,0001) et plus encore chez les patients diabétiques (59 ± 17 vs 50 ± 14 mmHg ; p = 0,0001). Dans cette dernière population, la différence s'accroît avec la durée du diabète : 69 ± 14 mmHg accroupi vs 50 ± 18 mmHg debout chez G4 en comparaison à, respectivement, 50 ± 17 vs 44 ± 15 mmHg chez G1 (figure). Globalement, la différence de PP entre les sujets diabétiques et non diabétiques n'est pas significative en position debout (50 ± 14 vs 47 ± 13 mmHg ; NS), alors qu'elle le devient très nettement en position accroupie (59 ± 17 vs 52 ± 16 mmHg ; p = 0,0005).

La valeur de PP est comparable (NS) chez les patients avec une HbA_{1c} < 8 % (54 ± 14 mmHg ; n = 41) ou ≥ 8 % (55 ± 16 mmHg ; n = 84), chez les individus avec (57 ± 17 mmHg ; n = 23) ou sans (54 ± 14 mmHg ; n = 101) microalbuminurie, et chez ceux traités (56 ± 14 mmHg ; n = 31) ou non (54 ± 15 mmHg ; n = 128) par inhibiteurs du système rénine-angiotensine.

DISCUSSION

Il existe une augmentation progressive de la PP en fonction de la durée du diabète de type 1 et ce, indépendamment de l'âge. Dans une étude multicentrique européenne (EURODIAB Prospective Complications Study) ayant mesuré la PP chez 3 250 patients diabétiques de type 1 en position assise, il a été montré qu'elle augmentait significativement avec l'âge alors que la population évaluée était relativement jeune (moyenne d'âge de 33 ans) [7]. Dans l'essai finlandais FinnDiane (Finnish Diabetic Nephropathy), les résultats d'une analyse de régression multiple chez 2 988 patients diabétiques de type 1 indique que la PP augmente avec la durée de la maladie et que cette dernière a un impact considérable sur la rigidité artérielle, indépendamment de l'âge et de la survenue d'une néphropathie [8]. Nos observations sont en accord avec ces résultats. Par ailleurs, dans notre étude, la PP est plus élevée en position accroupie qu'en position debout. La différence entre les 2 positions tend à être plus mar-

quée chez les patients diabétiques que chez les sujets témoins, surtout chez ceux qui ont une longue durée d'évolution de leur maladie. La position accroupie est donc une manœuvre qui permet de sensibiliser la mise en évidence d'une augmentation de la PP, suite à une augmentation du retour veineux, du débit cardiaque et de la réflexion de l'onde aortique, tous facteurs qui contribuent à accroître la PAS et la PP.

Dans notre étude, nous n'avons pas observé d'influence significative du taux d'HbA_{1c} sur la PP. Ces

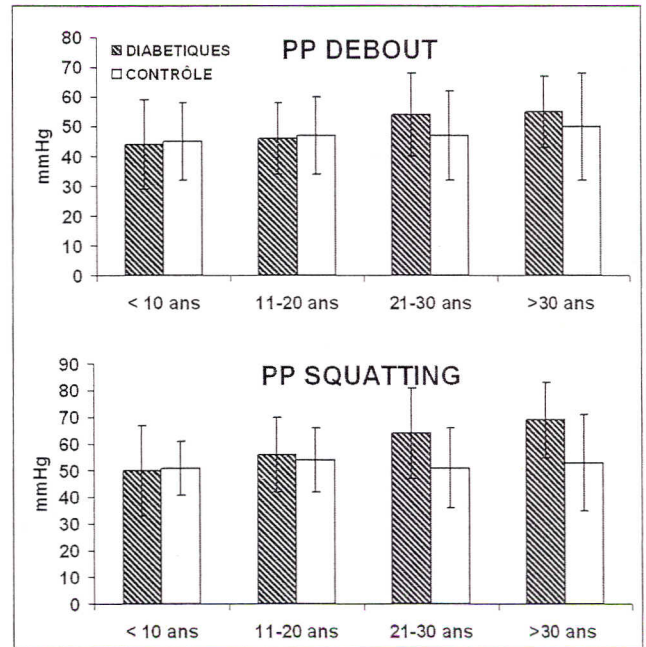


FIG. - Évolution de la pression artérielle pulsée (PP) mesurée en position debout (partie supérieure) et en position accroupie (partie inférieure) dans les 2 populations étudiées. Les patients diabétiques de type 1 sont répartis en 4 sous-groupes en fonction de la durée du diabète et les sujets non diabétiques sont appariés pour l'âge et utilisés comme témoins.

FIG. - Evolution of pulse pressure measured in standing (upper part) and squatting (lower part) positions in the two populations studied. Type-1 diabetic patients are distributed in 4 subgroups according to diabetes duration, and age-matched non-diabetics subjects are used as controls.

résultats négatifs peuvent surprendre, mais ils sont en accord avec ceux de travaux d'autres équipes. Dans l'étude FinnDiane, le niveau ambiant de glycémie n'était pas associé à une augmentation de la PP [8]. De même, dans l'étude multicentrique européenne, réalisée chez 543 patients avec un diabète de type 1, la PP n'était pas associée à l'HbA_{1c} [9]. Cependant, dans cette dernière étude, la PP était fortement associée aux taux de produits avancés de glycation [9], ce qui suggère que ceux-ci sont un mécanisme important contribuant au développement de la rigidité artérielle chez de jeunes patients diabétiques de type 1 [3].

Nous n'avons pas observé de différence significative de la PP entre les patients diabétiques de type 1 avec ou sans microalbuminurie ou avec et sans inhibiteur du système rénine-angiotensine. Dans l'étude FinnDiane, les patients diabétiques de type 1 âgés de 30 à 54 ans avaient une augmentation progressive de la PP en allant du groupe normo-albuminurique au groupe micro-albuminurique et enfin au groupe macro-protéinurique [8]. En revanche, dans la même étude, aucune différence de PP n'était observée entre les individus micro-albuminuriques et normo-albuminuriques dans les tranches d'âge 18-30 ans et 50-64 ans. Dans toutes les tranches d'âge, les sujets diabétiques, même en l'absence de microalbuminurie, avaient une PP plus haute que les sujets non diabétiques.

La relation entre la PP et le risque cardiovasculaire global a été démontrée récemment dans plusieurs études chez les patients diabétiques de type 2 [10]. Des observations intéressantes ont également été rapportées dans une vaste population de patients diabétiques de type 1 recrutés par l'EURODIAB Prospective Complications Study Group [7]. En effet, il a été démontré que la PP et la PAM constituaient des déterminants formels des complications cardiovasculaires survenant chez ces patients diabétiques de type 1 relativement jeunes (âge moyen de 33 ans) [3, 7]. Par contre, dans la population générale, c'est la PAD qui reflète le mieux le risque cardiovasculaire parmi les sujets âgés de moins de 55 ans et ce n'est qu'au-delà de cette limite que la PP joue un rôle prédictif significatif de complications

cardiovasculaires [1]. Cette différence entre les deux populations pourrait s'expliquer par l'« âge artériel avancé » que semblent présenter les patients diabétiques de type 1. En effet, l'hyperglycémie chronique est responsable d'un vieillissement vasculaire accéléré. Cette explication rendrait compte du fait que le pronostic péjoratif de la rigidité artérielle, et donc de la PP, est comparable dans la population non diabétique de plus de 55 ans et chez de jeunes personnes diabétiques de type 1 [3]. Si la rigidité des gros troncs artériels et ses expressions cliniques, à savoir une PAS et une PP élevées, se développent de manière prématurée chez le patient diabétique de type 1, il convient de les dépister de façon précoce pour prévenir d'éventuelles complications cardiovasculaires ultérieures. Outre les tentatives pour un meilleur contrôle de l'hyperglycémie chronique, de nouvelles interventions thérapeutiques doivent être envisagées pour ralentir cette évolution péjorative des grosses artères et, in fine, améliorer le pronostic cardiovasculaire des patients diabétiques.

CONCLUSION

Ce travail confirme, avec une technique de mesure continue de la pression artérielle, qu'il existe une augmentation progressive de la PP en fonction de la durée du diabète de type 1 et ce, indépendamment de l'âge. Ces résultats, obtenus dans une étude transversale, méritent d'être vérifiés dans une étude longitudinale qui permettrait, par ailleurs, de mieux apprécier le rôle de l'équilibration du diabète à long terme sur l'évolution de la PP. Quoi qu'il en soit, cette élévation de la PP traduit une augmentation de la rigidité de la paroi artérielle qui survient plus précocement chez les patients diabétiques de type 1 que dans la population non diabétique. Le rôle de cet accroissement de la PP dans l'augmentation du risque cardiovasculaire associé au diabète sucré a été suspecté dans quelques études récentes, surtout réalisées chez des patients diabétiques de type 2, et paraît se vérifier dans la population de patients diabétiques de type 1 au vu des résultats récents de l'EURODIAB Prospective Complications Study.

MOTS CLÉS : diabète de type 1, microalbuminurie, pression artérielle, pression pulsée, orthostatisme.

Références

1. Benetos A. Pulse pressure and cardiovascular risk. *J Hypertens* 1999;17(Suppl):S21-4.
2. Assmann G, Cullen P, Evers T, et al. Importance of arterial pulse pressure as a predictor of coronary heart disease risk in PRO-CAM. *Eur Heart J* 2005; 26: 2120-6.
3. Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003;21:2005-7.
4. Scheen AJ, Juchmes J, Pochet Th, et al. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab Metab* 1990;16:382-4.
5. Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998;38:605-16.
6. Rossberg F, Penaz J. Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol* 1988;57:93-7.
7. Schram M, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003;21:2035-44.
8. Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, et al. Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study Group. Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 2004;110:1076-82.
9. Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, et al. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005;46:232-7.
10. Cockcroft JR, Wilkinson IB, Evans M, et al. Pulse pressure predicts cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 2005;18:1463-7.

Squatting Amplifies Pulse Pressure Increase With Disease Duration in Patients With Type 1 Diabetes

JEAN-CHRISTOPHE PHILIPS, MD
MONIQUE MARCHAND
ANDRÉ J. SCHEEN, MD, PHD

OBJECTIVE— To evaluate pulse pressure changes according to duration of type 1 diabetes and to assess the influence of posture.

RESEARCH DESIGN AND METHODS— We performed continuous measurement of blood pressure with a Finapres device during a 3 × 1 min posture test (standing, squatting, standing) in 159 type 1 diabetic patients divided into four groups according to diabetes duration (≤ 10 , 11–20, 21–30, and >30 years, groups 1–4, respectively) and compared the results with those of age-matched nondiabetic subjects.

RESULTS— Pulse pressure progressively increased according to type 1 diabetes duration ($P < 0.0001$), especially in women, but not in age-matched nondiabetic subjects (NS). Pulse-pressure increase from group 1 to group 4 was amplified in the squatting position (from 50 ± 17 to 69 ± 14 mmHg) compared with standing (from 44 ± 15 to 55 ± 12 mmHg).

CONCLUSIONS— Pulse pressure increases according to type 1 diabetes duration more in women than in men, and the squatting position sensitizes such pulse-pressure increase in both sexes.

Diabetes Care 31:322–324, 2008

Early vascular aging was reported in type 1 diabetes (1–5). Arterial pulse pressure, a surrogate marker of artery stiffness, is an independent cardiovascular disease (CVD) risk factor in type 1 diabetic patients (6), as in nondiabetic (7–9) and type 2 diabetic (10,11) individuals. This cross-sectional controlled study investigated the influence of type 1 diabetes duration, sex, and posture on pulse pressure.

RESEARCH DESIGN AND

METHODS— We evaluated 159 type 1 diabetic patients (20–60 years of age). Subjects were retrospectively separated according to diabetes duration into four groups and compared with age-matched healthy control subjects to take into account normal aging (12) (Table 1).

Monitoring of blood pressure

Systolic and diastolic blood pressure were measured continuously with a Finapres (finger arterial pressure) instrument (Ohmeda) (13–15) during an orthostatic test (successively 1 min standing, 1 min squatting, 1 min standing) (16–18). Mean \pm SD blood pressure and pulse pressure (systolic minus diastolic) were calculated throughout the test (overall), during initial standing only, and in the squatting position.

Statistical analysis

We performed univariate analysis using ANOVA followed by Student's *t* test, with two-tailed *P* values <0.05 considered as significant.

RESULTS— Mean blood pressure remained almost stable across the four diabetic groups, whereas pulse pressure progressively increased according to type 1 diabetes duration (ANOVA $P < 0.0001$; Table 1). There was a marked difference in overall pulse pressure between groups 1 and 2 and groups 3 and 4 (49 ± 14 vs. 59 ± 14 mmHg; $P < 0.00002$), contrasting with no difference in age-matched control subjects (mean 35 years for groups 1 and 2 vs. 46 years for groups 3 and 4: 51 ± 12 vs. 50 ± 15 mmHg; NS).

Pulse pressure levels were lower in diabetic and nondiabetic women compared with men, except in group 4 with type 1 diabetes >30 years (data not shown). The progressive pulse pressure increase from group 1 to group 4 was almost double in women (from 44 ± 16 to 63 ± 11 mmHg) compared with men (from 51 ± 15 to 61 ± 13 mmHg) with type 1 diabetes.

The gradual rise in pulse pressure from group 1 to group 4 in type 1 diabetic patients, already present in the initial standing position (from 44 to 55 mmHg), was markedly amplified by squatting (from 50 to 69 mmHg) (Table 1).

CONCLUSIONS— The present study essentially demonstrates: 1) a progressive pulse pressure increase according to type 1 diabetes duration, especially when it exceeds 20 years; 2) an early pulse pressure rise in type 1 diabetic subjects <50 years of age, especially in women; and 3) the amplification of this phenomenon by squatting.

In the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) study, pulse pressure was higher in diabetic patients than in nondiabetic subjects of all age categories, including in individuals <45 years of age (5). However, previous observations showed no (19) or only marginally increased pulse pressure values (<5 mmHg) in young (25–30 years of age) type 1 diabetic patients (2,3,20). A recent study reported an 11-mmHg higher brachial pulse pressure and an 8-mmHg higher carotid pulse pressure in patients with 15.3 years of type 1 diabetes duration compared with control subjects (21).

From the ¹Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, Centre Hospitalier Universitaire Sart Tilman, University of Liège, Liège, Belgium.

Address correspondence and reprint requests to André J. Scheen, Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders Unit, C.H.U. Sart Tilman (B35), Liege 1 B-4000, Belgium. E-mail: andre.scheen@chu.ulg.ac.be.

Received for publication 21 August 2007 and accepted in revised form 24 October 2007.

Published ahead of print at <http://care.diabetesjournals.org> on 31 October 2007. DOI: 10.2337/dc07-1646.

Abbreviations: CVD, cardiovascular disease; FinnDiane, Finnish Diabetic Nephropathy.

© 2008 by the American Diabetes Association.

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

We observed substantial pulse pressure increase (difference of almost 10 mmHg) in type 1 diabetic patients aged >40 years with disease duration over 20 years compared with age-matched control subjects. Multiple regression analysis of the FinnDiane study indicates that type 1 diabetes duration per se has a considerable impact on pulse pressure, independent of age and renal involvement (5). Pulse pressure rises with age, more so in women (22). In healthy subjects, pulse pressure was higher in men than in women, although the difference decreased from <20 to 40–49 years of age (12); in the FinnDiane study, pulse pressure levels that were lower in nondiabetic women compared with men under the age of 40–45 years tended to become higher afterward. In the diabetic population, an earlier and steeper pulse pressure rise according to age was shown in women compared with men (5). Increased aortic wall stiffness with type 1 diabetes was more markedly related to diabetes duration in women than in men (23).

Squatting increases preload by augmentation of venous return and increases cardiac output without changes in systemic vascular resistance (16,17,24), resulting in greater increase of systolic than diastolic blood pressure and pulse pressure augmentation (15,25). Interestingly, the squatting-induced pulse pressure rise markedly increased with type 1 diabetes duration and almost doubled in patients with >20 years of type 1 diabetes compared those with <20 years of type 1 diabetes. Both increased arterial stiffness and alteration of wave reflection may contribute to the predominant pulse pressure increase in the squatting position with type 1 diabetes duration (26). Furthermore, AGEs may profoundly alter the histomorphometric arterial pattern, reducing compliance and distensibility, and NO-dependent vascular dilation (27).

Our study has some limitations. First, the cross-sectional design did not allow us to follow patients prospectively. Second, pulse pressure was measured at the finger site. However, pulse pressure changes in radial artery and finger were almost similar during a head-up tilt (28). Finally, type 1 diabetic patients were not well controlled, precluding any extrapolation to type 1 diabetic patients with excellent glucose control.

The Framingham Heart Study showed that pulse pressure is an excellent predictor of coronary heart disease risk, at least in nondiabetic individuals >50 years of age

Table 1—Characteristics of the type 1 diabetic patients and nondiabetic control subjects in the four subgroups divided according to diabetes duration and age matching, respectively, and mean blood pressure and pulse pressure levels recorded during the whole test (overall) in the initial standing position and in the squatting position

	Group 1*		Group 2*		Group 3*		Group 4*		P†	
	Diabetic	Nondiabetic	Diabetic	Nondiabetic	Diabetic	Nondiabetic	Diabetic	Nondiabetic	Diabetic	Nondiabetic
n	39	30	45	30	57	30	18	28		
Age (years)	34 ± 10	33 ± 10	37 ± 10	37 ± 11	45 ± 9	44 ± 11	48 ± 8	48 ± 9	0.0000	0.0000
Sex (F/M)	22/17	17/13	21/24	14/16	24/33	14/16	8/10	18/10		
BMI (kg/m ²)	22.6 ± 3.3	23.1 ± 2.8	23.5 ± 2.4	23.6 ± 3.3	24.3 ± 4.4	24.7 ± 4.5	23.1 ± 2.2	24.4 ± 3.7	0.1005	0.3055
Type 1 diabetes duration (years)	6 ± 3	—	16 ± 3	—	26 ± 3	—	38 ± 8	—	0.0000	NA
A1C (%)	8.92 ± 1.68	—	8.72 ± 1.19	—	8.43 ± 1.25	—	8.85 ± 1.18	—	0.4215	NA
Mean blood pressure (mmHg)										
Overall	80 ± 10	82 ± 11	80 ± 11	80 ± 13	86 ± 12	85 ± 16	80 ± 13	84 ± 14	0.0149	0.1946
Standing	79 ± 10	81 ± 10	79 ± 12	79 ± 12	84 ± 12	84 ± 16	77 ± 13	83 ± 16	0.0496	0.1816
Squatting	84 ± 13	85 ± 12	87 ± 13	86 ± 15	94 ± 13	90 ± 16	87 ± 14	89 ± 15	0.0015	0.2472
Pulse pressure (mmHg)										
Overall	48 ± 16	49 ± 11	52 ± 13	53 ± 13	59 ± 14#	49 ± 14	62 ± 128	51 ± 15	0.0001	0.3783
Standing	44 ± 15	45 ± 10	47 ± 13	48 ± 12	54 ± 14	46 ± 15	55 ± 12	49 ± 15	0.0004	0.1885
Squatting	50 ± 17	51 ± 13	56 ± 15	55 ± 13	64 ± 16	51 ± 15	69 ± 14	52 ± 15	0.0000	0.4851

Data are means ± SD. *Group 1: diabetes duration ≤10 years, group 2: diabetes duration 11–20 years, group 3: diabetes duration 21–30 years, group 4: diabetes duration ≥30 years. †P value by ANOVA for groups 1–4. NA: Not applicable; #P < 0.05, §P < 0.01, and ||P < 0.001, all for diabetic vs. nondiabetic.

(29). Pulse pressure was also a major determinant of CVD complications in young type 1 diabetic individuals of the Eurodiab Prospective Complications study (6), in agreement with accelerated vascular aging and earlier arterial stiffening in type 1 diabetes (1,4,19,21). The greater pulse pressure increase in diabetic women according to disease duration (5) may contribute to the higher relative (vs. age-matched nondiabetic control subjects) CVD risk compared with diabetic men (30). AGEs were associated with increased pulse pressure in type 1 diabetes (27), an additional argument for intensifying glucose control to reduce CVD risk (31).

In conclusion, type 1 diabetes is associated with a progressive pulse pressure increase according to disease duration, a finding suggestive of accelerated arterial stiffening that may explain the higher CVD risk of type 1 diabetic patients, especially in women. The squatting position sensitizes the detection of increased pulse pressure in diabetic patients and may help detect patients at higher risk.

Acknowledgments—Parts of this study were presented in poster form at the 41st Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Athens, Greece, 10–15 September 2005, and as oral communication at the French Hypertension Meeting, Paris, France, 15–16 December 2005.

References

- Brooks B, Molyneaux L, Yue DK: Augmentation of central arterial pressure in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 22:1722–1727, 1999
- Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, Murray GD, Cockcroft JR, McKnight JA, Webb DJ: Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *Q J Med* 93:441–448, 2000
- Romney JS, Lewanczuk RZ: Vascular compliance is reduced in the early stages of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 24:2102–2106, 2001
- Benetos A: Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 21:2005–2007, 2003
- Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Reunanen A, Groop PH, Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study Group: Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 110:1076–1082, 2004
- Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group: Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 21:2035–2044, 2003
- de Simone G, Roman MJ, Alderman MH, Galderisi M, de Divitiis O, Devereux RB: Is high pulse pressure a marker of preclinical cardiovascular disease? *Hypertension* 45:575–579, 2005
- Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D: Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham Heart Study. *Circulation* 100:354–360, 1999
- Assmann G, Cullen P, Evers T, Petzinna D, Schulte H: Importance of arterial pulse pressure as a predictor of coronary heart disease risk in PROCAM. *Eur Heart J* 26:2120–2126, 2005
- Schram MT, Kostense PJ, van Dijk RA, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD: Diabetes, pulse pressure and cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *J Hypertens* 20:1743–1751, 2002
- Cockcroft JR, Wilkinson IB, Evans M, McEwan P, Peters JR, Davies S, Scanlon MF, Currie CJ: Pulse pressure predicts cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 18:1463–1467, 2005
- McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, ACCT Investigators: Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol* 46:1753–1760, 2005
- Scheen AJ, Juchmes J, Pochet Th, Marfella R, Di Maro G, Lefebvre PJ: Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diabete Metab* 16:382–384, 1990
- Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH: Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 38:605–616, 1998
- Rickards CA, Newman DG: A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 90:449–457, 2003
- Rosberg F, Penaz J: Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol* 57:93–97, 1988
- Hanson P, Slane PR, Tueckert PA, Clark SV: Squatting revisited: comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br Heart J* 74:154–158, 1995
- Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, Di Maro G, Giunta R, Torella R, Juchmes J, Scheen A, Lefebvre PJ: Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 17:149–151, 1994
- Kool MJ, Lambert J, Stehouwer CD, Hoeks AP, Struijker Boudier HA, Van Bortel LM: Vessel wall properties of large arteries in uncomplicated IDDM. *Diabetes Care* 18:618–624, 1995
- Berry KL, Skyrme-Jones RA, Cameron JD, O'Brien RC, Meredith IT: Systemic arterial compliance is reduced in young patients with IDDM. *Am J Physiol* 276:H1839–H1845, 1999
- Sweitzer NK, Shenoy M, Stein JH, Keles S, Palta M, LeCaire T, Mitchell GF: Increases in central aortic impedance precede alterations in arterial stiffness measures in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 30:2886–2891
- Scurrah KJ, Byrnes GB, Hopper JL, Harrap SB: Sex differences in genetic and environmental determinants of pulse pressure. *Genet Epidemiol* 30:397–408, 2006
- Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, Sonesson B, Länne T: Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 16:291–297, 1999
- O'Donnell TV, McIlroy MB: The circulatory effects of squatting. *Am Heart J* 64:347–356, 1962
- Murakami T: Squatting: the hemodynamic change is induced by enhanced aortic wave reflection. *Am J Hypertens* 15:986–988, 2002
- Van Bortel LMAB, Struijker-Boudier HAJ, Safar ME: Pulse pressure, arterial stiffness, and drug treatment of hypertension. *Hypertension* 38:914–921, 2001
- Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group: Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 46:232–237, 2005
- Steinback CD, O'Leary DD, Wang SS, Shoemaker JK: Peripheral pulse pressure responses to postural stress do not reflect those at the carotid artery. *Clin Physiol Funct Imaging* 24:40–45, 2004
- Franklin SS, Larson MG, Khan SA, Wong ND, Leip EP, Levy D: Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging: the Framingham Heart Study. *Circulation* 103:1245–1249, 2001
- Barrett-Connor E, Giardina EG, Gitt AK, Gudat U, Steinberg HO, Tschoepe D: Women and heart disease: the role of diabetes and hyperglycemia. *Arch Intern Med* 164:934–942, 2004
- Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group: Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 353:2643–2653, 2005

Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes

J. C. Philips
M. Marchand
A. J. Scheen*

Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgium

*Correspondence to: A. J. Scheen, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgium.
E-mail: andre.scheen@chu.ulg.ac.be

Abstract

Background To evaluate changes in pulse pressure (PP) and markers of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) according to duration of type 1 diabetes mellitus (T1DM).

Methods This cross-sectional controlled study evaluated 159 diabetic patients during a 3-min posture test (standing–squatting–standing) with continuous measurement of systolic (SBP), diastolic (DBP) and mean (MBP) blood pressure by a Finapres device. Arterial stiffness was indirectly assessed by PP and the slope of PP as a function of MBP calculated during the whole 3-min test. CAN was assessed by the expiration/inspiration pulse interval ratio (E/I R-R ratio) during deep breathing and by three indices measured during the squatting test. Patients were divided into four groups according to diabetes duration (<10 years, 11–20 years, 21–30 years and >30 years from group 1 to group 4, respectively) and compared with age-matched non-diabetic subjects.

Results PP progressively increased ($p < 0.0001$) and PP/MBP decreased ($p < 0.0005$) according to T1DM duration, whereas these parameters remained almost unchanged in age-matched control subjects. E/I ratio ($p < 0.0001$) and baroreflex gain ($p < 0.0005$) progressively decreased with T1DM duration. The parasympathetic index (squatting test vagal ratio – SqTv) significantly increased ($p < 0.0001$), whereas the sympathetic index (squatting test sympathetic ratio – SqTs) only tended to decrease ($p = 0.12$) according to diabetes duration. No such changes in CAN indices were observed in the non-diabetic population.

Conclusions PP increased according to T1DM duration in an age range where PP remained almost stable in controls, in agreement with accelerated arterial stiffening due to chronic hyperglycaemia. The baroreflex gain decreased and other indices of CAN also deteriorated with diabetes duration, more so indices reflecting parasympathetic rather than sympathetic dysfunction. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

Keywords arterial stiffness; cardiovascular autonomic neuropathy; pulse pressure; squatting; finapres; type 1 diabetes

Introduction

Arterial pulse pressure (PP) is a surrogate marker of large artery stiffness and is considered as an independent cardiovascular disease (CVD) risk factor in the general population [1], as shown in two epidemiological studies,

Received: 18 August 2008

Revised: 11 February 2009

Accepted: 23 March 2009

the Framingham study [2] and the PROCAM study [3]. Increased PP as a marker of CVD risk has been shown to be present in both normotensive and hypertensive individuals [4]. Similar observations have also been reported in three large longitudinal studies of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), a population with a well-known high CVD risk [5–7].

The concept of a more pronounced increase in arterial stiffness and the reality of an early vascular ageing in type 1 diabetes mellitus (T1DM) were evoked one more time [8,9]. However, studies regarding PP are rather scarce in patients with T1DM. In the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) study [10], a higher systolic blood pressure (BP) and an earlier decrease in diastolic BP resulted in a higher and more rapidly increasing PP in T1DM patients as compared with non-diabetic control subjects. In the EURODIAB study [11,12], PP was a risk factor for CVD and total mortality in T1DM patients. Taking together, these two large studies suggest that accelerated arterial aging may contribute to the higher CVD morbidity and mortality in patients with T1DM.

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) is an underestimated complication of diabetes [13–15]. It is usually detected by the assessment of changes in heart rate (HR) and/or BP during various dynamic tests [13,15]. It has been shown to be associated with an increased mortality in a meta-analysis of available studies in patients with T1DM [16]. CAN was also associated with increased cardiovascular risk factors and increased mortality in the EURODIAB IDDM Complications Study [12,17].

The aim of the present study was to investigate the influence of the duration of T1DM on PP, as indirect marker of arterial stiffness and primary endpoint, and on markers of CAN, as secondary endpoints, in patients who were evaluated during an original squatting test with continuous monitoring of arterial BP and HR. The results were compared with a non-diabetic population matched for age to discriminate between the effect of diabetes duration and normal aging [18].

Methods

Patients

A total of 159 T1DM patients were evaluated. Patients have been recruited among the patients followed in our department. Inclusion criteria were the following: T1DM patients between 20 and 60 years, male and female, body mass index < 30 kg/m², duration of diabetes > 1 year and HbA_{1c} < 12%. Exclusion criteria were the following: history of CVD, including hypertension; any severe illness during the previous 3 months; renal insufficiency defined as an estimated creatinine clearance below 45 mL/min; medications that may significantly influence cardiovascular reflexes (for instance, tricyclic antidepressants, antipsychotics, etc.). Thirty patients were treated with an angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) or an angiotensin AT1 receptor blocker (ARB),

as monotherapy. Such pharmacological treatment was initiated since at least 3 months, at a stable dose, because of the presence of microalbuminuria, in absence of hypertension. It has been shown that monotherapy with inhibitors of the renin-angiotensin system only modestly affects arterial stiffness [19]. Furthermore, in a pilot study, we showed that such treatment does not significantly influence CAN indices measured during a squatting test (unpublished; data not shown). Microalbuminuria was present in 23 patients (being treated or not with an inhibitor of the renin-angiotensin system; see further details below). Insulin therapy systematically consisted in a basal-prandial regimen, with multiple daily injections in 135 patients and a continuous subcutaneous insulin infusion with a portable pump in 24 patients.

Subjects were retrospectively separated according to diabetes duration: group 1: ≤10 years (G1; *n* = 39); group 2: 11–20 years (G2; *n* = 45); group 3: 21–30 years (G3; *n* = 57); and group 4: > 30 years (G4; *n* = 18).

To differentiate the effects of duration of T1DM from the effect of normal aging [18], healthy subjects were used as controls and matched for age, sex and body mass index (*n* = 28–30 in each subgroup; Table 1). The study was accepted by the ethical committee of our institution.

Orthostatic test

The squatting test (successively 1 min standing, 1 min squatting, 1 min standing in our in-house protocol) is an original active orthostatic test that leads to the most important and fast variations of the hydrostatic level with posture, and consequently, most strongly stimulates the homeostatic loop to maintain BP [20,21]. Squatting produces a prompt increase in cardiac output and arterial BP, essentially attributed to augmented venous return from compression of leg veins. These changes are accompanied by an immediate decrease in HR and forearm vascular resistance, probably due to activation of cardiopulmonary and arterial baroreflexes [22]. We recently reported, using the same diabetic population as in the present study, that squatting amplifies PP increase with diabetes duration [23]. Interestingly, the same squatting test has also been used with success in patients with T1DM or T2DM to derive various vagal and sympathetic indices able to detect CAN (see below) [24,25].

BP and HR monitoring

Changes in systolic and diastolic BP, and thus mean BP (MBP), and in HR were measured continuously with a Finapres (from FINGER Arterial PRESSure) instrument (Ohmeda, USA) that allows to carefully study cardiovascular reflexes [26–28]. The Finapres is based on servoplethysmomanometry, employing the volume clamp technique at the finger level. PP was automatically calculated by the difference between systolic BP and diastolic BP.

Table 1. Characteristics of the diabetic patients (D) with type 1 diabetes (T1DM) and non-diabetic subjects (ND) used as controls in the four subgroups divided according to diabetes duration and age matching, respectively, and average mean blood pressure (MBP), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and heart rate (HR) values recorded during the 3-min squatting test

	Group 1 (D ≤10 years)		Group 2 (D 11–20 years)		Group 3 (D 21–30 years)		Group 4 (D ≥30 years)		ANOVA G1–G4 (p value)	
	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND
<i>n</i>	39	30	45	30	57	30	18	28		
Age (years)	34 ± 10	33 ± 10	37 ± 10	37 ± 11	45 ± 9	44 ± 11	48 ± 8	48 ± 9	0.0000	0.0000
Sex ratio	22F/17M	17F/13M	21F/24M	14F/16M	24F/33M	14F/16M	8F/10M	18F/10M	NS	NS
BMI (kg/m ²)	22.6 ± 3.3	23.1 ± 2.8	23.5 ± 2.4	23.6 ± 3.3	24.3 ± 4.4	24.7 ± 4.5	23.1 ± 2.2	24.4 ± 3.7	0.1005	0.3055
T1DM duration (years)	6 ± 3	NA	16 ± 3	NA	26 ± 3	NA	38 ± 8	NA	0.0000	NA
HbA _{1c} (%)	8.92 ± 1.68	NA	8.72 ± 1.19	NA	8.43 ± 1.25	NA	8.85 ± 1.18	NA	0.4215	NA
μAlb (mg/L)	14 ± 16	NA	17 ± 50	NA	47 ± 114	NA	293 ± 874	NA	0.0209	NA
ACEI/ARB (%)	3%	NA	18%	NA	21%	NA	50%	NA	0.001	NA
MBP (mm Hg)	80 ± 10	82 ± 11	80 ± 11	80 ± 13	86 ± 12	85 ± 16	80 ± 13	84 ± 14	0.0149	0.1946
SBP (mm Hg)	113 ± 20	116 ± 16	117 ± 17	118 ± 19	128 ± 20	118 ± 21	123 ± 19	118 ± 20	0.0009	0.9466
DBP (mm Hg)	65 ± 10	66 ± 10	65 ± 10	65 ± 12	69 ± 10	69 ± 14	61 ± 12	67 ± 14	0.0245	0.2621
HR (bpm)	90 ± 12	86 ± 9	88 ± 15*	81 ± 10	88 ± 15*	82 ± 10	88 ± 11**	79 ± 10	0.8920	0.0518

Results are expressed as mean ± SD.

BMI, body mass index; NS, non-significant; NA, not applicable; ACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin AT1 receptor blocker; μAlb, microalbuminuria; HbA_{1c}, glycated haemoglobin.

Unpaired *t* test D versus ND: **p* < 0.05; ***p* < 0.01.

Assessment of arterial stiffness

Arterial stiffness was indirectly estimated from PP values [1,29]. Average values of PP were calculated for each subject throughout the three phases of the squatting test. Separate values in either the squatting position or in the standing position were reported elsewhere [23]. Here, only overall PP, i.e. PP calculated during the 3-min test while standing–squatting–standing, after exclusion of the transition phases, was used in the analysis. The percentages of subjects with PP > 60 mm Hg, a threshold associated with higher CVD risk in T2DM [6], were calculated in each subgroup of subjects. We also measured the slope of PP as a function of MBP (PP/MBP) obtained from the 3-min BP recordings. This slope reflects the damping capacity of the large arteries that transform the discontinuous flow generated by the left ventricle into a continuous flow [30].

Detection of CAN

Numerous methods have been proposed to detect CAN in diabetic patients [31,32]. The deep-breathing test (6 cycles per minute, in sitting position) allows the calculation of maximum pulse (R-R) interval duration (during expiration = E) and minimum R-R interval duration (during inspiration = I): the so-called E/I R-R ratio is decreasing with CAN (thus being used as a marker of CAN in clinical practice), but also with age (thus imposing the use of a reference age-matched control group) [31,32]. CAN was also defined as HR change during deep breathing <10 bpm, i.e. a E/I R-R ratio <1.10, which was proposed as abnormal by Ewing *et al.* [31].

Another marker of CAN could be derived from the measurement of the baroreflex sensitivity [33]. We previously reported that the baroreflex gain can be calculated during the transition phase from squatting

to standing [14,34]. The abrupt drop in MBP is associated with a reflex tachycardia, which is followed by a return to baseline values of both parameters (MBP increase and HR decrease). Such haemodynamic changes are similar to those seen when using a vasodilating drug (hypotension with reflex tachycardia) and a vasoconstricting agent (hypertension associated with bradycardia) [33]. The baroreflex gain was calculated by plotting the pulse intervals (R-R) against MBP during the transition phase from squatting to standing. The slope represents the baroreflex sensitivity and corresponds to changes in pulse intervals per millimetre change in arterial BP. In a pilot study [34], we were able to demonstrate that the reduction of baroreflex gain during the squatting test is a sensitive marker of CAN in patients with T1DM.

Finally, we also measured two autonomic indices based on the HR changes during the squatting test [24,25]. Indeed, HR responses observed during squatting and after standing may be useful to assess the functional integrity of cardiovascular autonomic nerves. The bradycardia during squatting is under vagal control, whereas tachycardia after standing from squatting is secondary to sympathetic stimulation [25]. The squatting-induced response was expressed by SqT vagal ratio (SqTv), which is the ratio between the baseline R-R interval (mean of 10 beats just before squatting) and the longest R-R interval in the first 15 s of squatting, and SqT sympathetic ratio (SqTs), which is the ratio between the baseline R-R interval and the shortest R-R interval in the first 10–20 s of standing after squatting, as previously described [24,25].

Other measurements

Blood glucose control was assessed by concomitant HbA_{1c} levels (normal values 4–6%) to have an idea of the recent blood glucose control in the diabetic patients participating to the study.

Incipient nephropathy was defined as the presence of increased albumin excretion rate, either microalbuminuria (30–300 mg/L) or mild proteinuria (300–600 mg/L), measured by standard methods on one single overnight urine sample (data available in 125 out of 159 patients).

Statistical analysis

The required sample size to have an 80% chance of detecting as significant (at the two sided 5% level), a 10 mm Hg difference in PP between two different subgroups, with an assumed standard deviation of PP of 14 mm Hg, was 16 patients in each subgroup. A difference of 10 mm Hg was chosen as clinically significant because it has been shown to be associated with increased CVD (i.e. R-R of 1.11–95% CI 1.01–1.21 – per 10 mm Hg increase in PP) [5] and a higher mortality [12] in the large EURODIAB cohort of T1DM patients. Diabetes duration-related (in the diabetic population) and age-related (in the non-diabetic population) changes in parameters were compared between groups with two-way analysis of variance (ANOVA) and, where overall differences existed, *post hoc* analyses were conducted with the Bonferroni correction for multiple unpaired *t* tests. Results were expressed as mean \pm SD values for continuous variables. Comparisons of prevalence of categorical variables (E/I R-R ratio < 1.10, baroreflex gain < 2.5 and PP > 60 mm Hg) used χ^2 tests both for comparing two corresponding subgroups and for evaluating a significant trend from G1 to G4. A *p* value of less than 0.05 was considered significant.

Results

BP continuous monitoring during the squatting test

HR was significantly higher in diabetic than in non-diabetic patients (Figure 1, Table 1). This difference tended to be greater from G1 to G4. Especially, the relative bradycardia in the squatting position, observed in all subgroups of non-diabetic subjects, progressively vanished in diabetic patients from G1 to G4 (Figure 1, left panels). Furthermore, the overall reflex tachycardia accompanying the transition from squatting to standing position tended to be progressively dampened from G1 to G4 in the T1DM population.

Almost similar changes in MBP were observed in diabetic and non-diabetic subjects as far as the first three groups G1–G3 were concerned (Figure 1, middle panels). In contrast, G4 including patients with longer T1DM duration was characterized by lower MBP in the initial standing position, a quite similar MBP rise during squatting, a marked and almost comparable early MBP drop during the active transition phase from squatting to standing, but a delayed return to baseline values in the

orthostatic position (a marker of the presence of CAN, as previously reported) [27].

PP (Figure 1, right panels) was almost stable during the initial 1 min standing position. Whereas it was similar in diabetic and non-diabetic patients in G1 and G2, it was higher in diabetic than in non-diabetic subjects in G3 and G4. This difference appeared even more marked in the squatting position during which a significant PP increase was observed in all groups but of greater amplitude in patients with diabetes duration more than 20 years (G3 and G4) [23]. After the transition from squatting to standing, the PP return to baseline initial values was quite similar in all groups.

Effects of diabetes duration on arterial stiffness markers

MBP remained almost stable across the four diabetic G1–G4 groups. Indeed, the progressive increase in systolic BP was compensated by a graduate concomitant decrease in diastolic BP (Table 1). This resulted in a progressive increase in overall PP according to diabetes duration ($p < 0.0001$; Table 2). There was a marked difference between G1–G2 and G3–G4 in the diabetic population (49 ± 14 vs 59 ± 14 mm Hg; $p < 0.00002$), but not in the control group matched for age (51 ± 12 vs 50 ± 15 mm Hg; NS). Percentages of subjects with PP > 60 mm Hg steadily increased in the diabetic population (21% vs 24% vs 37% vs 61% from G1 to G4, respectively; $p = 0.046$), but not in non-diabetic subjects ($p = 0.3191$; Figure 2).

The slope of PP as a function of MBP (PP/MBP) progressively increased from G1 to G4 in the diabetic population ($p < 0.0005$), whereas it did not change significantly across the four subgroups of control individuals ($p = 0.3954$; Table 2).

Effects of diabetes duration on CAN markers

The E/I R-R ratio progressively decreased with the duration of T1DM ($p < 0.0001$; Table 2). No significant differences were observed neither between G1 and G2 nor between G3 and G4. In contrast, the differences were highly significant between pooled G1–G2 values and pooled G3–G4 values: 1.32 ± 0.17 versus 1.19 ± 0.13 ; $p < 0.0001$. The proportion of diabetic patients with E/I R-R ratio < 1.10 increased gradually from G1 to G4 ($p = 0.006$), whereas no such increase was observed in non-diabetic individuals (Figure 2).

The baroreflex gain progressively decreased from G1 to G4 in diabetic patients ($p = 0.0005$), but not in control subjects ($p = 0.1747$; Table 2). The proportion of subjects with a baroreflex gain < 2.5 increased from G1 to G4 in diabetic patients ($p = 0.0149$), whereas it did not change significantly across the four subgroups of control subjects ($p = 0.2933$; Figure 2).

Finally, the HR-derived indices during squatting and post-squatting standing showed a progressive increase in

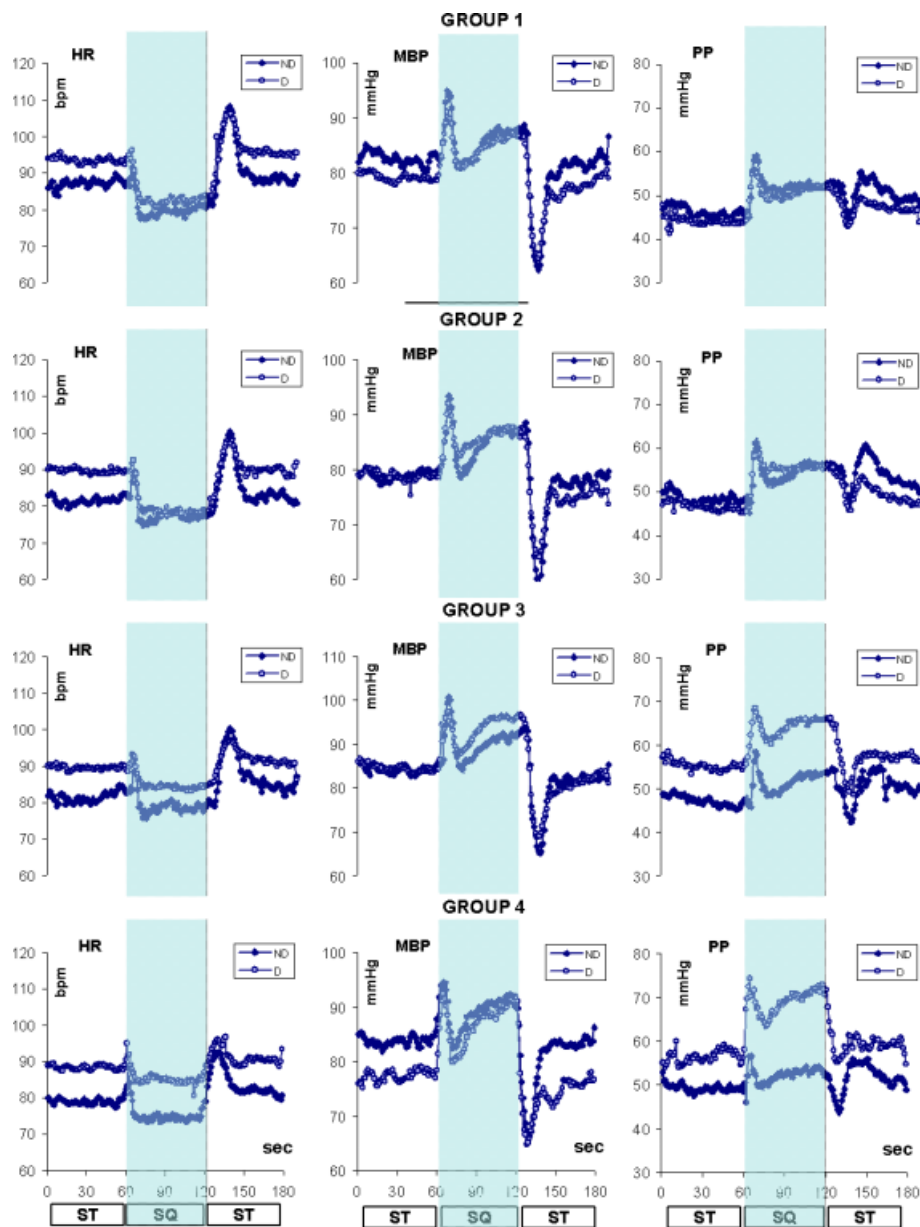


Figure 1. Changes in heart rate (HR), mean arterial blood pressure (MBP) and pulse pressure (PP) during the orthostatic test (1-min standing ST – 1-min squatting (SQ) – 1-min ST) in the four groups of diabetic (open circles) versus non-diabetic (full circles) subjects. Results correspond to mean values (18 to 57 subjects in diabetic patients and 28 to 30 subjects in non-diabetic subjects). This figure is available in colour online at www.interscience.wiley.com/journal/dmrr

SqTv from G1 to G4 in patients with T1DM ($p = 0.0001$), reflecting the dampened bradycardia during squatting (see above; Figure 1), but not in controls ($p = 0.1507$). In contrast, SqTs did not change significantly across the four subgroups, neither in diabetic ($p = 0.1218$) nor in non-diabetic ($p = 0.4099$) subjects (Table 2).

Effects of the presence of microalbuminuria or inhibitors of the renin-angiotensin system

Diabetic patients with microalbuminuria had a longer duration of T1DM and a higher HbA_{1c} level as compared with patients without microalbuminuria (Table 3). PP

was only slightly (NS) higher in T1DM patients with microalbuminuria, whereas PP/MBP was significantly increased ($p = 0.05$) compared with the corresponding value in patients without microalbuminuria. Patients with microalbuminuria had a significantly lower E/I R-R ratio and a trend to a lower baroreflex gain. SqTv and SqTs were similar in both subgroups. However, the significance of the difference regarding PP/MBP disappeared and that regarding E/I R-R ratio became borderline ($p = 0.049$) after adjusting for diabetes duration.

Patients receiving an inhibitor of the renin-angiotensin system were significantly older and with a longer duration of T1DM than patients not receiving such therapy (Table 3). Again, PP/MP, but not PP, was significantly increased in patients treated with ACEI/ARB. These

Table 2. Markers of arterial stiffness (upper part) and of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN, lower part) in the diabetic patients (D) with type 1 diabetes and non-diabetic subjects (ND) used as controls in the four subgroups divided according to diabetes duration and age matching, respectively. Results are expressed as mean \pm SD

	Group 1 (D \leq 10 years)		Group 2 (D 11–20 years)		Group 3 (D 21–30 years)		Group 4 (D \geq 30 years)		ANOVA G1–G4 (<i>p</i> value)	
	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND
<i>n</i>	39	30	45	30	57	30	18	28		
Arterial stiffness										
PP (mm Hg)	48 \pm 16	49 \pm 11	52 \pm 13	53 \pm 13	59 \pm 14***	49 \pm 14	62 \pm 12**	51 \pm 15	0.0001	0.3783
PP/MBP	0.45 \pm 0.25	0.42 \pm 0.28	0.51 \pm 0.38*	0.35 \pm 0.24	0.63 \pm 0.28**	0.42 \pm 0.30	0.80 \pm 0.35**	0.47 \pm 0.28	0.0005	0.3954
CAN										
E/I R-R ratio	1.34 \pm 0.15	1.39 \pm 0.19	1.30 \pm 0.18	1.36 \pm 0.15	1.19 \pm 0.13*	1.42 \pm 0.29	1.17 \pm 0.13	1.36 \pm 0.29	0.0000	0.6378
Baroreflex gain	4.1 \pm 2.4	4.3 \pm 2.9	3.9 \pm 3.1	3.9 \pm 2.4	2.2 \pm 1.9	5.2 \pm 4.5	2.5 \pm 1.6	3.3 \pm 2.8	0.0005	0.1747
SqTv	0.79 \pm 0.11	0.80 \pm 0.10	0.82 \pm 0.12	0.83 \pm 0.12	0.88 \pm 0.10	0.85 \pm 0.11	0.80 \pm 0.08	0.85 \pm 0.10	0.0001	0.1507
SqTs	1.20 \pm 0.15	1.28 \pm 0.18	1.17 \pm 0.23	1.24 \pm 0.13	1.11 \pm 0.13***	1.25 \pm 0.17	1.16 \pm 0.18	1.21 \pm 0.14	0.1218	0.4099

PP, pulse pressure; MBP, mean blood pressure; E/I R-R, expiration/inspiration pulse interval ratio; SqTv, squatting test vagal ratio; SqTs, sympathetic index.

Unpaired *t* test D versus ND: **p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.001.

patients had also positive indices of CAN, i.e. lower E/I R-R ratio, decreased baroreflex gain and increased SqTv index. However, the statistical significance of between-group differences vanished and was not significant anymore after adjustment for diabetes duration.

Discussion

The main findings of the present study are the following: (1) the demonstration of a progressive PP increase in T1DM patients according to disease duration, especially

after 20 years of diabetes, in an age range (<50 years) where such a PP rise was not observed in non-diabetic individuals; (2) the validation of the squatting test to dynamically measure PP and assess CAN, particularly by the calculation of a baroreflex gain, which progressively increased and decreased, respectively, according to diabetes duration; and (3) the more pronounced perturbation of CAN indices of parasympathetic rather than of sympathetic function with T1DM duration.

In the cross-sectional case-control FinnDiane study, comparing 2988 consecutively selected T1DM patients and 5486 control subjects, PP was higher in diabetic patients of all age categories, including in patients less than 45 years. Multiple regression analysis indicated that disease duration per se has a considerable impact on PP, independent of age and renal involvement [10]. Other observations from several more limited studies showed no [35] or only marginally increased PP values (<5 mm Hg) in T1DM patients aged around 25–30 years as compared with corresponding PP values recorded in age-matched non-diabetic individuals [8,36–38]. Similarly, only modest PP increases were observed in the present study in patients with <20 years T1DM duration. In contrast, a marked PP increase (difference of almost 10 mm Hg) was observed in diabetic patients aged >40 years with disease duration more than 20 years compared with age-matched non-diabetic individuals. In the EURODIAB Prospective Complications Study, a 12 mm Hg higher PP was observed in T1DM patients who died as compared with that of those who survived, and PP was significantly associated with all-cause mortality [12]. In our subgroup of patients with long-duration T1DM, almost twofold more subjects had PP >60 mm Hg, a threshold associated with a higher cardiovascular risk in T2DM [6]. In a recent study, the PP difference compared with non-diabetic age-matched controls was more marked in T1DM patients with microvascular complications (+14 mm Hg) than in those without complications (+5 mm Hg), but the former had a 10-year longer diabetes duration than the latter (29 vs 19 years) [38]. In our diabetic population,

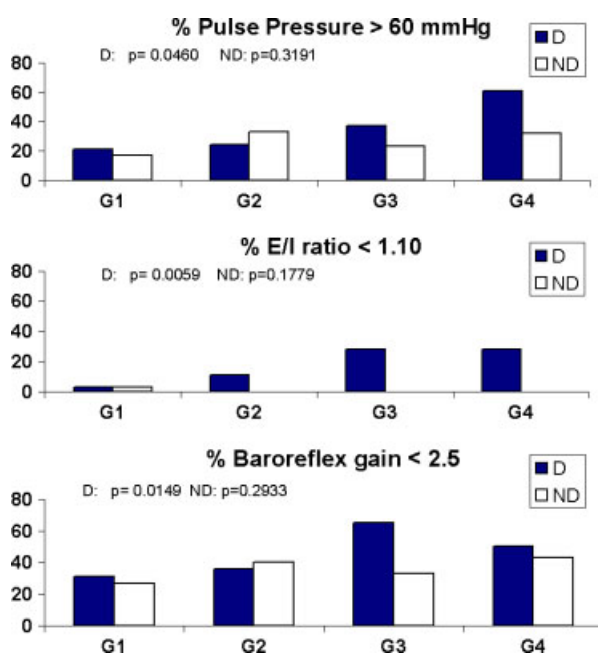


Figure 2. Percentages of subjects with pulse pressure (PP) >60 mm Hg, E/I R-R ratio <1.10 and baroreflex gain <2.5 in the four groups of diabetic (black bars) versus non-diabetic (white bars) individuals. Statistical analysis used chi-square tests for trends in each population. This figure is available in colour online at www.interscience.wiley.com/journal/dmrr

Table 3. Clinical characteristics, markers of arterial stiffness and indices of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) in type 1 diabetic patients (T1DM) without or with microalbuminuria and in T1DM without or with an inhibitor of the renin-angiotensin system. Results are expressed as mean \pm SD

N	Microalbuminuria			ACEI/ARB therapy		
	Without (n = 102)	With (n = 23)	<i>p</i>	Without (n = 129)	With (n = 30)	<i>p</i>
Characteristics						
Age (years)	40 \pm 11	42 \pm 10	NS	39 \pm 11	45 \pm 9	0.007
Sex ratio	54F/48M	8F/15M	NS	59F/70M	9F/14M	NS
BMI (kg/m ²)	23.7 \pm 3.8	23.1 \pm 2.9	NS	23.6 \pm 2.9	24.2 \pm 2.9	NS
T1DM duration (years)	19 \pm 10	26 \pm 12	0.019	18 \pm 10	27 \pm 11	<0.001
HbA _{1c} (%)	8.5 \pm 1.2	9.3 \pm 1.6	0.037	8.7 \pm 1.3	8.6 \pm 1.3	NS
MBP (mm Hg)	82 \pm 11	81 \pm 11	NS	82 \pm 11	81 \pm 12	NS
SBP (mm Hg)	120 \pm 19	122 \pm 21	NS	120 \pm 20	120 \pm 20	NS
DBP (mm Hg)	66 \pm 10	64 \pm 10	NS	66 \pm 10	63 \pm 11	NS
HR (bpm)	87 \pm 13	88 \pm 12	NS	89 \pm 14	87 \pm 11	NS
Arterial stiffness						
PP (mm Hg)	54 \pm 14	58 \pm 16	NS	54 \pm 15	56 \pm 14	NS
PP/MBP	0.54 \pm 0.35	0.70 \pm 0.34	0.050	0.54 \pm 0.32	0.72 \pm 0.33	0.008
CAN						
E/I R-R ratio	1.28 \pm 0.17	1.16 \pm 0.13	0.001	1.27 \pm 0.17	1.20 \pm 0.14	0.017
Baroreflex gain	3.4 \pm 2.7	2.6 \pm 2.7	NS	3.4 \pm 2.71	2.2 \pm 1.4	0.001
SqTv	0.79 \pm 0.11	0.80 \pm 0.10	NS	0.83 \pm 0.12	0.89 \pm 0.09	0.002
SqTs	1.20 \pm 0.15	1.28 \pm 0.18	NS	1.16 \pm 0.18	1.12 \pm 0.11	NS

Note: ACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin AT1 receptor blocker; NS, non-significant; BMI, body mass index; HbA_{1c}, glycated haemoglobin; MBP, mean blood pressure; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HR, heart rate; PP, pulse pressure; E/I R-R, expiration/inspiration pulse interval ratio; SqTv, squatting test vagal ratio; SqTs, sympathetic index.

PP increase occurred earlier as compared with the non-diabetic control group, in agreement with the FinnDiane study results that showed PP changes shifted to a 15- to 20-year younger age in T1DM subjects [10]. These PP results are in agreement with accelerated vascular aging in the T1DM population [39], confirming previous observations obtained with various other methods [9,35,36,40,41]. The earlier stiffening of arterial wall appeared to be more marked in women with T1DM than in men [10,42,43]. This was confirmed in the present cohort where we previously reported that the amplification of PP increase with squatting according to diabetes duration was more pronounced in women than in men with T1DM [23]. This may be of importance for the increased susceptibility to cardiovascular complications in diabetic women.

The present study confirms the validity of the use of the index PP/MBP previously proposed as a surrogate marker of arterial stiffness [30]. Indeed, we demonstrated that this index prematurely increased in patients with T1DM according to disease duration, in contrast to what was observed in an age-matched control population. However, the add-on value of this index, as compared with crude PP values, does not appear clearly in our study and further studies would probably be necessary to support the extensive use of this index [30].

All together, our findings and those from the literature are in agreement with earlier increased arterial stiffness in not well-controlled patients with T1DM. In the diabetic population, both in T2DM [5–7] and in T1DM [11,12], higher brachial PP is associated with complications and PP is an independent marker of cardiovascular mortality. However, although some drug therapies may prove useful in the treatment of patients with altered arterial mechanics [29], the therapeutic implications of

PP measurement remain poorly documented in diabetes [39]. Nevertheless, a recent study showed that lowering of brachial PP in more than 9000 hypertensive patients with T2DM was associated with a significant reduction of CV events [7].

The present data were obtained in patients with a rather poor glucose control as mean HbA_{1c} value was around 8.5%. We were not able to show differences between patients with HbA_{1c} < or > 8% (data not shown). However, as in most previous studies, we had only access to the last HbA_{1c} values and not to repeated measurements from the diagnosis of T1DM, which would provide a much better picture of the overall exposure to hyperglycaemia in diabetic patients. Nevertheless, in a recent study in hypertensive patients with T2DM, multivariate analysis of the determinants of PP reduction with BP-lowering therapy showed a negative association with HbA_{1c} [7]. In T1DM patients, it has been shown that HbA_{1c} does not correlate with vascular compliance [35,37]. In the FinnDiane, the ambient level of glycaemic control was not associated with increased PP, but the time of exposure to hyperglycaemia appeared to play a fundamental role in the process of premature arterial stiffening in T1DM [10]. In the EURODIAB Prospective Complications Study in patients with T1DM, again PP was not associated with HbA_{1c} [41]. However, it was strongly associated with the advanced glycation end products N^{*}-(carboxymethyl)lysine and N^{*}-(carboxyethyl)lysine [44], suggesting that the formation of advanced glycation end products is an important pathway in the development of arterial stiffness in young T1DM individuals [9].

CAN incidence increases with diabetes duration, especially in T1DM [31,45]. Classically, parasympathetic dysfunction precedes sympathetic dysfunction [15,31,32].

When evaluating HR variations during the squatting test, and calculating indices reflecting mainly parasympathetic activity (SqTv) and sympathetic activity separately (SqTs) [24,25], we showed that SqTv index was markedly and significantly affected by diabetes duration, whereas changes in SqTs did not reach the level of statistical significance in our population with T1DM. CAN may be found early in the course of diabetes and might be considered as a prognostic marker of microangiopathic complications [14,15,45,46]. Increased systolic BP (but not diastolic BP, thus presumably higher PP, but not mentioned in the article) was identified as a factor associated with an increased risk of developing CAN in a multivariate regression model applied to the cohort of T1DM patients of the EURODIAB Prospective Complications Study [47]. In normoalbuminuric patients with T1DM, deterioration of autonomic nervous function (E/I R-R ratio and lying-to-standing test) was associated with an increase in arterial stiffness, assessed by aortic pulse wave velocity, which, in turn, was associated with, and may cause, increased SBP and PP [48]. In patients with T1DM, there was a correlation between increased aortic stiffness and parasympathetic dysfunction, and this relationship persisted when taking into account for diabetes duration. However, this was observed only in women and not in men, a finding that might be of importance for the increased susceptibility to cardiovascular complications in diabetic women [43].

In the present study, the differences in PP/MBP (increased level, marker of arterial stiffness), E/I R-R ratio (decreased level, marker of CAN) and baroreflex gain (trend to lower value) in patients with microalbuminuria were mostly explained by the greater duration of diabetes as compared with T1DM patients without microalbuminuria. In the FinnDiane study [10], T1DM patients with macroalbuminuria had the highest PP. Higher PP values were also observed in microalbuminuric than in normoalbuminuric T1DM patients, but only in limited age categories. In contrast, control subjects had significantly lower PP than normoalbuminuric diabetic subjects in all age categories. The authors concluded that even if the premature rise in PP is strongly related to the development of diabetic kidney disease, it also characterizes T1DM patients with a persistently normal urinary albumin excretion rate. In another study, baroreflex sensitivity (defined as the mean gain between BP variability and HR variability) was shown to be depressed in microalbuminuric T1DM patients (but without CAN) at rest and during sympathetic manoeuvres [49].

There are some limitations in our study. First, the cross-sectional design did not allow following patients prospectively. However, it is almost impossible to perform such a longitudinal study that should last several decades to detect the trend observed here as most important changes in PP occurred after more than 20 years of diabetes duration. Second, glucose control of T1DM patients evaluated in the present study was not optimal, despite intensified insulin therapy, so that results could

not be necessarily extrapolated to patients with near normoglycaemia for many years. In addition, the quality of previous glucose control should be better assessed than by using only concomitant HbA_{1c} levels as already mentioned. Third, finger is an unusual site to measure PP, and different from the brachial site used in the FinnDiane study [9], for instance. Several studies have demonstrated that absolute brachial and finger PP measurements are not identical with larger differences in systolic BP. However, the differences were generally small as compared with the magnitude of the responses during dynamic tests and therefore not considered of clinical relevance [50]. Most importantly, in a study comparing PP in radial artery and finger, changes in PP were almost similar during a head-up tilt in young healthy volunteers [51]. Finally, it is not clear whether PP should be seen as an independent risk factor requiring correction or simply as a marker to be taken into account when evaluating overall vascular risk [39]. Direct measures of arterial stiffness are likely to be better candidates than indirect ones for refining interventions to improve outcomes in diabetes [52].

In conclusion, the original squatting test with continuous monitoring of BP and HR allows simultaneous evaluation of PP, an indirect measure of arterial stiffness, and baroreflex gain, a marker of CAN. T1DM was associated with a progressive increase in PP according to the duration of the disease, in an age range where no significant influence of age was observed in a non-diabetic population. This is suggestive of accelerated arterial stiffening. Markers of CAN, especially those of parasympathetic dysfunction, also steadily progressed according to the duration of T1DM. The combination of both haemodynamic (increased PP) and autonomic disturbances may explain the higher cardiovascular risk and the increased total mortality of patients with T1DM of long duration, as recently shown in the EURODIAB Prospective Complications Study [12].

Conflict of interest

None declared.

References

1. de Simone G, Roman MJ, Alderman MH, Galderisi M, de Divitiis O, Devereux RB. Is high pulse pressure a marker of preclinical cardiovascular disease? *Hypertension* 2005; **45**: 575–579.
2. Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham Heart Study. *Circulation* 1999; **100**: 354–360.
3. Assmann G, Cullen P, Evers T, Petzinna D, Schulte H. Importance of arterial pulse pressure as a predictor of coronary heart disease risk in PROCAM. *Eur Heart J* 2005; **26**: 2120–2126.
4. Benetos A, Rudnicki A, Safar M, Guize L. Pulse pressure and cardiovascular mortality in normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 1998; **32**: 560–564.
5. Schram MT, Kostense PJ, Van Dijk RA, *et al.* Diabetes, pulse pressure and cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *J Hypertens* 2002; **20**: 1743–1751.

6. Cockcroft JR, Wilkinson IB, Evans M, *et al.* Pulse pressure predicts cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 2005; **18**: 1463–1467; Discussion 1468–1469.
7. Tropeano AI, Katsahian S, Molle D, Grimaldi A, Laurent S. Lowering of brachial pulse pressure in 9379 hypertensives with type 2 diabetes and reduction of cardiovascular events. *Blood Press* 2008; **17**: 26–33.
8. Retnakaran R, Zinman B. Type 1 diabetes, hyperglycaemia, and the heart. *Lancet* 2008; **371**: 1790–1799.
9. Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003; **21**: 2005–2007.
10. Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Reunanen A, Groop PH, Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study Group. Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 2004; **110**: 1076–1082.
11. Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003; **21**: 2035–2044.
12. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe. The EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008; **31**: 1360–1366.
13. Geronoz I, Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Cardiovascular autonomic neuropathy: An underestimated complication. In *Clinical Implications of Belgian Diabetological Research*, De Leeuw I, Lefèbvre P. Belgian Diabetes Study Group: 2004; 69–81.
14. Maser RE, Lenhard MJ. Review: Cardiovascular autonomic neuropathy due to diabetes mellitus: clinical manifestations, consequences and treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 5896–5903.
15. Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2007; **115**: 387–397.
16. 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; **26**: 1895–1901.
17. Kempler P, Tesfaye S, Chaturvedi N, *et al.* EURODIAB IDDM Complications Study Group. Autonomic neuropathy is associated with increased cardiovascular risk factors: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabet Med* 2002; **19**: 900–909.
18. McEnery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, ACCT Investigators. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol* 2005; **46**: 1753–1760.
19. Mallareddy M, Parikh CR, Peixoto AJ. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on arterial stiffness in hypertension: systematic review and meta-analysis. *J Clin Hypertens* 2006; **8**: 398–403.
20. O'Donnell TV, McLroy MB. The circulatory effects of squatting. *Am Heart J* 1962; **64**: 347–356.
21. Rossberg F, Penaz J. Initial cardiovascular response on change of posture from squatting to standing. *Eur J Appl Physiol* 1988; **57**: 93–97.
22. Hanson P, Slane PR, Tueckert PA, Clark SV. Squatting revisited: Comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br Heart J* 1995; **74**: 154–158.
23. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008; **31**: 322–324.
24. Marfella R, Giugliano D, Di Maro G, Acampora R, Giunta R, D'Onofrio F. The squatting test: A useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994; **43**: 607–612.
25. Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, *et al.* Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 1994; **17**: 149–151.
26. Netten PM, Boots JM, Bredie SJ, *et al.* An automated computerized method using Finapres for measuring cardiovascular reflexes. *Clin Sci* 1992; **83**: 157–163.
27. Scheen AJ, Juchmes J, Pochet Th. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diab Metab* 1990; **16**: 382–384.
28. Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003; **90**: 449–457.
29. Hamilton PK, Lockhart CJ, Quinn CE, McVeigh GE. Arterial stiffness: clinical relevance, measurement and treatment. *Clin Sci (Lond)* 2007; **113**: 157–170.
30. Gosse Ph, Papaioanou G, Coulon P, Reuter S, Lemetayer Ph, Safar M. Can ambulatory blood-pressure monitoring provide reliable indices of arterial stiffness? *Am J Hypertens* 2007; **20**: 831–838.
31. Ewing DJ, Martin CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985; **8**: 491–498.
32. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; **26**: 1553–1579.
33. Parati G, Di Rienzo M, Mancia G. How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens* 2000; **18**: 7–19.
34. Di Maro G, Juchmes J, Fossion A, Scheen AJ, Lefèbvre PJ. Study of the baroreflex by beat-to-beat changes in finger arterial pressure during squatting in diabetic patients (Abstract). *Diabetologia* 1991; **34**(Suppl. 2): A158.
35. Kool MJ, Lambert J, Stehouwer CD, Hoeks AP, Struijker Boudier HA, Van Bortel LM. Vessel wall properties of large arteries in uncomplicated IDDM. *Diabetes Care* 1995; **18**: 618–624.
36. Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, *et al.* Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *Q J Med* 2000; **93**: 441–448.
37. Berry KL, Skyrme-Jones RA, Cameron JD, O'Brien RC, Meredith IT. Systemic arterial compliance is reduced in young patients with IDDM. *Am J Physiol* 1999; **276**: 1839–1845.
38. Jenkins AJ, Zhang SX, Rowley KG, *et al.* Increased serum pigment epithelium-derived factor is associated with microvascular complications, vascular stiffness and inflammation in Type 1 diabetes. *Diabetic Med* 2007; **24**: 1345–1351.
39. Bouhanick B, Chamontin B. Should pulse pressure and day/night variations in blood pressure be seen as independent risk factors requiring correction or simply as markers to be taken into account when evaluating overall vascular risk? *Diabetes Metab* 2007; **33**: 321–330.
40. Brooks B, Molyneaux L, Yue DK. Augmentation of central arterial pressure in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; **22**: 1722–1727.
41. Sommerfield AJ, Wilkinson I, Webb D, Frier B. Vessel wall stiffness in type 1 diabetes, and the central hemodynamic effects of acute hypoglycaemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; **293**: E1274–E1279.
42. Scurrah KJ, Byrnes GB, Hopper JL, Harrap SB. Sex differences in genetic and environmental determinants of pulse pressure. *Genet Epidemiol* 2006; **30**: 397–408.
43. Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, Sonesson B, Länne T. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 1999; **16**: 291–297.
44. Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005; **46**: 232–237.
45. Valensi P, Pariès J, Attali JR. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: Influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications – The French Multicenter Study. *Metabolism* 2003; **52**: 815–820.
46. Valensi P, Huard J-P, Giroux C, Attali J-R. Factors involved in cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients. *J Diabetes Complic* 1997; **11**: 180–187.
47. Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Kempler P, Fuller JH, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2005; **48**: 164–171.
48. van Ittersum FJ, Schram MT, van der Heijden-Spek JJ, *et al.* Autonomic nervous function, arterial stiffness and blood pressure in patients with type I diabetes mellitus and normal urinary albumin excretion. *J Hum Hypertens* 2004; **18**: 761–768.

49. Lefrandt JD, Hoogenberg K, van Roon AM, Dullaart RP, Gans RO, Smit AJ. Baroreflex sensitivity is depressed in microalbuminuric type 1 diabetic patients at rest and during sympathetic manoeuvres. *Diabetologia* 1999; **42**: 1345–1349.
50. Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998; **38**: 605–616.
51. Steinback CD, O'Leary DD, Wang SS, Shoemaker JK. Peripheral pulse pressure responses to postural stress do not reflect those at the carotid artery. *Clin Physiol Funct Imaging* 2004; **24**: 40–45.
52. Cameron JD, Cruickshank JK. Glucose, insulin, diabetes and mechanisms of arterial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; **34**: 677–682.

Original Article: Pathophysiology

Changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure \times heart rate product during squatting in Type 1 diabetes according to age

J.-C. Philips, M. Marchand and A. J. Scheen

Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Sart Tilman, University of Liège, Liège, Belgium

Accepted 16 April 2010

Abstract

Aims We assessed changes in pulse pressure and heart rate during a squatting test, as indirect markers of arterial stiffness and cardiovascular autonomic neuropathy, respectively, according to age and sex in patients with Type 1 diabetes mellitus.

Methods We evaluated 160 diabetic patients, divided into four groups of 20 men and 20 women according to age (G1, 20–30 years old; G2, 31–40 years old; G3, 41–50 years old; and G4, 51–60 years old), and 160 non-diabetic matched control subjects. Each subject underwent a 3 min posture test (standing–squatting–standing) with continuous measurement of arterial blood pressure and heart rate by a Finapres[®] device. Overall values throughout the test, baseline levels in initial standing position and squatting-induced changes in pulse pressure, heart rate and the pulse pressure \times heart rate product were compared between diabetic patients and healthy control subjects.

Results In the standing position, a greater increase in pulse pressure and lower reduction in heart rate with age led to a significantly higher pulse pressure \times heart rate product in diabetic patients compared with control subjects. In the squatting position, a more marked pulse pressure increase in the absence of appropriate reduction in heart rate resulted in a greater rise in the pulse pressure \times heart rate product in diabetic patients than in healthy subjects. No major differences were noted between the sexes, with the exception of a stronger relationship between pulse pressure and age in the female population with diabetes. Squatting-derived indices of cardiovascular autonomic neuropathy were also noted with increasing age in diabetic patients.

Conclusions The marked increase in the pulse pressure \times heart rate product ('pulsatile stress') according to age, combined with cardiovascular autonomic neuropathy, may contribute to the higher cardiovascular risk of patients with Type 1 diabetes.

Diabet. Med. 27, 753–761 (2010)

Keywords Finapres[®], heart rate, pulse pressure, squatting, Type 1 diabetes

Abbreviations ANOVA, analysis of variance; BMI, body mass index; BP, blood pressure; CAN, cardiovascular autonomic neuropathy; CVD, cardiovascular disease; FinnDiane, Finnish diabetes nephropathy; HbA_{1c}, glycated haemoglobin; HR, heart rate; NA, not applicable; NS, non-significant; PP, pulse pressure; PP \times HR, pulse pressure \times heart rate product; SqTs, squatting sympathetic index; SqTv, squatting vagal index

Introduction

There appears to be an association between Type 1 diabetes mellitus and early vascular ageing and a more pronounced

increase in arterial stiffness [1]. Arterial pulse pressure (PP) is considered as an indirect marker of arterial stiffness [2,3]. In the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) study [4], a higher systolic blood pressure (BP) and an earlier decrease in diastolic BP resulted in a higher and more rapid increase in PP in patients with Type 1 diabetes compared with non-diabetic control subjects. Arterial PP is a risk factor for cardiovascular disease (CVD) and total mortality in patients with Type 1 diabetes (as shown in the EURODIAB study [5,6]) and in patients with Type 2 diabetes

Correspondence to: Professor André J. Scheen, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, CHU Sart Tilman, University of Liège, B-4000 Liège, Belgium.
E-mail: andre.scheen@chu.ulg.ac.be

[7]. Thus, the increased PP, reflecting accelerated arterial ageing, may contribute to the higher CVD morbidity and mortality in patients with Type 1 diabetes.

We recently reported that PP increases according to the duration of Type 1 diabetes in an age range (20–60 years), whereas PP remains relatively stable in healthy subjects [8]. Furthermore, we showed that the squatting position amplifies PP increase with diabetes duration, and this amplification appears to be higher in women with diabetes than in men with diabetes [9]. Some relationships between PP changes and indices of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) were also described in this population with Type 1 diabetes [8]. Since an increase in heart rate (HR) can reduce PP [10,11], and because the presence of diabetic CAN may markedly influence changes in HR [8,12], the relationships between these two parameters warrant further evaluation, particularly during a dynamic posture test, such as squatting.

The aim of the present study was to investigate changes in PP, HR and PP × HR product ('pulsatile stress'), according to age and sex, in a large population of patients with Type 1 diabetes and in a non-diabetic control group.

Subjects and methods

Subjects

A total of 160 patients with Type 1 diabetes under follow-up in our department were evaluated. Inclusion criteria were as follows: age 20–60 years; body mass index (BMI) < 30 kg/m²; duration of diabetes >1 year; and glycated haemoglobin (HbA_{1c}) < 12%. Exclusion criteria were as follows: CVD history (including hypertension); any severe illness during the previous 3 months; renal insufficiency, defined as an estimated creatinine clearance < 45 ml/min; and medications that may influence cardiovascular reflexes [8] (including β-blockers). All patients with diabetes were treated with multiple insulin injections or continuous subcutaneous insulin infusion.

Subjects were divided according to age and sex into four groups of 40 subjects (20 men and 20 women) as follows: G1, 20–30 years old; G2, 31–40 years old; G3, 41–50 years old; and G4, 51–60 years old.

In order to differentiate between the effects of duration of diabetes and those of normal ageing [13], 160 healthy subjects were used as controls and matched for age, sex and BMI (20 men and 20 women in each subgroup; Table 1). The study was accepted by the ethical committee of our institution.

Orthostatic test

The squatting test (successively 1 min standing, 1 min squatting, 1 min standing) is an original active orthostatic test that leads to the most important and fast variations of the hydrostatic level with posture [14]. Squatting produces a prompt increase in cardiac output and arterial BP, essentially attributed to augmented venous return from compression of leg veins. These

Table 1 Characteristics of the patients with Type 1 diabetes (D) and non-diabetic subjects (ND) used as controls in the four subgroups of 40 individuals (20 men and 20 women) divided according to age, and average values of mean BP, systolic BP, diastolic BP, PP, HR and PP × HR product recorded during the whole 3 min squatting test

	Group 1 20–30 years		Group 2 31–40 years		Group 3 41–50 years		Group 4 51–60 years		P value ANOVA G1–G4	
	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND
n (male/female)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	40 (20/20)	NA	NA
Age (years)	25 ± 3	25 ± 3	35 ± 3	35 ± 3	45 ± 3	45 ± 3	55 ± 3	55 ± 3	0.00001	0.00001
Diabetes duration (years)	12 ± 7	NA	17 ± 8	NA	23 ± 10	NA	26 ± 12	NA	0.00001	NA
BMI (kg/m ²)	23.2 ± 3.1	22.3 ± 2.6	24.4 ± 2.7	23.3 ± 2.7	23.8 ± 2.9	24.0 ± 3.1	23.5 ± 2.9 ^a	25.2 ± 3.8	NS	0.0004
HbA _{1c} (%)	9.1 ± 2.1	NA	8.3 ± 1.2	NA	8.6 ± 1.1	NA	8.5 ± 1.3	NA	NS	NA
Mean BP (mmHg)	83 ± 12	79 ± 10	88 ± 21	85 ± 15	86 ± 15	84 ± 12	83 ± 13	88 ± 14	NS	0.032
Systolic BP (mmHg)	117 ± 18	115 ± 15	124 ± 24	118 ± 17	128 ± 20	121 ± 19	124 ± 22	124 ± 19	NS	NS
Diastolic BP (mmHg)	69 ± 10	65 ± 10	72 ± 20	69 ± 14	68 ± 13	67 ± 11	66 ± 10	70 ± 14	NS	NS
PP (mmHg)	48 ± 13	50 ± 11	52 ± 10	48 ± 9	60 ± 12 ^a	54 ± 13	58 ± 17	53 ± 14	NS	NS
HR (beats/min)	89 ± 14	86 ± 9	93 ± 12 ^c	81 ± 10	88 ± 11 ^b	82 ± 10	85 ± 13 ^b	79 ± 10	NS	0.0004
PP × HR product (mmHg/min)	4293 ± 1316	4405 ± 1095	4798 ^c ± 1033	4014 ± 890	5286 ^c ± 1260	4351 ± 996	5024 ^a ± 1916	4146 ± 1170	0.01639	NS

Results are expressed as means ± sd. Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; BMI, body mass index; BP, blood pressure; HbA_{1c}, glycated haemoglobin; HR, heart rate; NA, not applicable; NS, non-significant; and PP, pulse pressure. Student's unpaired t-test for D vs. ND: ^aP < 0.05, ^bP < 0.01 and ^cP < 0.001.

changes are accompanied by an immediate decrease in HR and forearm vascular resistance, probably due to activation of cardiopulmonary and arterial baroreflexes that implicate the autonomic nervous system. The active transition from squatting to standing results in a greater initial decrease in BP compared with the passive head-up tilt, and this makes the squatting test a greater challenge for the cardiovascular reflexes [15]. Therefore, the squatting test has been proposed to derive both parasympathetic and sympathetic indices that are able to detect CAN [16,17] and assess baroreflex sensitivity [18] in patients with diabetes.

Measurements

Changes in systolic/diastolic BP and HR were measured continuously with a Finapres[®] (from FINger Arterial PRESSure) instrument (Ohmeda, USA) that allows the careful study of cardiovascular reflexes, especially during an orthostatic manoeuvre [19,20]. The Finapres[®] is based on servoplethysmomanometry and employs the volume-clamp technique at the finger level. Pulse pressure (i.e. systolic BP minus diastolic BP) was calculated automatically throughout the test. As previously described, we calculated mean levels in each subject during the whole period of the test, during the initial standing position and during the squatting position, after exclusion of the initial transition phase [8,9].

Tachycardia reduces PP, whereas relative bradycardia increases it [10,11]. Diabetic patients with CAN may have fixed tachycardia owing to a parasympathetic defect [12]. Consequently, the reduction in HR normally observed in the squatting position may be dampened in the presence of CAN in patients with diabetes [16–18]. One may hypothesize that higher HR levels may contribute to reduce peripheral PP and thus underestimate arterial stiffness [21]. In an attempt to minimize this interference, we calculated the PP × HR product in each position in the various groups of subjects described above. This PP × HR product, which represents an alternative to the classical systolic BP × HR product used to evaluate cardiac load, is recognized to be associated with an increased CVD risk [22]. Furthermore, a recent study demonstrated that PP × HR product (representing ‘pulsatile stress’) also correlates with (micro)albuminuria [23].

In order to evaluate the presence of CAN, we calculated both a vagal index (SqTv, the ratio between the baseline cardiac R–R interval and the longest R–R interval in the first 15 s of squatting) and a sympathetic index (SqTs, the ratio between the baseline cardiac R–R interval and the shortest R–R interval in the first 10–20 s of standing after squatting), as previously described [16,17]. These indices, based on HR reduction during squatting and reflex tachycardia during standing, were almost similar to those used recently by a Japanese group in a similar squatting test [18].

Concomitant HbA_{1c} levels (normal values 4–6%) were measured in order to assess recent blood glucose control in patients with Type 1 diabetes.

Statistical analysis

A sample size of 32 individuals was required to provide an 80% power to detect a significant (at the two-tailed 5% level) difference of 10 mmHg PP between two subgroups, with an assumed standard deviation of PP of 14 mmHg. A difference of 10 mmHg was chosen as clinically significant based on its association with increased cardiovascular mortality in Type 2 diabetes [7] and total mortality in the large EURODIAB cohort of patients with Type 1 diabetes [6].

The normality of data distribution was assessed in each of the four subgroups of both diabetic and non-diabetic populations. Normality was confirmed for most variables, including the two key parameters of PP and PP × HR product. Therefore, age-related changes in all initial parameters and subsequent calculated indices were compared between groups using one-way analysis of variance (ANOVA) and, where overall differences existed, *post hoc* analyses were conducted with correction for multiple Student’s unpaired *t*-tests. Results are expressed as mean values ± SD for continuous variables. Nevertheless, changes from standing to squatting in PP and PP × HR product did not meet the normality criteria in some subgroups. Therefore, non-parametric ANOVA was also used to assess trends across the four groups in the diabetic and non-diabetic populations and Mann–Whitney *U* tests were performed to evaluate any possible differences between each diabetic subgroup and its corresponding control subgroup for squatting-induced changes in PP, HR and PP × HR product, and also for the HR-derived SqTv and SqTs CAN indices calculated during and after squatting. Corresponding data are presented as median values (with 25 and 75% interquartiles). Multivariate regressions were applied to compare PP between patients with diabetes and control subjects when adjusting for HR and age effect on PP. The correlation between two variables was assessed with the Spearman correlation coefficient. All results were considered to be significant at the 5% critical level ($P < 0.05$). Statistical analyses were carried out using SAS (version 9.1 for Windows) statistical packages.

Results

Heart rate and pulse pressure during continuous monitoring

Heart rate and PP profiles throughout the three periods of the squatting test were comparable in patients with Type 1 diabetes and in matched healthy subjects in the age group 20–30 years (G1). However, significant differences between the two populations became apparent with increasing age for the two parameters, as shown graphically in Fig. 1 and numerically in Table 1.

For patients >30 years of age, HR was significantly higher in diabetic than in non-diabetic subjects when measured throughout the whole test (Table 1) and in the baseline standing position (Fig. 1). There was a progressive reduction in HR with increasing age in the non-diabetic subjects ($P = 0.0004$ for overall HR;

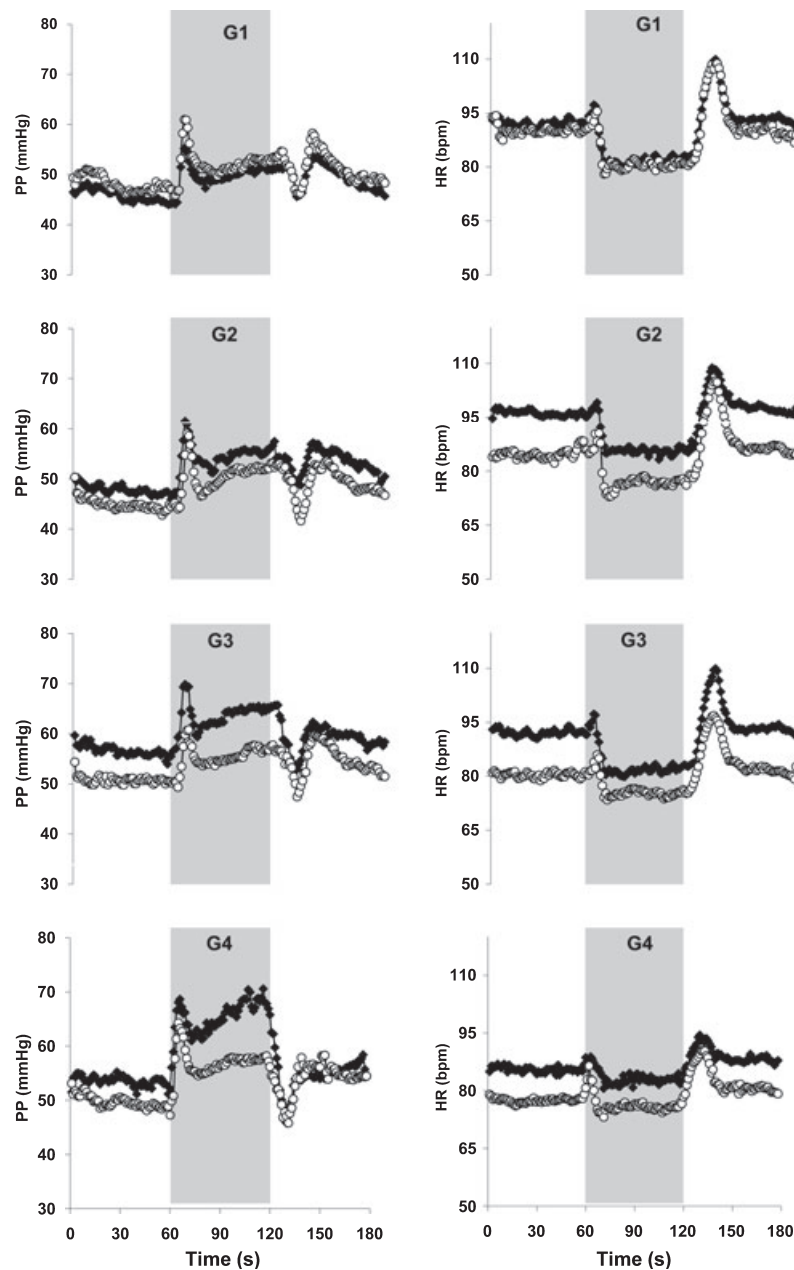


FIGURE 1 Changes in pulse pressure (PP; left panels) and heart rate (HR; right panels) during a posture test (1 min standing–1 min squatting–1 min standing) in four groups of diabetic (filled circles) vs. non-diabetic subjects (open circles) separated according to age (from top down, from G1 to G4). Results correspond to mean values (40 subjects in each group, 20 men and 20 women). The shaded zone corresponds to the 1 min squatting period, which is preceded and followed by a 1 min standing period.

$P = 0.0001$ for HR in standing position). This decline of HR with increasing age was less marked in patients with diabetes. While the trend remained significant in the initial standing position ($P = 0.011$; Fig. 2), there was no statistical significance when the overall period of measurement was taken into account ($P = \text{NS}$; Table 1).

Pulse pressure was slightly higher in diabetic patients than in non-diabetic subjects from G2 to G4, although the difference did not reach the level of statistical significance (except for G3, $P = 0.0118$; (Figs 1 and 2). There was a progressive rise in PP

with increasing age in the patients with diabetes, whereas such an increase in PP was not observed in control subjects (Table 1 and Fig. 2).

When adjusting for HR and age effect on PP using a multivariate regression analysis, significantly higher PP levels were observed in patients with diabetes than in non-diabetic control subjects ($P = 0.034$).

Baseline PP \times HR product calculated during the initial standing position showed a trend to opposite changes between the two populations: a progressive increase in patients with

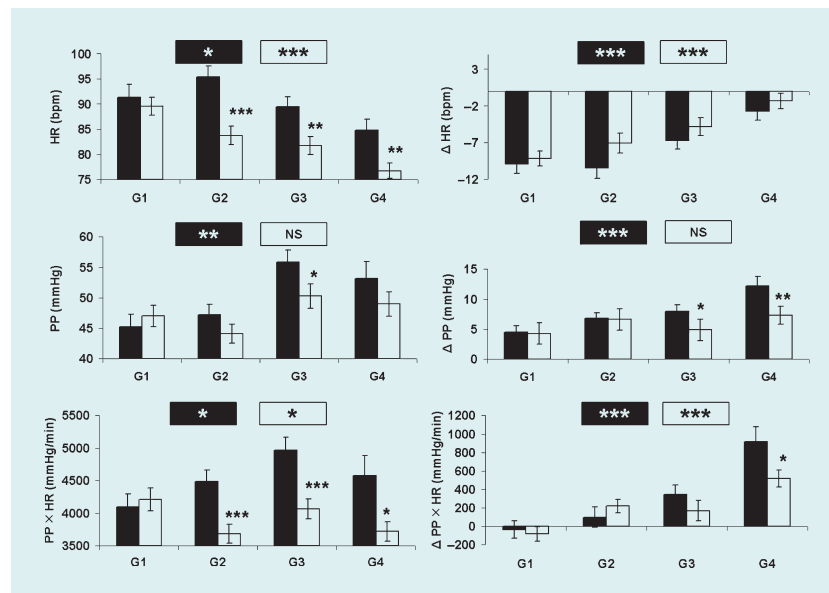


FIGURE 2 Mean values of heart rate (HR), pulse pressure (PP) and PP \times HR product in the four groups of diabetic (filled bars) vs. non-diabetic individuals (open bars) separated according to age (from G1 to G4; $n = 40$ in each group). Left panels correspond to baseline values in the initial standing position, while right panels correspond to changes in mean values induced by squatting. Statistical analysis used ANOVA for trends with age in each population (stars in the boxes above histograms) and Student's unpaired t -test for differences between diabetic and non-diabetic subjects in each group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

diabetes ($P = 0.057$) compared with a progressive reduction in control subjects ($P = 0.042$; Fig. 2). These opposing patterns resulted in significantly higher PP \times HR values in patients with diabetes (G2–G4) than in control subjects when product was measured either during the initial standing position (Fig. 2) or throughout the test (Table 1). A significant increase in PP \times HR product measured during the whole test was observed from G1 to G4 in the diabetic population ($P = 0.01639$), but not in control subjects (Table 1).

Quantitative changes in PP, HR and PP \times HR product during squatting

Squatting resulted in a reduction in HR, but an increase in PP in all groups (Figs 1 and 2). With increasing age, the squatting-associated reduction in HR decreased progressively in both diabetic ($P = 0.00008$) and non-diabetic individuals ($P = 0.0004$; Fig. 2 and Table 2). Despite higher baseline HR levels, the decrease in HR during squatting was similar in diabetic and in non-diabetic subjects in all groups, G1–G4 (Fig. 2 and Table 2). Conversely, with increasing age, the elevation of PP during squatting became progressively more marked. The age-related change of PP was not significant in non-diabetic subjects, whereas it was highly significant in patients with Type 1 diabetes in the age range 20–60 years ($P = 0.0004$; Fig. 2 and Table 2). Consequently, while the squatting-induced PP increase was similar in diabetic and non-diabetic subjects in G1 and G2, it was significantly greater in diabetic vs. non-diabetic subjects in G3 ($P = 0.0449$) and highly significantly greater in G4 ($P = 0.0084$; Fig. 2).

When adjusting for HR and age effect on squatting-induced PP changes, a significant difference was observed between patients with diabetes and non-diabetic subjects ($P = 0.012$). Patients with type 1 diabetes showed a significantly greater PP increase than control subjects. Remarkable squatting-induced changes were observed in PP \times HR product according to age. Changes in PP \times HR product increased progressively with age in both non-diabetic ($P < 0.0001$) and diabetic subjects ($P < 0.00001$). Nevertheless, the increase tended to be more pronounced in diabetic than in non-diabetic individuals (median values for G4, 719 vs. 500 mmHg/min, respectively; $P = 0.0311$).

Effects of diabetes duration on CAN indices

Changes in HR-derived indices during posture showed a progressive increase in SqTv from G1 to G4 in patients with Type 1 diabetes ($P = 0.00001$) and in non-diabetic individuals ($P = 0.00001$), reflecting the dampened bradycardia during squatting according to increasing age (see above; Fig. 1). In contrast, SqTs index (reflecting post-squatting tachycardia) significantly decreased with increasing age across the four diabetic subgroups ($P = 0.0011$). A similar, although less pronounced, trend was observed in the non-diabetic subjects within the same age range ($P = 0.0241$; Table 2). No significant differences in SqTv were observed between patients with diabetes and non-diabetic patients in any of the four groups, except for G3, in which the SqTv index was higher in patients with diabetes than in control subjects ($P = 0.0245$). In contrast, SqTs was higher in patients with Type 1 diabetes than in healthy

Table 2 Changes in mean blood pressure (BP), systolic BP, diastolic BP, pulse pressure (PP), heart rate (HR), and PP × HR product from the initial standing position to the squatting position in the patients with Type 1 diabetes (D) and non-diabetic subjects (ND) used as controls in the four subgroups divided according to age

	Group 1 20–30 years		Group 2 31–40 years		Group 3 41–50 years		Group 4 51–60 years		P value ANOVA G1–G4	
	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND	D	ND
<i>n</i>	40	40	40	40	40	40	40	40	NA	NA
ΔMBP (mmHg)	4 (0; 7)	4 (1; 9)	5 (2; 9)	5 (1; 9)	6 (3; 10)	5 (3; 8)	5 (11; 19)	7 (4; 12)	0.0003	0.058
ΔSBP (mmHg)	6 (–1; 10)	6 (–1; 11)	10 (4; 15)	7 (2; 15)	11 (6; 14)	8 (2; 13)	17 (9; 28)	12 (7; 17)	0.0001	0.016
ΔDBP (mmHg)	1 (–3; 4)	1 (–1; 5)	2 (–1; 5)	2 (–3; 6)	2 (–1; 5)	1 (–1; 4)	6 (2; 11)	4 (1; 8)	0.002	0.06
ΔPP (mmHg)	4 (1; 8)	4 (1; 8)	7 (4; 9)	6 (4; 10)	8 ^a (5; 10)	6 (1; 9)	11 ^a (5; 20)	7 (5; 11)	0.0004	NS
ΔHR (beats/min)	–10 (–15; –4)	–10 (–14; –6)	–11 (–14; –6)	–5 (–11; –2)	–7 (–11; –2)	–5 (–12; –1)	–4 (–7; 2)	–1 (–5; 3)	0.0001	0.0001
ΔPP × HR (mmHg/min)	–55 (–219; 380)	–164 (–393; 231)	38 (–245; 387)	179 (–34; 550)	344 (–4; 741)	147 (–200; 546)	719 ^a (386; 1369)	500 (94; 679)	0.00001	0.0001
SqTv index	0.78 (0.72; 0.86)	0.77 (0.69; 0.84)	0.81 (0.76; 0.90)	0.78 (0.71; 0.87)	0.90 (0.83; 0.95) ^a	0.81 (0.75; 0.91)	0.89 (0.85; 0.95)	0.91 (0.86; 0.97)	0.00001	0.00001
SqTs index	1.21 (1.18; 1.28)	1.24 (1.18; 1.30)	1.19 (1.13; 1.24) ^a	1.26 (1.18; 1.34)	1.14 (1.09; 1.20) ^b	1.22 (1.16; 1.28)	1.13 (1.05; 1.25)	1.17 (1.12; 1.22)	0.0011	0.0241

Values of two indices of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN), squatting sympathetic index (SqTs) and squatting vagal index (SqTv), derived from changes in HR during and after squatting, respectively, are given for the various subgroups. Results are expressed as medians (25%; 75% interquartiles). Non-parametric one-way ANOVA. NS, non significant. Mann–Whitney *U* test for D vs. ND: ^a*P* < 0.05 and ^b*P* < 0.01.

subjects in G2 (*P* = 0.0193), G3 (*P* = 0.0022) and G4 (*P* = 0.0647; Table 2).

Changes in PP with age according to sex

In general, the aforementioned changes associated with squatting in HR, PP and PP × HR product, as well as SqTv and SqTs, were not significantly different between men and women in any subgroup of either non-diabetic or diabetic individuals (data not shown).

However, the correlation of overall PP with age showed some important sex-related differences. Indeed, the correlations were similar in diabetic (*r* = 0.2188; *P* = 0.0512) and non-diabetic men (*r* = 0.1833; *P* = 0.1036). In contrast, in the female population, the correlation between PP and age was only observed in the presence of Type 1 diabetes and was highly significant (*r* = 0.4151; *P* = 0.0001), but was not observed in the absence of diabetes (*r* = 0.0763; *P* = 0.5009). The correlations between squatting-induced changes in PP and age were not significant in healthy men (*r* = 0.1742; *P* = 0.1222) or women (*r* = 0.1170; *P* = 0.3014), but were significant in diabetic patients, both in males (*r* = 0.2518; *P* = 0.0242) and to an even greater extent in females (*r* = 0.3724; *P* = 0.0007).

Discussion

The main findings of the present study are: (1) higher HR, PP and PP × HR product after the age of 30 years in patients with Type 1 diabetes and poor glycaemic control compared with non-diabetic subjects; (2) higher overall PP levels and greater squatting-induced PP increases in patients with diabetes than in non-diabetic control subjects when adjusting for HR and age effect on PP using a multivariate regression analysis; (3) a greater difference between diabetic and non-diabetic women than between diabetic and non-diabetic men in the correlation between PP and age; and (4) altered parasympathetic and sympathetic indices measured during squatting with increasing age in patients with poorly controlled Type 1 diabetes.

The earlier and greater PP increase observed in patients with Type 1 diabetes compared with control subjects in the age range 20–60 years is in agreement with previous studies from our group [8,9] and with the observational data from the large cross-sectional, case–control FinnDiane study [4]. Since PP is considered an indirect marker of arterial stiffness [2,3], these PP results are in agreement with accelerated vascular ageing in the population with Type 1 diabetes [1], especially when patients also have poor glycaemic control [24,25]. This earlier and greater PP increase is probably clinically relevant. Indeed, in the EURODIAB Prospective Complications Study, a 12 mmHg higher PP was observed in the patients with Type 1 diabetes who died than those who survived, and PP was significantly associated with all-cause mortality [6]. These data confirm similar observations reported from a population with Type 2 diabetes [7].

The incidence of CAN increases with diabetes duration [12] and also exposes patients with diabetes to an increased mortality

risk [26]. When evaluating HR variations during and after squatting, we showed that the two indices reflecting parasympathetic (SqTv) and sympathetic activity (SqTs) [16,17] were significantly affected by age. There may be correlations between PP and CAN, as previously shown and discussed by our group [8]. Increased systolic BP was identified as a factor associated with an increased risk of developing CAN in the cohort of patients with Type 1 diabetes of the EURODIAB Prospective Complications study [27].

Heart rate is known to influence PP directly, with a reduction in HR leading to higher stroke volume and a prolonged diastolic period increasing PP, and vice versa [10,11]. Therefore, the higher HR in the initial standing position and the progressive loss of reduction in HR during squatting seen in patients with long-standing diabetes may contribute to diminishing the increase in PP due to arterial stiffness and thus to underestimation of the impact of diabetes on the arterial wall [24]. A way to integrate these two opposing factors is to calculate the $PP \times HR$ product [22,23]. This is in line with the more classical $systolic\ BP \times HR$ double product, used as a surrogate measure of cardiac workload and myocardial oxygen demand [28]. Our results showed a progressive increase in $PP \times HR$ according to age, in both non-diabetic subjects and diabetic patients. However, the more marked increase in patients with Type 1 diabetes may be associated with a higher CVD risk [22].

The influence of age on stiffening of the arterial wall appears to be more marked in women with Type 1 diabetes than in men [4,29]. We previously reported that the amplification of PP increase with squatting according to diabetes duration was more pronounced in women than in men with diabetes [9]. In the present study, the correlation between overall PP and age was much stronger in diabetic than in non-diabetic women, whereas this correlation was similar in men with diabetes and male healthy subjects. The correlation between squatting-induced PP rise and age was also stronger in diabetic women than in men with diabetes. This may be of importance in explaining the increased susceptibility to CVD in women with diabetes [9,29]. Plasma free fatty acids were recently shown to be associated with PP in women with Type 1 diabetes, but not in men with Type 1 diabetes, and their effect appeared to vary by abdominal adiposity, particularly subcutaneous adipose tissue [30]. All of these findings may help to explain the loss of the sex difference in CVD in Type 1 diabetes.

There are some limitations of our study. Firstly, the finger is an unusual site to measure PP. For example, the brachial site was used in the FinnDiane study [4]. Several studies have demonstrated that absolute brachial and finger PP measurements are not identical, with larger differences in systolic BP at the finger site. However, the differences were generally small compared with the magnitude of the responses during dynamic tests and therefore not considered of clinical relevance [31,32]. Secondly, because of the amplification of the PP between central (aorta) and peripheral arteries, PP measured at the finger site may not reflect central BP. For instance,

peripheral PP does not provide an accurate assessment of changes in central haemodynamics in relation to acute changes in HR in healthy subjects [21]. This may be an important issue because central BP is more closely related to organ damage than peripheral BP. However, in a study evaluating the accuracy of continuous BP measurement at the finger site, similar changes in BP and PP were observed compared with intra-aortic pressure measured in healthy subjects, both at rest and during low-to-moderate levels of exercise-induced stress [33]. Diabetes has been shown to be an independent risk factor for higher central-to-peripheral PP ratio in patients with Type 2 diabetes, and this difference may be associated with a higher CVD risk in this population [34]. In patients with Type 1 diabetes, relatively higher PP value at the central site for a given PP level at the periphery was observed compared with healthy control subjects, and this phenomenon increased according to duration of the disease [35]. Thus, the differences observed between patients with Type 1 diabetes and healthy control subjects in the present study where PP was recorded at the finger site would have been even greater if central (rather than peripheral) BP had been measured. Thirdly, $PP \times HR$ product is a relatively complex parameter, since PP reflects not only total distensibility of the arterial tree, but also stroke volume output of the heart [10], and HR is under the control of complex neural and hormonal regulation. However, this product, known as 'pulsatile stress' [23], has been proposed as an independent marker of CVD, in a similar manner to the more classical $systolic\ BP \times HR$ double product [21,26], and was recently shown to be correlated with (micro)albuminuria [23]. The reproducibility and prognostic value of $PP \times HR$ product, especially in relation to the squatting test, deserve further investigation. Fourthly, glucose control of patients with Type 1 diabetes evaluated in the present study was far from optimal, despite intensified insulin therapy. Therefore, these results may not necessarily be extrapolated to patients with near normoglycaemia for many years [24]. In the FinnDiane study, the ambient level of glycaemic control was not associated with increased PP, but the time of exposure to hyperglycaemia appeared to play a fundamental role in the process of premature arterial stiffening in patients with Type 1 diabetes [4].

Conclusion

The original squatting test with continuous monitoring of BP and HR allows simultaneous assessment of PP, as an indirect measure of arterial stiffness, and HR changes, as a marker of CAN. Type 1 diabetes was associated with a progressive increase in PP in the 20–60 year age range, where no significant influence of ageing was observed in a non-diabetic population. When taking into account the relative tachycardia seen in patients with diabetes, the differences in $PP \times HR$ product 'pulsatile stress' were even more impressive between diabetic and non-diabetic individuals. The combination of both haemodynamic and autonomic disturbances may explain the higher CVD risk and the increased total mortality of patients with Type 1 diabetes and long-standing poor glucose control.

Competing interests

Nothing to declare.

Acknowledgements

The study was supported by an unrestricted grant from NovoNordisk Belgium.

References

- Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003; **21**: 2005–2007.
- Amar J, Chamontin B. Cardiovascular risk factors, atherosclerosis and pulse pressure. *Adv Cardiol* 2007; **44**: 212–222.
- Mokhtari A, Bellineto-Ford L, Melander O, Nilsson PM. Determinants of increasing pulse pressure during 23 years' follow-up as a marker of arterial stiffness and vascular ageing. *Blood Press* 2008; **17**: 291–297.
- Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Reunanen A, Groop PH, for the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study Group. Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 2004; **110**: 1076–1082.
- Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD, for the EURODIAB Prospective Complications Study Group. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003; **21**: 2035–2044.
- Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH, for the EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe. The EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008; **31**: 1360–1366.
- Schram MT, Kostense PJ, van Dijk RA, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM *et al.* Diabetes, pulse pressure and cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *J Hypertens* 2002; **20**: 1743–1751.
- Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2009; **25**: 442–451.
- Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008; **31**: 322–324.
- Alfie J, Waisman GD, Galarza CR, Camera MI. Contribution of stroke volume to the change in pulse pressure pattern with age. *Hypertension* 1999; **34**: 808–812.
- Laurent P, Albaladejo P, Blacher J, Rudnicki A, Smulyan H, Safar ME. Heart rate and pulse pressure amplification in hypertensive subjects. *Am J Hypertens* 2003; **16**: 363–370.
- Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; **26**: 1553–1579.
- Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA *et al.* Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004; **43**: 1239–1245.
- Hanson P, Slane PR, Tueckert PA, Clark SV. Squatting revisited: comparison of haemodynamic responses in normal individuals and heart transplantation recipients. *Br Heart J* 1995; **74**: 154–158.
- Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003; **90**: 449–457.
- Marfella R, Giugliano D, Di Maro G, Acampora R, Giunta R, D'Onofrio F. The squatting test: a useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994; **43**: 607–612.
- Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, Di Maro G, Giunta R, Torella R *et al.* Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 1994; **17**: 149–151.
- Nakagawa M, Shinohara T, Anan F, Yufu K, Takahashi N, Okada N *et al.* New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008; **25**: 1309–1315.
- Netten PM, Boots JM, Bredie SJ, den Arend JA, Mol MJ, Thien T *et al.* An automated computerized method using Finapres for measuring cardiovascular reflexes. *Clin Sci* 1992; **83**: 157–163.
- Tahvanainen A, Leskinen M, Koskela J, Ilveskoski E, Nordhausen K, Oja H *et al.* Ageing and cardiovascular responses to head-up tilt in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2009; **207**: 445–451.
- Wilkinson IB, Mohammad NH, Tyrrell S, Hall IR, Webb DJ, Paul VE *et al.* Heart rate dependency of pulse pressure amplification and arterial stiffness. *Am J Hypertens* 2002; **15**: 24–30.
- Thomas F, Bean K, Provost JC, Guize L, Benetos A. Combined effects of heart rate and pulse pressure on cardiovascular mortality according to age. *J Hypertens* 2001; **19**: 863–869.
- Baumann M, Pan CR, Roos M, von Eynatten M, Sollinger D, Lutz J *et al.* Pulsatile stress correlates with (micro-)albuminuria in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010; **23**: 292–298.
- Cameron JD, Cruickshank JK. Glucose, insulin, diabetes and mechanisms of arterial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; **34**: 677–682.
- Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD, for the EURODIAB Prospective Complications Study Group. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005; **46**: 232–237.
- 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; **26**: 1895–1901.
- Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Kempler P, Fuller JH, for the EURODIAB Prospective Complications Study Group. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2005; **48**: 164–171.
- Safar ME. Pulse pressure, heart rate, and drug treatment of hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2004; **6**: 190–194.
- Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, Sonesson B, Länne T. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabetic Med* 1999; **16**: 291–297.
- Conway B, Evans RW, Fried L, Kesley S, Edmundowicz D, Orchard TJ. Free fatty acids are associated with pulse pressure in women, but not men, with type 1 diabetes mellitus. *Metabolism* 2009; **58**: 1215–1221.
- Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998; **38**: 605–616.
- Steinback CD, O'Leary DD, Wang SS, Shoemaker JK. Peripheral pulse pressure responses to postural stress do not reflect those at the carotid artery. *Clin Physiol Funct Imaging* 2004; **24**: 40–45.
- Eckert S, Horstkotte D. Comparison of Portapres non-invasive blood pressure measurement in the finger with intra-aortic pressure measurement during incremental bicycle exercise. *Blood Press Monit* 2002; **7**: 179–183.

- 34 McEniery CM, Yasmin, McDonnell B, Munnery M, Wallace SM, Rowe CV *et al.* Central pressure: variability and impact of cardiovascular risk factors: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial II. *Hypertension* 2008; **51**: 1476–1482.
- 35 Sommerfield AJ, Wilkinson IB, Webb DJ, Frier BM. Vessel wall stiffness in type 1 diabetes and the central hemodynamic effects of acute hypoglycemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; **293**: E1274–E1279.

Pulsatile Stress in Middle-Aged Patients With Type 1 or Type 2 Diabetes Compared With Nondiabetic Control Subjects

JEAN-CHRISTOPHE PHILIPS, MD
MONIQUE MARCHAND
ANDRÉ J. SCHEEN, MD, PHD

OBJECTIVE — Arterial pulse pressure is considered to be an independent cardiovascular risk factor. We compared pulse pressure during an active orthostatic test in middle-aged patients with type 1 diabetes and with type 2 diabetes and corresponding nondiabetic control subjects.

RESEARCH DESIGN AND METHODS — Forty patients with type 1 diabetes (mean age 50 years, diabetes duration 23 years, and BMI 23.0 kg/m²) were compared with 40 nonhypertensive patients with type 2 diabetes (respectively, 50 years, 8 years, and 29.7 kg/m²). Patients taking antihypertensive agents or with renal insufficiency were excluded. All patients were evaluated with a continuous noninvasive arterial blood pressure monitoring (Finapres) in standing (1 min), squatting (1 min), and again standing position (1 min). Patients with type 1 or type 2 diabetes were compared with two groups of 40 age-, sex- and BMI-matched healthy subjects.

RESULTS — Patients with type 1 diabetes and patients with type 2 diabetes showed significantly higher pulse pressure, heart rate, and double product of pulse pressure and heart rate (PP×HR) (type 1: 5,263 vs. 4,121 mmHg/min, $P = 0.0004$; type 2: 5,359 vs. 4,321 mmHg, $P = 0.0023$) levels than corresponding control subjects. There were no significant differences between patients with type 1 diabetes and type 2 diabetes regarding pulse pressure (59 vs. 58 mmHg), heart rate (89 vs. 88/min), and PP×HR (5,263 vs. 5,359 mmHg/min).

CONCLUSIONS — Patients with type 1 diabetes have increased levels of peripheral PP, an indirect marker of arterial stiffness, and PP×HR, an index of pulsatile stress, comparable to those of nonhypertensive patients with type 2 diabetes at similar mean age of 50 years.

Diabetes Care 33:2424–2429, 2010

Arterial pulse pressure, a surrogate marker of large artery stiffness, was shown to be an independent cardiovascular disease (CVD) risk factor in several large longitudinal studies in patients with type 2 diabetes (1,2). In patients with type 1 diabetes of the Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) study (3), higher systolic blood pressure and an earlier decrease in diastolic blood pressure resulted in a higher and more rapidly increasing pulse pressure compared with those in nondiabetic control subjects. In the EURODIAB study (4,5), pulse pressure was also an independent risk factor for CVD and total mortality in patients with type 1 patients.

Middle-aged patients with type 1 diabetes are characterized by a long duration of the disease and therefore sustained exposure to chronic hyperglycemia, leading to accelerated progression of arterial stiffness and increased pulse pressure (6). In contrast, middle-aged patients with type 2 diabetes have a much shorter duration of diabetes but have other CVD risk factors such as abdominal obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome, which could accelerate arterial stiffness (1,2). To our knowledge, no study has compared pulse pressure in patients with type 1 diabetes and in patients with type 2 diabetes at similar age. The primary aim of

the present study was to investigate pulsatile stress in patients with type 1 diabetes and patients with type 2 diabetes at a similar mean age of 50 years. Each group of diabetic patients was compared with a group of nondiabetic control subjects, matched for age, sex, and BMI. Blood pressure and pulse pressure were monitored during an active postural test, the so-called squatting test, which has been shown by our group to amplify the pulse pressure increase according to diabetes duration in patients with type 1 diabetes (7,8).

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Forty patients (20 men and 20 women) with type 1 diabetes and 40 patients (20 men and 20 women) with type 2 diabetes were recruited among the patients followed in our department. Patients with arterial hypertension, renal insufficiency, or CVD or taking medications interfering with vascular reactivity (including any type of antihypertensive agents) were excluded from the study. All patients with type 1 diabetes received intensified insulin therapy with multiple daily insulin injections ($n = 36$) or continuous subcutaneous insulin infusion via a portable pump ($n = 4$). Patients with type 2 diabetes received various types of oral glucose-lowering therapies (metformin alone, sulfonylurea alone, or metformin-sulfonylurea combination) ($n = 25$) or insulin alone ($n = 5$) or combined with metformin ($n = 10$). Two groups of healthy subjects were used as control subjects and matched for BMI with either type 1 diabetic patients or type 2 diabetic patients (Table 1). The study was accepted by the ethics committee of our institution.

Orthostatic test

The squatting test (successively 1 min standing, 1 min squatting, and 1 min standing) is an original active orthostatic maneuver that leads to the most important and fast variations of the hydrostatic level with posture (9). Squatting produces a prompt increase in cardiac output and arterial blood pressure, essentially attributed to augmented venous return from compression of leg veins. These changes result in a significant increase in mean ar-

From the University of Liège, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, Centre Hospitalier Universitaire Sart Tilman, Liège, Belgium.

Corresponding author: André J. Scheen, andre.scheen@chu.ulg.ac.be.

Received 16 February 2010 and accepted 24 July 2010. Published ahead of print at <http://care.diabetesjournals.org> on 6 August 2010. DOI: 10.2337/dc10-0302.

© 2010 by the American Diabetes Association. Readers may use this article as long as the work is properly cited, the use is educational and not for profit, and the work is not altered. See <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/> for details.

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Table 1—Characteristics of middle-aged diabetic patients with type 1 diabetes, patients with type 2 diabetes, nondiabetic lean control subjects, and nondiabetic overweight/obese control subjects and average values recorded during the whole 3-min squatting test

	T1DM	LC	T2DM	OC	P value	
					T1DM vs. LC	T2DM vs. OC
n (men/women)	20/20	20/20	20/20	20/20		
Age (years)	50 ± 6	50 ± 6	50 ± 6	50 ± 6	0.8888	0.8971
Diabetes duration (years)	23 ± 11	—	8 ± 7	—	NA	NA
BMI (kg/m ²)	23.0 ± 2.0	22.2 ± 1.6	29.7 ± 3.7	28.6 ± 2.7	0.0642	0.1288
A1C (%)	8.4 ± 1.3	—	7.8 ± 1.6	—	NA	NA
Mean blood pressure (mmHg)	84 ± 13	85 ± 12	88 ± 13	86 ± 12	0.9719	0.5991
SBP (mmHg)	126 ± 21	120 ± 21	128 ± 20	122 ± 18	0.1649	0.1087
DBP (mmHg)	66 ± 11	68 ± 10	70 ± 13	70 ± 10	0.6195	0.1662
Pulse pressure (mmHg)	59 ± 13	52 ± 15	58 ± 16	52 ± 13	0.0160	0.0451
Pulse pressure-to-MBP ratio	0.703 ± 0.121	0.610 ± 0.139	0.677 ± 0.245	0.603 ± 0.152	0.0020	0.1082
Heart rate (bpm)	88 ± 13	80 ± 9	91 ± 10	84 ± 13	0.0029	0.0029
PP×HR product (mmHg · min ⁻¹)	5,263 ± 1,563	4,121 ± 1,120	5,359 ± 1,641	4,321 ± 1,277	0.0004	0.0023
SBP×HR product (mmHg · min ⁻¹)	11,120 ± 2,947	9,593 ± 1,771	12,082 ± 2,521	10,195 ± 2,291	0.0039	0.0008

Data are means ± SD. LC, nondiabetic lean control subjects; NA, not applicable; OC, nondiabetic overweight/obese control subjects; T1DM, patients with type 1 diabetes, T2DM, patients with type 2 diabetes.

terial blood pressure and pulse pressure (7,8), which is accompanied by an immediate decrease in heart rate and forearm vascular resistance, probably due to activation of cardiopulmonary and arterial baroreflexes, implicating the autonomic nervous system. Later on, the active transition from squatting to standing results in a profound initial blood pressure decrease inducing a reflex tachycardia, which can be used to detect diabetic cardiac autonomic neuropathy (CAN) (10,11) and assess baroreflex sensitivity (12).

Measurements

Changes in systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and heart rate were measured continuously with a Finapres instrument (Ohmeda) that allows careful study of cardiovascular reflexes, especially during an orthostatic maneuver (13). The Finapres is based on servoplethysmomanometry, using the volume clamp technique at the finger level. A good concordance was reported between Finapres blood pressure measurements and direct intra-arterial measurements (13). Pulse pressure, i.e., SBP minus DBP, was automatically calculated throughout the test. Mean arterial blood pressure (MBP) was calculated by the formula $(SBP + 2 \times DBP)/3$. To quantify the relative magnitude of the pulsatile to mean artery pressure (“pulsatility index”), we normalized the pulse pressure to the MBP and referred to this value as fractional pulse pressure (14). “Pulsatile stress” was defined as the double product of pulse pressure and

heart rate (PP×HR); it has been shown to be largely regulated by arterial stiffness and by sympathetic nerve activity and to be associated with a higher risk of (micro)albuminuria (15). We also calculated the SBP×HR double product, an index of cardiac load that has been shown to be associated with an increased CVD risk (16). For each variable or parameter, mean levels were calculated for each subject during the whole period of the test, during the initial standing position, and during the squatting position, after exclusion of the initial transition phase, as described previously (7,8).

During the transition from squatting to standing, there is an abrupt drop in blood pressure associated with a reflex tachycardia, which is followed by a rapid return to baseline values of both parameters (blood pressure increase and heart rate decrease). The mirror changes in heart rate and SBP allow the calculation of a baroreflex gain by plotting the pulse intervals (R-R) against SBP values, and the slope of this relation represents the baroreflex sensitivity (17). We also calculated both a vagal index (ratio between the baseline cardiac R-R interval and the longest R-R interval in the first 15 s of squatting [SqT_v]) and a sympathetic index (ratio between the baseline cardiac R-R interval and the shortest R-R interval in the first 10–20 s of standing after squatting [SqT_s]), as described previously (10,11). These indexes, based on heart rate reduction during squatting and reflex tachycardia during standing, were considered as markers of CAN: a higher SqT_v value indicates a parasympathetic neuropathy, whereas a

lower SqT_s is an indicator of sympathetic neuropathy (10–12).

Concomitant A1C levels (normal values 4–6%) were measured to assess recent blood glucose control in diabetic patients; for each patient, the corresponding A1C mean level corresponded to the average of one to three measurements. Lipid profiles were also collected in diabetic patients and the prevalence of the metabolic syndrome (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria) was calculated in patients with type 1 diabetes and in patients with type 2 diabetes.

Statistical analysis

The required sample size to have an 80% chance of detecting as significant (at the two-sided 5% level) 10 mmHg difference in pulse pressure between two different subgroups, with an assumed SD of pulse pressure of 14 mmHg, was 32 individuals. A difference of 10 mmHg was chosen as clinically significant because it has been shown to be associated with increased cardiovascular mortality in type 2 diabetes (1) and total mortality in the large EURODIAB cohort of patients with type 1 diabetes (5). Between-group differences were analyzed using unpaired *t* tests. The relationship between two variables, i.e., between pulsatile stress and baroreflex gain as a marker of CAN, was assessed with the Spearman correlation coefficient. Results are expressed as mean ± SD values for all continuous variables. *P* < 0.05 was considered significant.

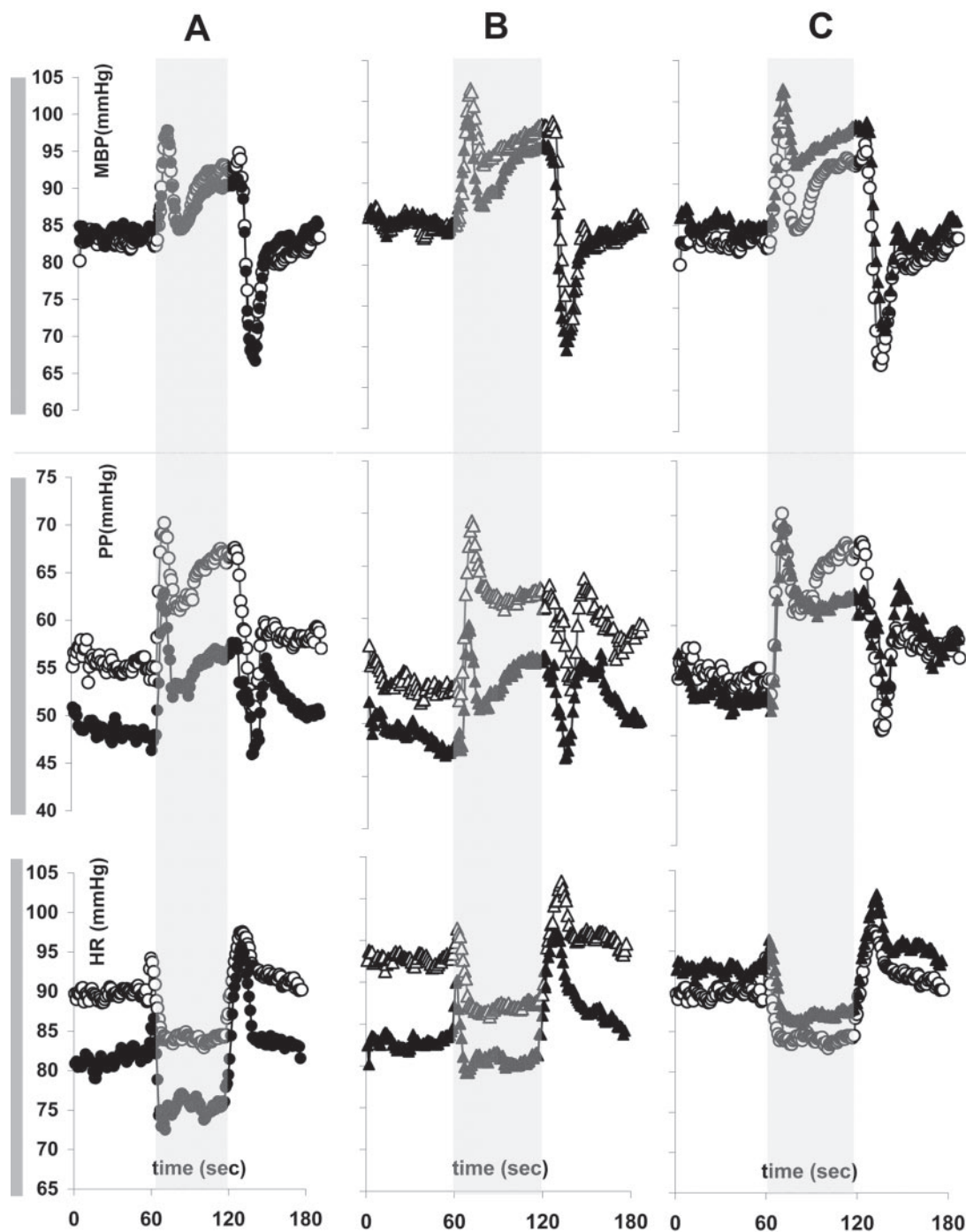


Figure 1—Changes in MBP, pulse pressure (PP), and heart rate (HR) during a posture test (1 min standing, 1 min squatting [gray zone], 1 min standing). A: 40 patients with type 1 diabetes (○) versus 40 nondiabetic (●) subjects, matched for age, sex, and BMI. B: 40 patients with type 2 diabetes (△) versus 40 nondiabetic (▲) subjects matched for age, sex, and BMI. C: 40 patients with type 1 diabetes (○) versus 40 patients with type 2 diabetes (△) subjects, matched for age and sex.

RESULTS

Patients with type 1 diabetes versus nondiabetic lean subjects

Compared with control subjects, patients with type 1 diabetes had similar MBP but were characterized throughout the test by significantly higher pulse pressure, heart

rate, pulse pressure/MBP, $PP \times HR$, and $SBP \times HR$ levels (Fig. 1A, Table 1). When squatting was compared with the initial standing position, a trend for higher increases in pulse pressure, PP/MBP , and $PP \times HR$ was observed in patients with type 1 diabetes than in control subjects, with a significantly higher increase in

$SBP \times HR$ (Table 2). The baroreflex gain calculated during the transition from squatting to standing was markedly decreased in patients with type 1 diabetes compared with that in control subjects. $SqTv$ and $SqTs$ indexes were also significantly different in patients with type 1 diabetes compared with those in lean

Table 2—Changes occurring during the transition from the initial standing position to the squatting position in middle-aged diabetic patients with type 1 diabetes, patients with type 2 diabetes, nondiabetic lean control subjects, and nondiabetic overweight/obese control subjects

	T1DM	LC	T2DM	OC	P value	
					T1DM vs. LC	T2DM vs. OC
N	40	40	40	40		
Δ MBP (mmHg)	8 ± 7	5 ± 4	10 ± 9	7 ± 8	0.0185	0.0875
Δ SBP (mmHg)	13 ± 11	8 ± 7	14 ± 14	9 ± 11	0.0101	0.0754
Δ DBP (mmHg)	3 ± 5	1 ± 4	6 ± 7	3 ± 7	0.0141	0.1391
Δ Pulse pressure (mmHg)	10 ± 8	7 ± 6	8 ± 11	6 ± 7	0.0705	0.1662
Δ Pulse pressure-to-MBP ratio	0.127 ± 0.110	0.087 ± 0.074	0.095 ± 0.133	0.065 ± 0.082	0.0593	0.2371
Δ Heart rate (/min)	-6 ± 7	-6 ± 6	-6 ± 7	-2 ± 7	0.7449	0.0123
Δ PP×HR product (mmHg · min ⁻¹)	557 ± 935	276 ± 532	449 ± 942	404 ± 743	0.1029	0.8132
Δ SBP×HR product (mmHg · min ⁻¹)	1,136 ± 1,270	601 ± 698	1,236 ± 1,440	963 ± 1,178	0.0227	0.3611
Baroreflex gain (mmHg · min ⁻¹)	2.20 ± 1.73	4.11 ± 2.26	2.05 ± 1.31	2.97 ± 2.18	0.0002	0.0351
SqTv index	0.88 ± 0.08	0.81 ± 0.13	0.90 ± 0.07	0.89 ± 0.09	0.0059	0.7553
SqTs index	1.13 ± 0.09	1.20 ± 0.11	1.13 ± 0.07	1.21 ± 0.10	0.0046	0.0004

Data are means ± SD. Mean values of baroreflex gain as well as SqTv and SqTs indices of cardiac autonomic neuropathy are also presented for the four groups. There were 20 men and 20 women in each group. LC, nondiabetic lean control subjects; OC, nondiabetic overweight/obese control subjects; T1DM, patients with type 1 diabetes; T2DM, patients with type 2 diabetes.

control subjects (Table 2). There was a significant inverse correlation between pulsatile stress (PP×HR) and baroreflex gain in patients with type 1 diabetes ($r = -0.383$; $P = 0.023$) but not in lean control subjects ($r = -0.178$; NS).

Patients with type 2 diabetes versus nondiabetic overweight/obese patients

Compared with overweight/obese nondiabetic control subjects, patients with type 2 diabetes had similar MBP (hypertension was considered as an exclusion criterion in the present study). However, they showed higher pulse pressure, heart rate, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR levels throughout the test (Fig. 1B, Table 1). Increases in pulse pressure, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR when moving from standing to squatting were not significantly different in patients with type 2 diabetes and in overweight/obese nondiabetic control subjects (Table 2). The baroreflex gain was significantly decreased in patients with type 2 diabetes compared with that in control subjects. The SqTs index (reflecting postsquatting tachycardia) but not the SqTv index (a marker of bradycardia during squatting) was significantly lower in patients with type 2 diabetes than in overweight/obese nondiabetic control subjects (Table 2). There was a highly significant inverse correlation between pulsatile stress and baroreflex gain in patients with type 2 diabetes ($r = -0.719$; $P = 0.0001$) but not

in overweight/obese control subjects ($r = -0.272$; NS). No significant differences in pulsatile markers and CAN indexes were noticed between the patients with type 2 diabetes treated with insulin and those not treated with insulin.

Patients with type 1 diabetes versus patients with type 2 diabetes

On average, MBP, pulse pressure, heart rate, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR levels were comparable in middle-aged patients with type 1 and type 2 diabetes (Fig. 1C, Table 1). The transition from standing to squatting resulted in similar increases in MBP, pulse pressure, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR in the two groups of diabetic patients (Table 2). Careful analysis of the two pulse pressure curves showed different kinetics in pulse pressure increases, with a second phase increase in pulse pressure in patients with type 1 diabetes that was not observed in patients with type 2 diabetes; however, the between-group difference during the second part of squatting did not reach statistical significance (Fig. 1C). The baroreflex gain was similar in patients with type 1 and type 2 diabetes. Accordingly, SqTv and SqTs indexes were not significantly different between the two diabetic groups (Table 2). Patients with type 1 diabetes had a much longer known disease duration (23 vs. 8 years; $P < 0.0001$) but a much lower prevalence of metabolic syndrome (3% vs. 42%; $P < 0.01$) than patients with type 2 diabetes.

Overweight/obese versus lean subjects without diabetes

On average, MBP, pulse pressure, heart rate, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR levels were comparable in obese and lean nondiabetic individuals in the present study (Table 1). The postural change from standing to squatting resulted in similar increases in MBP, pulse pressure, pulse pressure-to-MBP ratio, and PP×HR in overweight/obese and lean subjects, with only a trend for a higher increase in SBP×HR ($+963 \pm 1,178$ vs. $+601 \pm 698$ mmHg · min⁻¹; $P = 0.0991$) in presence of obesity (Table 2). The baroreflex gain was significantly lower in overweight/obese subjects than in lean individuals (2.97 ± 2.18 vs. 4.11 ± 2.26 mmHg · min⁻¹; $P = 0.0332$), even in absence of diabetes. The SqTv index was higher in obese subjects than in lean control subjects ($P = 0.0011$), whereas the SqTs index was almost similar in the two nondiabetic groups (Table 2).

CONCLUSIONS— The main findings of the present study are 1) higher pulse pressure, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR levels in middle-aged patients with type 1 diabetes compared with those in lean control subjects, in agreement with higher pulsatile stress and cardiac workload in patients with long-standing type 1 diabetes, 2) similarly, higher pulse pressure, pulse pressure-to-MBP ratio, PP×HR, and SBP×HR levels in middle-aged nonhy-

pertensive patients with type 2 diabetes compared with those in overweight/obese nondiabetic control subjects, 3) the absence of significant differences in pulse pressure, pulsatile index, pulsatile stress, and double product between patients with type 1 diabetes and with type 2 diabetes matched for age (50 years on average); and 4) indexes of CAN as shown by lower baroreflex gain and altered SqT indexes during squatting in both patients with type 1 diabetes and type 2 diabetes compared with those in nondiabetic control subjects. Therefore, middle-aged patients with type 1 diabetes or with type 2 diabetes are exposed to comparable pulsatile stress, a known cardiovascular and renal risk marker (1–5,15,16). In patients with type 1 diabetes, the negative influence of a much longer diabetes duration (23 years on average in the present study) might be at least partially compensated for by the positive influence of lower BMI, less insulin resistance, and a much lower prevalence of metabolic syndrome compared with those for patients with type 2 diabetes. On the contrary, middle-aged patients with type 2 diabetes are exposed to high pulsatile stress despite a shorter known duration of diabetes (8 years on average in our population), presumably because of the presence of other concomitant cardiovascular risk factors (even if hypertension were excluded in the present study), as shown by a much higher prevalence of metabolic syndrome compared with that for patients with type 1 diabetes.

The observation of higher pulse pressure levels in patients with type 1 diabetes compared with control subjects in the age range 40–60 years is in agreement with previous studies from our group, demonstrating an earlier pulse pressure increase with age in this population (7,8) and with the observational data of the large cross-sectional, case-control FinnDiane study (3). Because pulse pressure is considered an indirect marker of arterial stiffness, these higher pulse pressure results are in agreement with accelerated vascular aging in the population with type 1 diabetes (6), especially patients with chronic poor glucose control (18). In the FinnDiane study, the ambient level of glucose was not associated with increased pulse pressure, but the time of exposure to hyperglycemia seemed to play a fundamental role in the process of premature arterial stiffening in patients with type 1 diabetes (3). In the EURODIAB Prospective Complications Study, pulse pressure was sig-

nificantly associated with all-cause mortality and a mean 12 mmHg higher pulse pressure was observed in patients with type 1 diabetes who died compared with that of those who survived (5).

Decreased baroreflex gain was observed in our patients with type 1 diabetes, reflecting the presence of CAN after >20 years of diabetes (19). This result was confirmed by altered SqTs and SqTv indexes during the squatting test, markers of parasympathetic and sympathetic dysfunction, respectively (10). CAN exposes diabetic patients to an increased mortality risk (19). There may be some connection between pulse pressure and CAN (8), between aortic stiffness and CAN (20), and between arterial stiffness, cardiovascular baroreflex sensitivity, and postural blood pressure changes (21). Increased SBP was identified as a factor associated with an increased risk of developing CAN in the cohort of patients with type 1 diabetes of the EURODIAB Prospective Complications study (22). The pathophysiological mechanism linking CAN to arterial stiffness in patients with type 1 diabetes remains unknown, but this association persisted after adjustment for potential confounders such as baseline A1C, HDL cholesterol, and smoking history (23). In the present study, we found a significant relationship between pulsatile stress and baroreflex gain as a marker of CAN in patients with type 1 diabetes. In patients with type 2 diabetes, markers of CAN are also present (11), although less marked than in patients with prolonged type 1 diabetes (7). The relationship between pulse pressure and CAN is less well known in patients with type 2 diabetes even if associations between autonomic neuropathy, vascular dysfunction, and hyperinsulinemia have been demonstrated (24). Interestingly, a remarkable significant inverse correlation was noted between pulsatile stress and baroreflex gain in the group of patients with type 2 diabetes in our study. Several mechanisms may underlie the association between arterial stiffness and impaired cardiovascular baroreflex sensitivity. The stiffness of the carotid arteries and the aorta, where the arterial baroreceptors are located, may affect the stretch-sensitive receptors and hence baroreflex sensitivity. In addition to structural vascular changes, functional mechanisms associated with endothelial dysfunction may also contribute to the impairment of baroreflex sensitivity associated with arterial stiffness (21).

Patients with type 2 diabetes also showed increased pulse pressure, pulsatility index, and pulsatile stress compared with those for overweight/obese nondiabetic individuals matched for BMI, age, and sex. This result was observed despite the absence of hypertension and a much shorter duration of diabetes compared with those in the population with type 1 diabetes analyzed in the present study. It is well known, however, that type 2 diabetes remains silent during an average of 10 years before diagnosis and initiation of treatment in most cases. Thus, selected patients may have a longer duration of type 2 diabetes than the average 8-year known duration noted in the present population. To avoid the potential bias of hypertension and the interferences of antihypertensive agents, we deliberately selected type 2 diabetic patients without hypertension. Despite normal MBP, middle-aged patients with type 2 diabetes had higher pulse pressure and pulsatile stress and higher SBP×HR, two CVD risk markers (16). Increased pulse pressure levels have been repeatedly demonstrated in large longitudinal studies in patients with type 2 diabetes and shown to be associated with a higher incidence of cardiovascular events (1,2).

Some limitations of the present study should be discussed. Several studies have demonstrated that absolute brachial and finger pulse pressure measurements are not identical with larger differences in SBP. However, the differences were generally small and not considered of clinical relevance (13). Furthermore, some studies have shown a good concordance between periphery (finger, as in the present study) and central (aortic, now recognized as the most important risk factor) blood pressure measurements (25). Nevertheless, pulse pressure measured at the finger site may not necessarily reflect central pulse pressure because of the amplification phenomenon. Second, glucose control of patients with type 1 diabetes evaluated in the present study was far from optimal, despite intensified insulin therapy. Therefore, our results could not necessarily be extrapolated to patients with near normoglycemia for many years because chronic hyperglycemia seems to play a major role in accelerating arterial stiffness (18). Third, patients with type 2 diabetes selected in the present study did not have hypertension. Therefore, the similar results in markers of pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 and type 2 diabetes should be interpreted in this context. We cannot exclude the

possibility that overweight/obese patients with type 2 diabetes and hypertension may be exposed to higher vascular stress than lean normotensive patients with type 1 diabetes at the same age. This would certainly be the case for SBP×HR but may also be true for the various pulsatility markers. Fourth, very few patients had positive microalbuminuria in the two diabetic cohorts analyzed in the present study, because we excluded patients with hypertension or those taking antihypertensive agents. Therefore, we were not in a position to study the possible relationship between pulsatile stress and early renal alterations as shown in previous studies (15).

In summary, middle-aged patients with a long duration of type 1 diabetes have similarly increased pulsatile stress compared with age-matched patients with type 2 diabetes characterized by a shorter duration of the disease, but the presence of other vascular risk factors such as obesity and insulin resistance and no hypertension. In addition, both diabetic groups have markers of CAN with a reduced baroreflex gain compared with nondiabetic control subjects. The combination of these risk factors may contribute to increase the CVD risk in type 1 diabetic patients with a long exposure to chronic hyperglycemia in a fashion similar to that of patients with type 2 diabetes whose high CVD risk is well known.

Acknowledgments—This work was supported by an unrestricted research grant from Novo Nordisk Belgium.

No other potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

J.-C.P. contributed to the concept and design of the study; acquired, analyzed, and interpreted data; outlined the structure of the manuscript; and reviewed/edited the manuscript. M.M. contributed to the concept and design of the study; acquired, analyzed, and interpreted data; outlined the structure of the manuscript; and reviewed/edited the manuscript. A.J.S. contributed to the concept and design of the study, outlined the structure of the manuscript, wrote the manuscript, and reviewed/edited the manuscript.

References

- Schram MT, Kostense PJ, Van Dijk RA, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD. Diabetes, pulse pressure and cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *J Hypertens* 2002;20:1743–1751
- Nilsson PM, Cederholm J, Eeg-Olofsson K, Eliasson B, Zethelius B, Gudbjörnsdóttir S, Swedish National Diabetes Register (NDR). Pulse pressure strongly predicts cardiovascular disease risk in patients with type 2 diabetes from the Swedish National Diabetes Register (NDR). *Diabetes Metab* 2009;35:439–446
- Rönneback M, Fagerudd J, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Reunanen A, Groop PH, Finnish Diabetic Nephropathy (FinnDiane) Study Group. Altered age-related blood pressure in type 1 diabetes. *Circulation* 2004;110:1076–1082
- Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003;21:2035–2044
- Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008;31:1360–1366
- Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003;21:2005–2007
- Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25:442–451
- Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase with disease duration in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:322–324
- Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003;90:449–457
- Marfella R, Giugliano D, di Maro G, Acampora R, Giunta R, D'Onofrio F. The squatting test. A useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994;43:607–612
- Marfella R, Salvatore T, Giugliano D, Di Maro G, Giunta R, Torella R, Juchmes J, Scheen A, Lefebvre PJ. Detection of early sympathetic cardiovascular neuropathy by squatting test in NIDDM. *Diabetes Care* 1994;17:149–151
- Nakagawa M, Shinohara T, Anan F, Yufu K, Takahashi N, Okada N, Hara M, Yoshimatsu H, Saikawa T. New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008;25:1309–1315
- Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998;38:605–616
- Nakayama Y, Ueda H, Tsumura K, Yoshimaru K, Hayashi T. Ascending fractional pulse pressure closely relating to large artery function. *J Hum Hypertens* 2002;16:243–247
- Baumann M, Pan CR, Roos M, von Eynatten M, Sollinger D, Lutz J, Heemann U. Pulsatile stress correlates with (micro-)albuminuria in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23:292–298
- Thomas F, Bean K, Provost JC, Guize L, Benetos A. Combined effects of heart rate and pulse pressure on cardiovascular mortality according to age. *J Hypertens* 2001;19:863–869
- Zhang R, Claassen JA, Shibata S, Kilic S, Martin-Cook K, Diaz-Arrastia R, Levine BD. Arterial-cardiac baroreflex function: insights from repeated squat-stand maneuvers. *Am J Physiol Regul Integr Comput Physiol* 2009;297:R116–R123
- Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005;46:232–237
- Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003;26:1553–1579
- Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, Sonesson B, Länne T. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 1999;16:291–297
- Mattace-Raso FU, van den Meiracker AH, Bos WJ, van der Cammen TJ, Westerhof BE, Elias-Smale S, Reneman JC, Hoeks AP, Hofman A, Witteman RS. Arterial stiffness, cardiovagal baroreflex sensitivity and postural blood pressure changes in older adults: the Rotterdam Study. *J Hypertens* 2007;25:1421–1426
- Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Kempler P, Fuller JH, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2005;48:164–171
- Prince CT, Secrest AM, Mackey RH, Arena VC, Kingsley LA, Orchard TJ. Cardiovascular autonomic neuropathy, HDL cholesterol, and smoking correlate with arterial stiffness markers determined 18 years later in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:652–657
- Meyer C, Milat F, McGrath BP, Cameron J, Kotsopoulos D, Teede HJ. Vascular dysfunction and autonomic neuropathy in type 2 diabetes. *Diabet Med* 2004;21:746–751
- Eckert S, Horstkotte D. Comparison of Portapres non-invasive blood pressure measurement in the finger with intra-aortic pressure measurement during incremental bicycle exercise. *Blood Press Monit* 2002;7:179–183



Original article

Haemodynamic changes during a squat test, pulsatile stress and indices of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with long-duration type 1 diabetes

J.-C. Philips, M. Marchand, A.J. Scheen*

CHU Sart Tilman, University of Liège, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, Department of Medicine, 4000 Liège, Belgium

Received 6 May 2011; received in revised form 26 July 2011; accepted 26 July 2011

Abstract

Aim. – Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) and pulsatile stress are considered to be independent cardiovascular risk factors. This study compared haemodynamic changes during an active orthostatic test in adult patients with type 1 diabetes (T1DM), using low versus high RR E/I ratios as a marker of CAN.

Methods. – A total of 20 T1DM patients with low RR E/I ratios were compared with 20 T1DM patients with normal RR E/I ratios, matched for gender (1/1 ratio), age (mean: 46 years) and diabetes duration (22–26 years); 40 matched healthy subjects served as controls. All subjects were evaluated by continuous monitoring of arterial blood pressure (Finapres®) and heart rate using a standardized posture test (1-min standing, 1-min squatting, 1-min standing), thus allowing calculation of baroreflex gain.

Results. – Compared with controls, T1DM patients showed lower RR E/I ratios, reduced baroreflex gains, higher pulsatile stress (pulse pressure \times heart rate), greater squatting-induced pulse pressure rises, orthostatic hypotension and reduced reflex tachycardia. Compared with T1DM patients with preserved RR E/I ratios, T1DM patients with low RR E/I ratios showed reduced post-standing reflex tachycardia and baroreflex gain, and delayed blood pressure recovery, but no markers of increased pulsatile stress. Interestingly, decreased baroreflex gain was significantly associated with both pulsatile stress and microalbuminuria.

Conclusion. – The use of RR E/I ratios to separate T1DM patients allows the detection of other CAN markers during an orthostatic posture test, but with no significant differences in pulsatile stress or microalbuminuria. In this context, squatting-derived baroreflex gain appears to be more informative.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Baroreflex gain; Cardiac autonomic neuropathy; Pulse pressure; Squatting; Type 1 diabetes

Résumé

Modifications hémodynamiques lors d'un test d'accroupissement, stress pulsatile et indices de neuropathie autonome cardiovasculaire chez des patients diabétiques de type 1 de longue durée d'évolution.

But. – La neuropathie autonome cardiaque (NAC) et le stress pulsatile sont considérés comme des facteurs de risque cardiovasculaire indépendants. Nous avons comparé les modifications hémodynamiques pendant un test actif d'orthostatisme chez des adultes diabétiques de type 1 (DT1) séparés selon la valeur de RR E/I ratio (basse versus élevée) comme marqueur de NAC.

Méthodes. – Vingt patients DT1 avec un ratio E/I abaissé ont été comparés à 20 patients DT1 avec un ratio E/I normal, appariés pour le sexe (1/1 ratio), l'âge (moyenne : 46 années) et la durée du diabète (22–26 années). Quarante sujets sains appariés ont servi de témoins. Tous les sujets ont été évalués par une mesure continue de pression artérielle (Finapres®) et de fréquence cardiaque lors d'un test postural standardisé (une minute debout, une minute accroupi, une minute debout) avec calcul d'un gain baroréflexe.

Résultats. – Comparés aux témoins, les patients DT1 ont un ratio E/I abaissé, un gain baroréflexe diminué, un stress pulsatile (pression pulsée \times fréquence cardiaque) accru, une augmentation plus marquée de pression pulsée en position accroupie, une hypotension orthostatique et une tachycardie réflexe réduite. Comparés aux patients DT1 avec un ratio E/I préservé, les patients DT1 avec un ratio E/I abaissé ont une diminution de la tachycardie réflexe lors du redressement et une réduction du gain baroréflexe, un retard dans la correction de l'hypotension orthostatique,

* Corresponding author.

E-mail address: andre.scheen@chu.ulg.ac.be (A.J. Scheen).

mais pas d'augmentation du stress pulsatile. Il est intéressant de noter que la diminution du gain baroréflexe est significativement associée au stress pulsatile et à la microalbuminurie.

Conclusion. – L'utilisation du rapport RR E/I pour séparer les patients DT1 permet de détecter d'autres marqueurs de NAC durant un test d'orthostatisme, mais sans différences significatives en ce qui concerne le stress pulsatile ou la microalbuminurie. De ce point de vue, le gain baroréflexe calculé lors du passage accroupi–debout apparaît plus discriminant.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Diabète de type 1 ; Gain baroréflexe ; Neuropathie autonome cardiaque ; Pression pulsée ; *Squatting*

1. Introduction

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) is a common complication of diabetes, especially in patients with long-duration type 1 diabetes mellitus (T1DM) [1–4]. Of the initial battery of tests to assess CAN [5], the easiest, most informative and most popular marker in clinical practice is the R-R interval expiration/inspiration (RR E/I) ratio, measured during a deep-breathing test [6]. According to a recent experts' review [4], this index has the highest specificity (80%) in the detection of CAN. In a French population of T1DM patients, the total prevalence of CAN assessed by three standard tests averaged 51%, with 4.8% having severe CAN and 18.2% having moderate CAN [7]. Patients with T1DM are also characterized by accelerated arterial stiffness [8], which results in increased systolic blood pressure (SBP) and pulse pressure (PP) [9]. Both CAN [10] and increased PP [11,12] are considered to be independent risk factors of cardiovascular disease and total mortality in T1DM patients. Furthermore, CAN may be linked to aortic stiffness [13,14], endothelial dysfunction [15] and increased SBP [16] or PP [17] in T1DM patients. Moreover, CAN is known to be associated with a greater risk of orthostatic hypotension [18,19].

The squat test is a posture manoeuvre that can be used to assess orthostatic hypotension [20,21], CAN [17,22,23] and pulsatile stress [17,24] in patients with diabetes. Using this posture test, and continuous monitoring of BP and heart rate (HR), it was recently demonstrated that: the squatting position amplifies PP increases in T1DM patients [24]; PP and the product of $PP \times HR$ (so-called 'pulsatile stress') increase more rapidly with age in T1DM patients than in non-diabetic controls [17,25]; and pulsatile stress in middle-aged T1DM patients is similarly increased as that measured in age-matched patients with type 2 diabetes and the metabolic syndrome [26]. Careful analysis of the accompanying changes in SBP and HR during the squatting–standing transition allows calculation of a baroreflex gain, similar to the barosensitivity index derived from a pharmacological test using a combination of vasodilator/vasopressor agents [17,27].

The aims of the present study were: (1) to investigate haemodynamic changes, pulsatile stress and CAN indices (including baroreflex gain) during a squat test in T1DM patients compared with non-diabetic controls matched for gender, age and body mass index (BMI); (2) to compare the results in T1DM patients separated on the basis of the classical RR E/I ratio (decreased vs maintained) after matching for gender, age, BMI and duration of diabetes; and (3) to compare the relationships between baroreflex gain versus RR E/I ratio, pulsatile stress and microalbuminuria in T1DM patients.

2. Research design and methods

2.1. Patients

From our database, 20 T1DM patients (10 men and 10 women) with the lowest RR E/I ratios evaluated during a classical deep-breathing manoeuvre were selected, and compared with 20 T1DM patients (10 men and 10 women) with the highest RR E/I ratios. All of the patients were matched for age, BMI and duration of diabetes. Those with arterial hypertension, renal insufficiency or cardiovascular disease, or who were taking medications interfering with vascular reactivity (including any type of antihypertensive agents except for renin–angiotensin system blockers taken for microalbuminuria), were excluded from the study. All T1DM patients received intensified insulin therapy, comprising either four daily injections according to a basal–bolus scheme ($n=35$) or continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) using a portable pump ($n=5$). Also, 40 non-diabetic subjects matched for gender (ratio: 1/1), age (25–60 years) and BMI (20–30 kg/m²) served as controls.

The study protocol was accepted by our institution's ethics committee.

2.2. Dynamic tests

Slow deep-breathing (six breaths/min) over 3 min was performed by each subject to evaluate respiration-induced HR variability, which was assessed by measuring the classical RR E/I ratio [5], corresponding to the ratio between the longest R-R interval during the expiration (E) phase and the shortest R-R interval during the inspiration (I) phase. While CAN is classically defined as the presence of several abnormalities arising from a battery of tests [5], the RR E/I ratio is thought to have the greatest specificity [4]; it has been reported that knowledge of the degree of CAN, as defined by reduced HR variability, is not significantly increased when other functional tests are added to the RR E/I ratio [6].

The squat test (1 min of standing, 1 min of squatting and 1 min of standing again, in succession) is the original active orthostatic manoeuvre that leads to the most important and rapid variations in hydrostatic levels with posture [28]. Squatting produces a prompt increase in cardiac output and arterial BP, essentially attributed to the augmented venous return due to compression of the leg veins. These changes result in a significant increase in mean arterial BP (MBP) and PP [17,24], which is accompanied by an immediate decrease in HR and forearm vascular resistance, probably due to activation of cardiopulmonary and

arterial baroreflexes, thus implicating the autonomic nervous system. Also, the active transition from squatting to standing results in a profound initial BP decrease, inducing reflex tachycardia that can be used to detect diabetic CAN [22] and assess baroreflex sensitivity [23,27].

2.3. Measurements

Changes in SBP, diastolic blood pressure (DBP) and HR were measured continuously with a Finapres® (finger arterial pressure) instrument (Finapres Medical Systems B.V., Amsterdam, The Netherlands), allowing careful study of cardiovascular reflexes especially during an orthostatic manoeuvre [29]. The Finapres® device is based on servo-plethysmomanometry, using the volume clamp technique on the finger. Good concordance has been reported between Finapres® BP measurements and direct intra-arterial measurements [29]. PP (SBP minus DBP) was automatically calculated throughout the test. MBP was calculated by the formula $[SBP + (2 \times DBP)/3]$. Pulsatile stress was defined as the product of PP and HR, which has been shown to be largely regulated by arterial stiffness and sympathetic nerve activity, and associated with a higher risk of (micro)albuminuria [30]. For each variable or parameter, mean levels were calculated for each subject during the whole of the test period (3 min) and during each 1-min posture, after exclusion of the initial transition phase, as previously described [17,24].

During the transition from squatting to standing, there was an abrupt drop in BP associated with reflex tachycardia, followed by rapid return to baseline values of both parameters (BP increase and HR decrease). The associated changes in HR and SBP allowed calculation of baroreflex gain ($\text{ms} \cdot \text{mmHg}^{-1}$) by plotting the pulse intervals (R-R) against SBP values, with the slope of this relationship representing baroreflex sensitivity [27]. Also calculated were both the so-called ‘vagal index’ (SqT_V : ratio between the baseline cardiac R-R interval and the longest R-R interval during the first 15 s of squatting) and the so-called ‘sympathetic index’ (SqT_S : ratio between the baseline cardiac R-R interval and the shortest R-R interval during the first 10–20 s of standing after squatting), as previously described [22]. These indices, based on HR reduction during squatting and reflex tachycardia during standing, were considered markers of CAN, wherein a higher SqT_V value indicates parasympathetic neuropathy while a lower SqT_S is an indicator of sympathetic neuropathy [22,23].

Concomitant glycated haemoglobin (HbA_{1c}) levels (normal values 4–6%) were measured to assess recent blood glucose control in the diabetic patients; for each patient, their corresponding HbA_{1c} mean level was the average of one to three measurements.

Incipient nephropathy was defined as the presence of an increased albumin excretion rate or either microalbuminuria (30–300 mg/L) or mild proteinuria (300–600 mg/L), as measured by the standard methods.

2.4. Statistical analysis

Sample sizes of 19 in each group were required to achieve an 80% power to detect a difference in mean PP of 12 mmHg,

assuming that the standard deviation (SD) was 13 mmHg, using a two-sided z test with a 0.05 significance level. A difference of 12 mmHg was deemed clinically significant, as this was shown to be associated with an increased total mortality in the large EURODIAB cohort of T1DM patients [12]. The 13-mmHg SD was derived from previous studies by our group in both non-diabetic subjects and T1DM patients [17,25]. Between-group differences were analyzed using unpaired *t* tests. The relationship between two variables, such as pulsatile stress and baroreflex gain, was assessed by the Spearman correlation coefficient. Results were expressed as means \pm SD values for all continuous variables. Because of a skewed distribution, microalbuminuria was also expressed by median and interquartile values. A *P* value < 0.05 was considered significant.

3. Results

3.1. Type 1 diabetes mellitus (T1DM) patients versus non-diabetic subjects

The demographic characteristics of the 40 T1DM patients and 40 control subjects are summarized in Table 1. The two groups were matched for gender (1/1 ratio), age and BMI. BP levels were comparable in the two groups. However, PP tended to be slightly higher and HR significantly higher in T1DM patients compared with the controls, such that the pulsatile stress index ($\text{PP} \times \text{HR}$) was significantly increased in the presence of diabetes versus non-diabetics (5011 ± 1112 vs $4303 \pm 994 \text{ mmHg} \cdot \text{min}^{-1}$, respectively; $P = 0.004$). The squatting position was associated with a two-fold greater PP rise in T1DM patients than in the controls (Fig. 1, left; Table 1). Also, the maximum drop in MBP during the transition from squatting to standing was greater in T1DM patients than in the controls, while the return to baseline values also tended to be delayed. Furthermore, the immediate reflex tachycardia was significantly lower in T1DM patients compared with the controls.

RR E/I ratios were significantly lower in T1DM patients than in the age-matched control subjects. However, the parasympathetic SqT_V and sympathetic SqT_S indices of CAN, measured during the squat test, were not significantly different between the two groups. It is worth noting, nevertheless, that the baroreflex gain calculated during the transition from squatting to standing was lower in T1DM patients than in the controls (1.91 ± 1.57 vs $3.90 \pm 3.23 \text{ ms} \cdot \text{mmHg}^{-1}$, respectively; $P = 0.0011$; Table 1). Also, there was a significant inverse correlation between baroreflex gain and pulsatile stress in the combined cohort of 40 T1DM patients and 40 controls ($r = -0.3363$; $P = 0.0023$), but not between RR E/I ratios and pulsatile stress ($r = 0.1105$; $P = 0.4049$).

3.2. Type 1 diabetes mellitus (T1DM) patients with low versus high RR E/I ratios

The demographic characteristics of the 20 T1DM patients with low RR E/I ratios (1.05 ± 0.02) and the 20 T1DM patients with high RR E/I ratios (1.27 ± 0.10) are summarized in Table 2. The two groups were matched for gender (1/1 ratio), age, BMI

Table 1
Characteristics of the patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM) and non-diabetic healthy subjects (controls).

	T1DM patients	Controls	P
<i>Demographics</i>			
n (male/female)	20/20	20/20	
Age (years)	46 ± 10	46 ± 10	NS
Body mass index (kg/m ²)	24.3 ± 2.5	24.2 ± 2.6	0.8740
<i>Average 3-min measurements^a</i>			
Mean BP (mmHg)	81 ± 10	85 ± 14	0.1878
Systolic BP (mmHg)	122 ± 14	121 ± 19	0.7657
Diastolic BP (mmHg)	64 ± 9	68 ± 12	0.0990
PP (mmHg)	58 ± 13	53 ± 11	0.0684
HR (beats.min ⁻¹)	88 ± 11	82 ± 10	0.0167
PP × HR product (mmHg.min ⁻¹)	5011 ± 1112	4303 ± 994	0.0040
<i>Squatting-induced changes</i>			
Delta mean BP (mmHg)	+13 ± 9	+6 ± 6	0.0002
Delta PP (mmHg)	+13 ± 9	+7 ± 6	0.0007
Delta HR (beats.min ⁻¹)	-6 ± 7	-5 ± 8	NS
<i>Standing-induced changes</i>			
Max delta mean BP (mmHg)	-13 ± 13	-7 ± 7	0.0112
Max delta HR (beats.min ⁻¹)	+22 ± 11	+32 ± 12	0.0002
Delay to baseline mean BP recovery (s)	28 ± 18	21 ± 11	0.0635
<i>Indices of CAN</i>			
RR E/I ratio	1.16 ± 0.13	1.29 ± 0.14	0.0018
SqT _v index	0.85 ± 0.12	0.82 ± 0.13	0.2779
SqT _s index	1.17 ± 0.23	1.22 ± 0.11	0.1573
Baroreflex gain (ms.mmHg ⁻¹)	1.91 ± 1.57	3.90 ± 3.23	0.0011

Data are expressed as means ± SD. BP: blood pressure; PP: pulse pressure; HR: heart rate; NS: not significant; delta: difference between mean values (excluding transition phases) recorded in initial standing position and squatting; max delta: maximum change between levels measured at the end of squatting and early phase of standing; CAN: cardiovascular autonomic neuropathy; RR: R-R interval; E/I: expiration/inspiration; SqT_v: 'vagal' index; SqT_s: 'sympathetic' index.

^a Recorded during the whole 3-min posture test.

and diabetes duration. HbA_{1c} levels did not significantly differ between the two groups. Mean and median microalbuminuria levels tended to be higher in patients with low RR E/I ratios than in those with high RR E/I ratios (Table 2).

Overall, the mean BP and PP levels were comparable in the two diabetic subgroups. However, HR tended to be higher throughout the test in T1DM patients with low RR E/I ratios versus those with high RR E/I ratios, but the difference was not significant. Likewise, no significant differences were observed between the two subgroups in PP and pulsatile stress (PP × HR) indices. The squatting position was associated with significant rises in mean BP and PP, and decreases in HR, in the two groups, with no significant differences between T1DM patients with either low or high RR E/I ratios (Fig. 1, right; Table 2). However, the reflex-driven abrupt rise in HR during the transition from squatting to standing was significantly lower in T1DM patients with low compared with high RR E/I ratios. The maximum drop in MBP during the transition from squatting to standing was also similar in the two groups. However, the delay in recovery back to initial baseline MBP levels was significantly increased in T1DM patients with low RR E/I ratios compared with those of patients with high RR E/I ratios (Table 2).

SqT_v indices were comparable between the two T1DM subgroups, whereas SqT_s indices tended to be lower in patients with low versus high RR E/I ratios. Better discrimination between the two T1DM groups was observed when using baroreflex gain, as calculated during the squatting–standing transition, as this was significantly decreased in T1DM patients with low RR E/I ratios

compared with those with high RR E/I ratios (1.39 ± 1.39 vs 2.43 ± 1.57 ms.mmHg⁻¹, respectively; P = 0.0374; Table 2).

When T1DM patients were separated according to baroreflex gain (below vs above the median 1.60 ms.mmHg⁻¹), patients with a low baroreflex gain were characterized by significantly lower RR E/I ratios, higher pulsatile stress indices, greater squat-induced PP increases, and considerably higher mean and median microalbuminuria levels (Table 2, right).

4. Discussion

The present study results confirm that T1DM patients, after around 20–25 years of having the disease, are characterized by significantly reduced RR E/I ratios and baroreflex gain, two markers of CAN, and higher PP levels, increased PP × HR products and greater squat-associated PP rises, all of which are markers of pulsatile stress and arterial stiffness, compared with the corresponding values in matched non-diabetic subjects. Also, our present findings demonstrate that the classical CAN marker RR E/I ratio is able to separate patients with less postural tachycardia, delayed mean BP recovery and reduced baroreflex gain during the transition from squatting to standing (although no significant differences were observed in PP and pulsatile stress between the two T1DM subgroups when separated according to the sole RR E/I ratio). In addition, our present results show that the decreased baroreflex gain measured during the squat test in T1DM patients is associated with increased pulsatile stress and strongly associated with the presence of microalbuminuria.

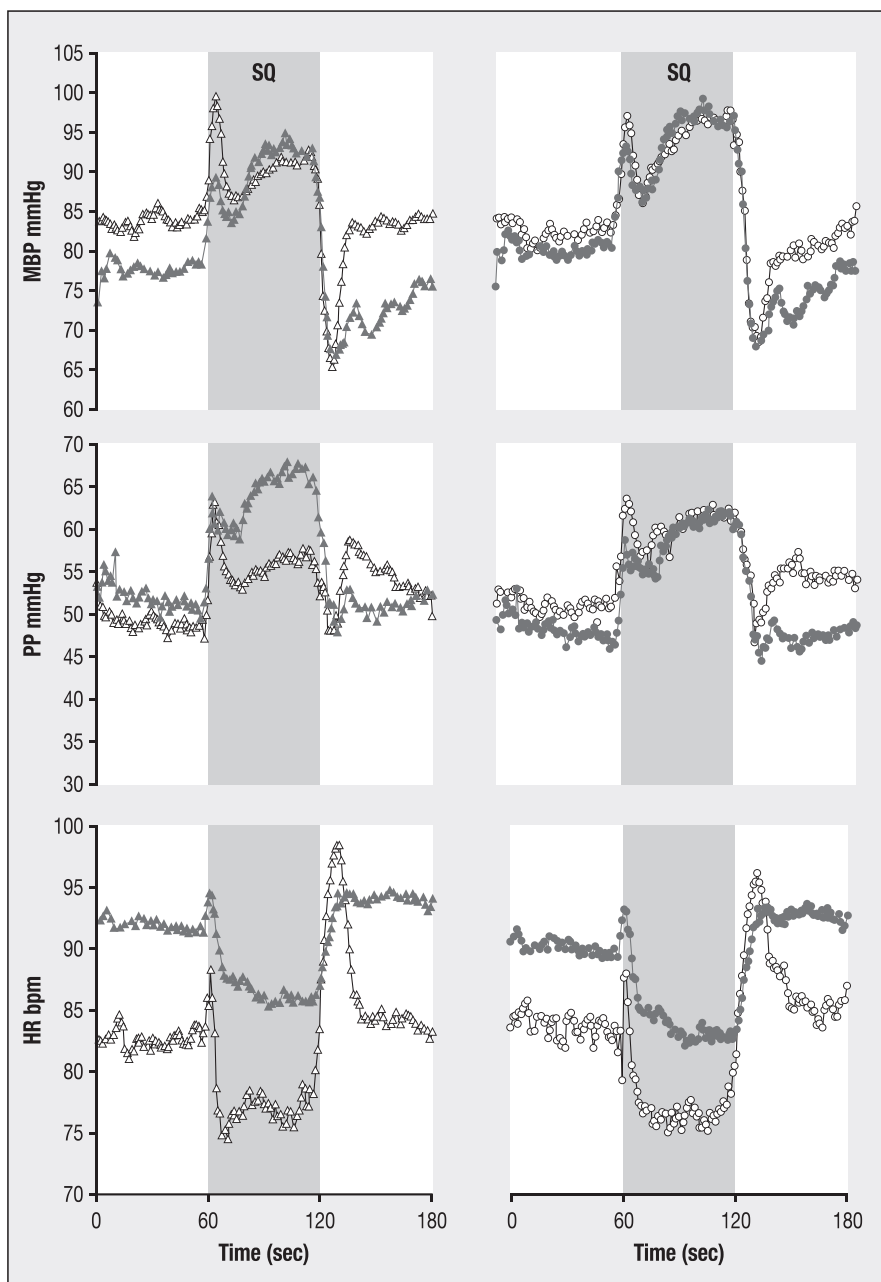


Fig. 1. Changes in mean arterial blood pressure (MBP), pulse pressure (PP) and heart rate (HR) during a posture test (1-min standing, 1-min squatting [grey zone], 1-min standing): (left) 40 patients with type 1 diabetes (T1DM; solid triangles) versus 40 non-diabetic controls (open triangles), matched for age, gender and body mass index; and (right) 20 patients with T1DM and low RR E/I ratios indicative of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) (solid circles) versus 20 patients with T1DM and high RR E/I ratios (open circles), matched for age, duration of diabetes, gender and body mass index.

The observation of higher PP levels in T1DM patients compared with controls in the age range of 25–60 years is in agreement with previous studies by our group demonstrating an earlier PP increase with age in this population [17,24], and also with the observational data of the large cross-sectional case-control FinnDiane (Finnish Diabetic Nephropathy) study [9]. As PP is considered an indirect marker of arterial stiffness, the higher PP levels are consistent with accelerated vascular ageing in the T1DM population [8], especially in those with chronically poor glucose control [9,31]. In the EURODIAB Prospective Complications Study, PP was significantly associated with

all-cause mortality, and a mean 12-mmHg higher PP was observed in T1DM patients who died versus those who survived [12]. The present study also confirms that the squatting position markedly increases PP, and that this amplification phenomenon is considerably more marked (nearly doubled) in T1DM patients than in their age-matched controls, again in agreement with accelerated arterial stiffness [24].

Although our T1DM patients as a whole had significantly lower RR E/I ratios than the non-diabetic controls, no significant differences were observed in terms of the SqT_v and SqT_s indices calculated during the squat test, two proposed markers

Table 2
Characteristics of patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM) according to RR E/I ratios (low vs high) and baroreflex gain (BRG) (below vs above median value of 1.60 ms.mmHg⁻¹).

	T1DM patients			T1DM patients		
	Low E/I ratios (range: 1.02–1.09)	High E/I ratios (range: 1.16–1.49)	<i>P</i>	Low BRG (range: 0.19–1.57)	High BRG (range: 1.66–6.41)	<i>P</i>
<i>Demographics</i>						
<i>n</i> (male/female)	10/10	10/10	NS	10/11	11/9	NS
Age (years)	46 ± 10	46 ± 9	0.9887	47 ± 9	45 ± 10	0.5377
Diabetes duration (years)	26 ± 8	22 ± 8	0.1411	25 ± 7	23 ± 10	0.4829
BMI (kg/m ²)	24.4 ± 2.8	23.9 ± 2.4	0.5121	23.8 ± 2.9	24.6 ± 2.3	0.3447
HbA _{1c} (%)	8.9 ± 1.1	8.5 ± 1.4	0.3823	9.0 ± 1.1	8.2 ± 1.3	0.0628
<i>Microalbuminuria</i>						
Mean values (mg/L)	90 ± 155	42 ± 128	0.3039	119 ± 183	8 ± 8	0.0137
Median [interquartile] values (mg/L)	13 [4–57]	7 [4–15]		20 [6–82]	4 [4–11]	
<i>Average 3-min measurements^a</i>						
Mean BP (mmHg)	81 ± 10	82 ± 9	0.5533	82 ± 9	81 ± 10	0.8483
Systolic BP (mmHg)	120 ± 15	124 ± 14	0.4666	125 ± 14	119 ± 14	0.1806
Diastolic BP (mmHg)	64 ± 9	64 ± 8	0.9033	64 ± 7	64 ± 10	0.9059
PP (mmHg)	56 ± 13	60 ± 12	0.3587	61 ± 14	54 ± 11	0.0962
HR (beats.min ⁻¹)	90 ± 13	85 ± 7	0.1775	88 ± 12	87 ± 10	0.6020
PP × HR product (mmHg.min ⁻¹)	4947 ± 1150	5075 ± 1070	0.7243	5344 ± 1219	4643 ± 840	0.0445
<i>Squatting-induced changes</i>						
Delta mean BP (mmHg)	+14 ± 9	+12 ± 9	0.4979	+18 ± 9	+7 ± 5	0.0001
Delta PP (mmHg)	+13 ± 9	+12 ± 8	0.5543	+16 ± 10	+9 ± 6	0.0095
Delta HR (beats.min ⁻¹)	-7 ± 7	-6 ± 8	0.9003	-5 ± 8	-8 ± 6	0.3193
<i>Standing-induced changes</i>						
Max delta mean BP (mmHg)	-42 ± 17	-38 ± 11	0.4105	-47 ± 17	-32 ± 8	0.0013
Max delta HR (beats.min ⁻¹)	+18 ± 13	+25 ± 6	0.0317	+19 ± 13	+24 ± 7	0.0186
Delay to baseline mean BP recovery (s)	33 ± 19	22 ± 15	0.0493	32 ± 21	22 ± 11	0.0691
<i>Indices of CAN</i>						
RR E/I ratio	1.05 ± 0.02	1.27 ± 0.10	0.00001	1.12 ± 0.12	1.21 ± 0.13	0.0308
SqT _v index	0.85 ± 0.11	0.85 ± 0.13	0.9558	0.86 ± 0.10	0.85 ± 0.13	0.7906
SqT _s index	1.10 ± 0.09	1.23 ± 0.29	0.0777	1.12 ± 0.15	1.21 ± 0.28	0.2336
BRG (ms.mmHg ⁻¹)	1.39 ± 1.39	2.43 ± 1.57	0.0374	0.82 ± 0.41	3.12 ± 1.50	<0.0001

Data are expressed as means ± SD. BP: blood pressure; PP: pulse pressure; HR: heart rate; NS: not significant; delta: difference between mean values (excluding transition phases) recorded in initial standing position and squatting; max delta: maximum change between levels measured at the end of squatting and early phase of standing; CAN: cardiovascular autonomic neuropathy; RR: R-R interval; E/I: expiration/inspiration; SqT_v: 'vagal' index, the ratio between baseline cardiac R-R interval and longest R-R interval during the first 15 s of squatting; SqT_s: 'sympathetic' index, the ratio between baseline cardiac R-R interval and shortest R-R interval during the first 10–20 s of standing after squatting.

^a Recorded during the whole 3-min posture test.

of parasympathetic and sympathetic dysfunction, respectively [22]. Previously, we observed altered SqT_v and SqT_s indices in T1DM patients compared with matched non-diabetic controls [25,26]. The absence of any differences in these markers between diabetic and non-diabetic subjects may be explained by the mode of selection of the T1DM patients in the present study, half of whom were recruited on the basis of a persistently maintained RR E/I ratio. Nevertheless, decreased baroreflex gain was observed in our T1DM patients, reflecting the presence of CAN after more than 20 years of diabetes and, thus, indicating an increased cardiovascular and total mortality risk [1,32]. T1DM patients with low versus high RR E/I ratios had almost the same duration of diabetes in the present study, confirming that diabetes duration does not sufficiently discriminate between patients with CAN and that other factors need to be taken into account. Despite the fact that only a slight (non-significant) difference could be detected in recent HbA_{1c} levels between the two T1DM subgroups with low and high RR E/I ratios, the quality

of chronic glycaemic control most probably plays a role in the development of CAN [32–34].

There may also be links between PP and CAN [24], between aortic stiffness and CAN [13,14], and between arterial stiffness, cardiovagal baroreflex sensitivity and postural BP changes [35]. Increased SBP was identified as a factor associated with an increased risk of developing CAN in the cohort of T1DM patients in the EURODIAB Prospective Complications Study [16]. Also, we previously reported a significant inverse relationship between pulsatile stress and baroreflex gain as a marker of CAN in middle-aged patients with T1DM [26]. In the present study, such a significant inverse correlation was observed between the pulsatile stress index and baroreflex gain in the overall population tested, whereas no such correlations were observed between pulsatile stress and RR E/I ratios. Several mechanisms may underlie the association between arterial stiffness and impaired cardiovagal baroreflex sensitivity. Increased intima-media thickness at the site of baroreceptors, reduced

vascular distensibility, endothelial dysfunction and impaired cardiac function can all contribute to cardiovascular autonomic dysfunction [15]. More specifically, stiffness of the carotid arteries and the aorta, where the arterial baroreceptors are located, can affect stretch-sensitive receptors and, thus, baroreflex sensitivity [35].

Both CAN and arterial stiffness abnormalities have been shown to be closely associated with the presence of (micro)albuminuria, regarded as a reflection of endothelial dysfunction or vascular damage in diabetics [15]. Early renal alterations are also related to pulsatile stress [30]. In T1DM, the odds ratio of CAN has been shown to increase with SBP, hypertension, HbA_{1c} and microalbuminuria [36]. Baroreflex sensitivity was reduced in T1DM patients with microalbuminuria, but without CAN on standard Ewing tests [37]. This suggests that baroreflex sensitivity may be affected at an earlier stage and may be considered a better predictor of other vascular damage. In the present study, a strong relationship was observed between the decreased baroreflex gain (but with no decreased RR E/I ratios) assessed during the squat test and the presence of microalbuminuria. In one prospective study, the progression of autonomic dysfunction in relation to nephropathy was followed for 14 years in T1DM patients [38]. Multiple regression analyses showed that the association between autonomic dysfunction and future albuminuria was due to the RR E/I ratio, supporting a role for this simple marker in routine clinical practice. In contrast to previous studies [36], only a trend was observed in the present study between higher microalbuminuria levels and the presence of CAN, as detected by low RR E/I ratios. This may have been due to the relatively small number of subjects with microalbuminuria, which could be explained by the fact that T1DM patients with hypertension were excluded from our present study, whereas recent observational data have favoured the role of CAN in hypertension of T1DM patients [39]. Furthermore, the association of the CAN/hypertension profile with vascular complications is consistent with deleterious effects on vascular haemodynamics and structure in addition to the effects of hypertension itself. CAN was also shown to be associated with the presence of retinopathy, which supports a role of poor glycaemic control in CAN development [34]; it has also been suggested that an impairment of autonomic peripheral blood-flow control might be a contributing factor in the formation of microvascular lesions [33].

Some limitations of the present study need to be mentioned. First, only a single test was used from the battery of tests proposed by Ewing to assess CAN [5]—namely, the RR E/I ratio, as measured by a deep-breathing manoeuvre. Although CAN is classically diagnosed by having at least three abnormal tests out of five [1,5], it should be recognized that all five tests are rarely performed at bedside in routine clinical practice [4]. In a recent statement by the Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group [4], it was suggested that the presence of one abnormal cardiovagal test identifies possible or early CAN, and that at least two abnormal HR tests are required for a definite or confirmed diagnosis of CAN. Nevertheless, several studies have pointed out that the RR E/I ratio is a simple, but especially informative, marker of CAN [6,38], and has the greatest specificity [4]. In addition,

orthostatic hypotension (asymptomatic or symptomatic) along with HR test abnormalities (resulting in a decreased baroreflex gain in the present study) indicate more severe or advanced CAN [4].

Another study limitation was that, as our patients were perfectly matched for age (mean: 46 years; range: 25–60 years) on comparing T1DM patients with controls and T1DM patients with low versus high R-R E/I ratios, age was not taken into account when considering RR E/I ratios as abnormal in our preliminary analysis. Additional analyses showed that adjusting for age did not change the conclusions of the study (indeed, in the group with high RR E/I ratios, only one rather young [27-year-old] T1DM patient had a relatively low value for age [1.17] whereas, in the group with low RR E/I ratios, only one older T1DM patient [aged 58 years] had a somewhat high value for age [1.09]).

Yet another limitation was that several studies have demonstrated that absolute brachial and finger PP measurements do not necessarily equate, with larger differences in SBP; indeed, the differences are generally small and not considered to be of clinical relevance [29]. Furthermore, some studies have shown good concordance between peripheral (finger, as in the present study) and central (aortic, now recognized as the most important risk factor) BP measurements [40]. Nevertheless, PP measured at the finger site may not necessarily reflect central PP because of the amplification phenomenon.

Moreover, glucose control in the T1DM patients evaluated in the present study was far from optimal, despite intensified insulin therapy. For this reason, our present results may not necessarily be extrapolated to patients with near-normal glycaemia of many years' duration, as chronic hyperglycaemia appears to play a major role in accelerating both arterial stiffness [31] and CAN [2,32,33]. Finally, plasma glucose levels were not recorded at the time of the dynamic tests in our T1DM patients.

5. Conclusion

Patients with long-duration T1DM, compared with matched non-diabetic controls, present with both CAN abnormalities and markers of increased pulsatile stress, two independent risk factors of premature cardiovascular disease and mortality. T1DM patients with low RR E/I ratios exhibit lower levels of orthostatic reflex tachycardia and baroreflex gain, and are prone to more prolonged orthostatic hypotension. Also, separation of the T1DM population according to RR E/I index alone did not result in different markers of pulsatile stress in contrast to the use of squatting-derived baroreflex gain, which was strongly associated with microalbuminuria.

6. Author contributions

J.C.P., M.M. and A.J.S. made substantial contributions to the concept and design of the study and outlined the structure of the report. J.C.P. and M.M. were involved in the acquisition, analysis and interpretation of the data. A.J.S. had full access to all the data, wrote the report and had final responsibility for the decision to submit for publication. All authors critically

reviewed the reports and approved the final version of the report for submission.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Acknowledgements

This work was supported by an unrestricted research grant from Novo Nordisk Belgium. The study was also presented in abstract form as a poster at the *Congrès de la Société Francophone du Diabète* (Congress of the French-Speaking Diabetes Society) held in Geneva, Switzerland, March 22–25, 2011.

References

[1] Vinik AI, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2007;115:387–97.

[2] Retnakaran R, Zinman B. Type 1 diabetes, hyperglycaemia, and the heart. *Lancet* 2008;371:1790–9.

[3] Pop-Busui R. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. *Diabetes Care* 2010;33:434–41.

[4] Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care* 2010;33:2285–93.

[5] Ewing DJ, Martin CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985;8:491–8.

[6] May O, Arildsen H. Assessing cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes mellitus: how many tests to use? *J Diabetes Complications* 2000;14:7–12.

[7] Valensi P, Pariès J, Attali JR, French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications – the French multicenter study. *Metabolism* 2003;52:815–20.

[8] Benetos A. Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2003;21:2005–7.

[9] Ronnback M, Fagerudd J, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Reunanen A, Groop PH. Altered age-related blood pressure pattern in type 1 diabetes. *Circulation* 2004;110:1076–82.

[10] 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;26:1895–901.

[11] Schram MT, Chaturvedi N, Fuller JH, Stehouwer CD, EURODIAB Prospective Complications Study Group. Pulse pressure is associated with age and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the Eurodiab Prospective Complications Study. *J Hypertens* 2003;21:2035–44.

[12] Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe. The EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008;31:1360–6.

[13] Ahlgren AR, Sundkvist G, Wollmer P, Sonesson B, Länne T. Increased aortic stiffness in women with type 1 diabetes mellitus is associated with diabetes duration and autonomic nerve function. *Diabet Med* 1999;16:291–7.

[14] Prince CT, Secrest AM, Mackey RH, Arena VC, Kingsley LA, Orchard TJ. Cardiovascular autonomic neuropathy, HDL cholesterol, and smoking correlate with arterial stiffness markers determined 18 years later in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:652–7.

[15] Lefrandt JD, Smit AJ, Zeebregts CJ, Gans RO, Hoogenberg KH. Autonomic dysfunction in diabetes: a consequence of cardiovascular damage. *Curr Diabetes Rev* 2010;6:348–58.

[16] Witte DR, Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Kempler P, Fuller JH. Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2005;48:164–71.

[17] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulse pressure and cardiovascular autonomic neuropathy according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25:442–51.

[18] Purewal TS, Watkins PJ. Postural hypotension in diabetic autonomic neuropathy: a review. *Diabet Med* 1995;12:192–200.

[19] Hirai FE, Moss SE, Klein BE, Klein R. Postural blood pressure changes and associated factors in long-term type 1 diabetes: Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Complications* 2009;23:83–8.

[20] Scheen AJ, Juchmes J, Pochet T. Non invasive, beat-to-beat, investigation of the effects of posture on arterial blood pressure in diabetic neuropathy. *Diabete Metab* 1990;16:382–4.

[21] Philips JC, Scheen AJ. Squatting test: a posture to study and counteract cardiovascular abnormalities associated with autonomic dysfunction. *Auton Neurosci* 2011;162:3–9.

[22] Marfella R, Giugliano D, Di Maro G, Acampora R, Giunta R, D’Onofrio F. The squatting test: a useful tool to assess both parasympathetic and sympathetic involvement of the cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes* 1994;43:607–12.

[23] Nakagawa M, Shinohara T, Anan F, Yufu K, Takahashi N, et al. New squatting test indices are useful for assessing baroreflex sensitivity in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008;25:1309–15.

[24] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting amplifies pulse pressure increase according to duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:322–4.

[25] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Changes in pulse pressure, heart rate and double product during squatting in type 1 diabetes according to age. *Diabet Med* 2010;27:753–61.

[26] Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Pulsatile stress in middle-aged patients with type 1 or type 2 diabetes compared to nondiabetic controls. *Diabetes Care* 2010;33:2424–9.

[27] Scheen AJ, Philips JC. Squatting test: a dynamic postural manoeuvre to study baroreflex sensitivity. *Clin Auton Res* 2011, doi:10.1007/s10286-011-0140-8.

[28] Rickards CA, Newman DG. A comparative assessment of two techniques for investigating initial cardiovascular reflexes under acute orthostatic stress. *Eur J Appl Physiol* 2003;90:449–57.

[29] Imholz BP, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res* 1998;38:605–16.

[30] Baumann M, Pan CR, Roos M, von Eynatten M, Sollinger D, Lutz J, et al. Pulsatile stress correlates with (micro-)albuminuria in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23:292–8.

[31] Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005;46:232–7.

[32] Pop-Busui R, Low PA, Waberski BH, Martin CL, Albers JW, Feldman EL, et al. Effects of prior intensive insulin therapy on cardiac autonomic nervous system function in type 1 diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study (DCCT/EDIC). *Circulation* 2009;119:2886–93.

[33] Valensi P, Huard JP, Giroux C, Attali JR. Factors involved in cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients. *J Diabetes Complications* 1997;11:180–7.

[34] Pavy-Le Traon A, Fontaine S, Tap G, Guidolin B, Senard JM, Hanaire H. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res* 2010;20:153–60.

[35] Mattace-Raso FU, van den Meiracker AH, Bos WJ, van der Cammen TJ, Westerhof BE, Elias-Smale S, et al. Arterial stiffness, cardiovascular baroreflex sensitivity and postural blood pressure changes in older adults: the Rotterdam Study. *J Hypertens* 2007;25:1421–6.

[36] Voulgari C, Psallas M, Kokkinos A, Argiana V, Katsilambros N, Tentolouris N. The association between cardiac autonomic neuropathy with metabolic

- and other factors in subjects with type 1 and type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2011;25:159–67.
- [37] Lefrandt JD, Hoogenberg K, van Roon AM, Dullaart RP, Gans RO, Smit AJ. Baroreflex sensitivity is depressed in microalbuminuric type 1 diabetic patients at rest and during sympathetic manoeuvres. *Diabetologia* 1999;42:1345–9.
- [38] Forsén A, Kangro M, Sterner G, Norrgren K, Thorsson O, Wollmer P, et al. A 14-year prospective study of autonomic nerve function in Type 1 diabetic patients: association with nephropathy. *Diabet Med* 2004;21:852–8.
- [39] Ayad F, Belhadj M, Pariés J, Attali JR, Valensi P. Association between cardiac autonomic neuropathy and hypertension and its potential influence on diabetic complications. *Diabet Med* 2010;27:804–11.
- [40] Eckert S, Horstkotte D. Comparison of Portapres non-invasive blood pressure measurement in the finger with intra-aortic pressure measurement during incremental bicycle exercise. *Blood Press Monit* 2002;7:179–83.

ANNEXE C : Résumés de présentations de congrès

C1. Philips J-C, Marchand M, Estrella F, Scheen AJ.

Gain baroréflexe calculé lors d'un test d'orthostatisme (« squatting ») : reproductibilité et effet de l'âge dans une population normale.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux, 2004, **97** (Suppl. Hors série), 53, P92.

C2. Philips JC, Estrella F, Marchand M, et al.

Influence du contrôle glycémique sur l'évolution de la pression artérielle pulsée chez le patient diabétique de type 1 : premiers résultats d'une étude longitudinale.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux 2004;97 (Suppl):25, P2.

C3. Philips J-C, Marchand M, Geronooz I, Scheen AJ.

Influence of blood glucose control on the progression of cardiac autonomic neuropathy in Type 1 diabetes.

Diabetologia 2004, **47** (Suppl 1), A368-A369, P1029.

C4. Philips J-C, Marchand M, Scheen AJ.

Augmentation plus marquée de la pression pulsée avec l'âge chez les femmes que chez les hommes présentant un diabète de type 1.

Diabetes & Metabolism 2009, 35 (Suppl 1), A35.

C5. Scheen AJ, Marchand M, Philips J-C

Remarquables corrélations entre le gain baroréflexe, le stress pulsatile et la présence d'une microalbuminurie dans la population diabétique de type 1.

Diabetes & Metabolism 2011, 37 (Suppl 1), A45-46.

C6. Scheen AJ, Philips JC, Marchand M.

Decreased baroreflex gain more strongly predicts microalbuminuria and increased pulsatile stress than decreased RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes.

Diabetologia 2011, 54, (Suppl 1), S464, 1149.

C7. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ.

Baroreflex gain is more efficient than RR E/I ratio to detect progression of cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetes patients.

In : Abstract Book of the World Diabetes Congress (International Diabetes Federation), 2011;422:P-1289.

C8. Scheen A, Marchand M, Philips JC.

Relations entre gain baroréflexe et stress pulsatile chez le patient diabétique de type 1.

Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux - Pratique 2011, Hors Série 3, 36-37, CO-58.

des maladies du

CŒUR

et des

Vaisseaux

JOURNAL D'EXPRESSION DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE CARDIOLOGIE

XXIV^{es} JOURNÉES

Paris 16-17 décembre 2004

Palais des Congrès

Porte Maillot

DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

P92

GAIN BARO-REFLEXE CALCULÉ LORS D'UN TEST D'ORTHOSTATISME (« SQUATTING ») : REPRODUCTIBILITE ET EFFET DE L'AGE DANS UNE POPULATION NORMALE.

Jean-Christophe Philips², Monique Marchand², Federico Estrella², André Scheen¹

1) Diabétologie, CHU, Liege (Belgique), 2) CHU Sart Tilman, Diabétologie, Liège Belgique

Objectifs : Etudier la reproductibilité du gain baro-réflexe (GBR) dérivé des variations de pression artérielle moyenne (PAM) et de fréquence cardiaque (FC) lors d'un test de redressement actif (« squatting ») et analyser l'influence de l'âge dans une population adulte normale.

Méthodes : PAM et FC sont obtenues en continu avec un Finapres[®] lors d'un test de « squatting » (1 min debout – 1 min accroupi – 1 min debout) chez 54 sujets sains des deux sexes (18 sujets dans chaque tranche d'âge, 15-30, 30-55 et 55-75 ans). Chaque sujet a effectué deux tests pour étudier les coefficients de variation intra-individuelle (CV). GBR est obtenu par la pente de la droite de corrélation liant les variations des espaces cardiaques R-R et celles de PAM suivant le redressement actif.

Résultats : La mesure de PAM avec le Finapres est bien reproductible, avec un CV moyen de $3,8 \pm 3,1$ %. La chute totale de PAM lors du redressement est de 42 ± 15 mm Hg (CV = 14 ± 10 %), avec une diminution de 22 ± 11 mm Hg sous la ligne de base initiale. PAM augmente avec l'âge, surtout en position accroupie (78 ± 10 , 93 ± 14 et 96 ± 26 mm Hg dans les groupes 15-30, 30-55 et 55-75 ans, respectivement; $p < 0,001$). Par contre, la chute de PAM lors du redressement est comparable dans les 3 groupes (42 ± 17 vs 40 ± 10 vs 46 ± 16 mm Hg, NS). GBR moyen est de $3,6 \pm 2,7$ msec/mm Hg avec un CV de $24,8 \pm 13,0$ %. Il est abaissé chez les sujets plus âgés ($1,8 \pm 1,4$ msec/mm Hg, $p < 0,02$) par rapport aux deux autres groupes ($4,2 \pm 3,0$ et $3,8 \pm 2,8$ msec/mm Hg). Le calcul de GBR est cependant plus laborieux et moins reproductible chez le sujet âgé.

Conclusion : Le « squatting » est un test d'orthostatisme discriminant et reproductible. Il permet le calcul d'un gain baro-réflexe qui diminue avec l'âge dans une population adulte normale. Cet indice mérite d'être étudié chez les sujets atteints de neuropathie autonome

des maladies du

cœur

et des

vaisseaux

JOURNAL D'EXPRESSION DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE CARDIOLOGIE

XXIV^{es} JOURNÉES

Paris 16-17 décembre 2004

Palais des Congrès

Porte Maillot

DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE**P2**

INFLUENCE DU CONTRÔLE GLYCEMIQUE SUR L'EVOLUTION DE LA PRESSION ARTERIELLE PULSEE CHEZ LE PATIENT DIABETIQUE DE TYPE 1 : PREMIERS RESULTATS D'UNE ETUDE LONGITUDINALE.

Jean-Christophe Philips², Federico Estrella², Monique Marchand², André Scheen¹.

1) Diabétologie, CHU, Liège, Belgique. 2) CHU Sart Tilman, Diabétologie, Liège, Belgique.

Objectifs : Etudier l'influence de la durée du diabète de type 1 et de la qualité du contrôle glycémique sur les modifications de la pression pulsée (PP), un facteur indépendant de risque cardio-vasculaire.

Méthodes : La pression artérielle (PA) est enregistrée en continu avec un Finapres, lors d'un test de redressement actif, à 2 reprises à 43 ± 17 mois d'intervalle, chez 48 patients avec un diabète de type 1 connu depuis 19 ± 10 années. Aucun patient ne prend de médicaments susceptibles d'interférer avec les mesures hémodynamiques. La qualité du contrôle glycémique est appréciée par la moyenne des valeurs d'hémoglobine glyquée (HbA1c) durant la période séparant les 2 tests. PP correspond à la différence moyenne entre les PA systolique et diastolique durant le test. Le gain baro-réflexe est calculé par la relation entre les variations de fréquence cardiaque et de PA moyenne lors du redressement actif.

PP est fortement corrélée avec la durée du diabète ($r = 0,44$; $p < 0,001$). Elle augmente significativement lors du suivi longitudinal chez les 27 patients avec une HbA1c $> 8\%$ ($9,4 \pm 1,0\%$), soit de 47 ± 17 à 58 ± 16 mmHg ($p < 0,001$), mais pas chez les 21 patients avec une HbA1c $\leq 8,0\%$ ($7,4 \pm 0,6\%$), soit de 50 ± 15 à 57 ± 15 mmHg (NS). Le gain baro-réflexe est inversement corrélé avec la durée du diabète ($r = -0,38$; $p < 0,001$) et l'importance de la diminution du gain baro-réflexe entre les 2 tests est directement corrélée avec le taux moyen d'HbA1c ($r = 0,41$; $p < 0,001$).

Conclusion : La pression artérielle pulsée augmente et le gain baro-réflexe diminue avec la durée du diabète de type 1. Ces marqueurs de risque sont aggravés par un mauvais contrôle métabolique de quelques années, ce qui plaide pour le renforcement des objectifs glycémiques.

Diabetologia

Clinical and Experimental Diabetes and Metabolism

Journal of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)

Abstracts of the 40 th Annual Meeting of the EASD
Munich, Germany, 5-9 september 2004

Influence of blood glucose control on the progression of cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes

J.C. Philips, M. Marchand, I. Geronooz, A.J. Scheen

Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, CHU Sart Tilman, Liège, Belgium.

Background and aims : Cardiac autonomic neuropathy (CAN) is a frequent complication of diabetes mellitus. The present work aimed at analysing the influence of blood glucose control on the progression of indices of CAN in patients with type 1 diabetes mellitus.

Materials and methods : 48 (28 women and 20 men) patients with type 1 diabetes (mean \pm SD : age : 41 ± 12 years; diabetes duration : 19 ± 10 years with a range from 3 to 38 years) were studied twice at a time interval of 43 ± 17 months (range : 16-91 months). Patients taking drugs interfering with cardiovascular regulation were excluded. CAN was assessed by calculating the baroreflex gain during a squatting test (1 min standing – 1 min squatting – 1 min standing) while continuous monitoring of heart rate and arterial blood pressure with a Finapres^R device. The baroreflex gain was calculated by plotting R-R cardiac intervals according to mean arterial blood pressure values during the transition active phase from squatting to standing. Overall blood glucose control was estimated by the mean value of several HbA_{1c} measurements between the two tests, and subjects were separated into two subgroups : HbA_{1c} levels $\leq 8\%$ in 21 patients ($7.42 \pm 0.60\%$) *versus* $> 8\%$ in 27 patients ($9.44 \pm 1.04\%$).

Results : The baroreflex gain tended to be negatively related to the duration of diabetes at the initial evaluation ($r = -0.174$; $n = 48$; $p < 0.10$). This index of CAN decreased from 4.00 ± 3.41 to 2.53 ± 1.46 msec/mm Hg ($p = 0.008$) during the 43-month period separating the two orthostatic tests. The reduction in baroreflex gain was significant in patients with bad glucose control (from 3.89 to 2.13 msec/mm Hg, $p = 0.02$), but not in patients with acceptable control (from 4.16 to 3.05 msec/mm Hg, NS). While no significant differences were observed between the two groups at the initial evaluation, baroreflex gain became significantly lower in the poorly controlled group than in the better controlled group at the second evaluation ($p < 0.05$). A significant negative correlation was found between changes in baroreflex gain from test 1 to test 2 and mean HbA_{1c} levels ($r = -0.304$; $n = 48$; $p < 0.01$), and between baroreflex gain at the second test and averaged HbA_{1c} during the period between the two tests ($r = -0.409$; $n = 48$; $p < 0.001$). Interestingly, pulse pressure significantly increased from test 1 to test 2 in patients with poor metabolic control (from 47.3 to 57.6 mm Hg; $p < 0.001$), but not in patients with better metabolic control (from 50.4 to 56.6 mm Hg; NS).

Conclusion : In patients with long-standing (almost 20 years) type 1 diabetes, a period of 3-4 years with poor glucose control is sufficient to significantly decrease baroreflex gain, an index of cardiac autonomic neuropathy, and to increase pulse pressure, an index of arterial stiffness, two independent risk markers in patients with diabetes mellitus. These observations support the search of better metabolic control in patients with type 1 diabetes, with a minimum objective of HbA_{1c} levels below 7%.

Diabetologia 2004, 47(suppl 1),A368-A369, P1029



Augmentation plus marquée de la pression pulsée avec l'âge chez les femmes que chez les hommes présentant un diabète de type 1

Philips JC, Marchand M, Scheen AJ

(1) Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques, CHU Sart Tilman, Université de Liège, Liège, Belgique.

Introduction

La pression pulsée (PP) est un marqueur indirect de la rigidité artérielle et un facteur de risque cardiovasculaire indépendant. Ce travail compare l'évolution de PP en fonction de l'âge dans une population diabétique de type 1 analysée selon le sexe.

Patients et Méthodes

222 patients diabétiques de type 1 (20-60 ans, HbA1c moyenne = 8,8% F / 8,6% H) ont été répartis en 2 x 4 groupes selon le sexe (F/H) et la catégorie d'âge : G1 : 20-30 ans (27F/19H) ; G2 : 31-40 ans (30F/28H) ; G3 : 41-50 ans (30F/37H) ; et G4 : 51-60 ans (20F/31H). Les pressions artérielles systolique (PAS), diastolique (PAD) et pulsée (PP = PAS-PAD) ont été mesurées en continu avec un Finapres® durant un test postural (1 min debout - 1 min accroupi - 1 min debout). La même étude a été réalisée chez 246 témoins non diabétiques.

Résultats

PP augmente significativement avec l'âge chez les F diabétiques (41, 48, 59, 58 mmHg de G1 à G4 ; $r = 0,5088$; $p = 0,0001$), mais non chez les H diabétiques (55, 57, 57, 61 mmHg de G1 à G4 ; $r = 0,1376$; $p = 0,1442$). Semblable augmentation n'est observée ni chez les F (46, 45, 48, 49 mmHg de G1 à G4 ; $r = 0,0867$; $p = 0,35$) ni chez les H (54, 51, 58, 56 mmHg de G1 à G4 ; $r = 0,0889$; $p = 0,32$), en l'absence de diabète. PP est plus élevée en position accroupie qu'en position debout, chez les F diabétiques (56 vs 47 mmHg ; $p < 0,001$) comme chez les H diabétiques (62 vs 54 mmHg ; $p < 0,001$). L'incrément de PP de la position debout à la position accroupie est plus élevé chez les diabétiques que chez les témoins des deux sexes, surtout après 40 ans (G3-G4 : $\Delta = 10$ vs 6 mm Hg ; $p < 0,0001$ diabétiques vs témoins).

Discussion

L'augmentation de PP, plus rapide avec l'âge chez les patients diabétiques de type 1 que chez les témoins, traduit une rigidité artérielle précocement accrue en présence d'un diabète imparfaitement équilibré. Cet effet est davantage observé chez F que chez H, ce qui pourrait contribuer à la surmortalité cardiovasculaire en relation avec le diabète chez les femmes.

Conclusion

PP augmente de façon plus marquée entre 20 et 60 ans chez les patients diabétiques de type 1 que chez les témoins, phénomène surtout observé dans la population féminine et aggravé en position accroupie.



Remarquables corrélations entre le gain baroréflexe, le stress pulsatile et la présence d'une microalbuminurie dans la population diabétique de type 1.

AJ Scheen, M Marchand, JC Philips
Diabétologie, Centre Hospitalier Universitaire du Sart Tilman, Liège, Belgique.

Introduction : Les patients diabétiques de type 1 (DT1) sont exposés à un risque de neuropathie autonome cardiaque (NAC; marqueur classique : RR E/I ratio abaissé), de rigidité artérielle (augmentation de la pression pulsée ou PP) et de néphropathie (microalbuminurie ou μ A). Ce travail étudie les relations entre le gain baro-réflexe (GBR) mesuré dans un test d'orthostatisme, le « stress pulsatile » et la μ A chez des patients DT1.

Patients et méthodes : 67 patients DT1 âgés de 20 à 60 ans (81H/86F) ont eu une mesure de μ A et du RR E/I ratio lors d'une respiration forcée à 6 cycles/min; ils ont aussi subi un test postural (« squatting ») de 3x1min (debout- accroupi-debout), avec mesure continue de la pression artérielle (PA), de la PP et de la fréquence cardiaque (FC) et calcul d'un indice du stress pulsatile (PP x FC) et du GBR (pente de la relation linéaire entre les intervalles RR et la PA systolique) lors du redressement. Les patients ont été séparés en 2 sous-groupes en fonction de la médiane du RR E/I ratio ($>1,25$ vs $<1,25$) ou du GBR ($> 2,20$ vs $< 2,20$ bpm.mmHg-1).

Résultats : Comparés aux DT1 avec GBR élevé ($n = 82$; $4,51 \pm 2,31$ bpm.mmHg-1), les DT1 avec GBR bas ($n = 85$; $1,17 \pm 0,61$ bpm.mm Hg-1; $p < 0,00001$) ont un âge (42 vs 38 ans, NS) et une durée du diabète à peine accrue (21 vs 18 années; NS), seulement une tendance à un RR E/I ratio plus bas (1,25 vs 1,31; NS) et un taux d'HbA1c comparable (8,64 vs 8,64 %). Par contre, ils ont un index de stress pulsatile augmenté (5190 vs 4521 mmHg.min-1; $p = 0,0019$), surtout en position accroupie (5408 vs 4396 mmHg.min-1; $p < 0,0001$) suite à une élévation plus marquée de PP ($p = 0,0054$) et une réduction moindre de FC ($p = 0,0023$) lors de l'accroupissement. La μ A est plus élevée chez les DT1 avec GBR abaissé, quelle soit exprimée par la moyenne (59 ± 133 vs 10 ± 16 mg/l; $p = 0,0019$) ou par son logarithme ($1,14 \pm 0,67$ vs $0,76 \pm 0,42$; $p = 0,0001$) pour corriger pour une distribution non normale. Il existe une corrélation inverse entre le GBR et la μ A ($r = -0,28$; $p = 0,0006$) et entre le GBR et le stress pulsatile ($r = -0,28$; $p = 0,003$). Globalement, 26,9 % des DT1 avec GBR abaissé ont une μ A pathologique (> 30 mg/l) versus seulement 5,3 % chez les DT1 avec un GBR conservé ($p < 0,001$). Pareils résultats ne sont pas retrouvés de façon significative avec le simple RR E/I ratio

Conclusion : La mesure du GBR lors d'un test de « squatting » chez des patients DT1 permet de dépister les sujets avec augmentation du stress pulsatile et μ A pathologique, bien mieux que le simple RR E/I ratio, marqueur classique d'une NAC.

Diabetologia

Clinical and Experimental Diabetes and Metabolism

Journal of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)

Abstracts of the 47 th Annual Meeting of the EASD
Lisbon, Portugal, 12-16 september 2011

Decreased baroreflex gain more strongly predicts microalbuminuria and increased pulsatile stress than decreased RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes

A.J.L.Scheen, M.Marchand, J.-C.Philips;

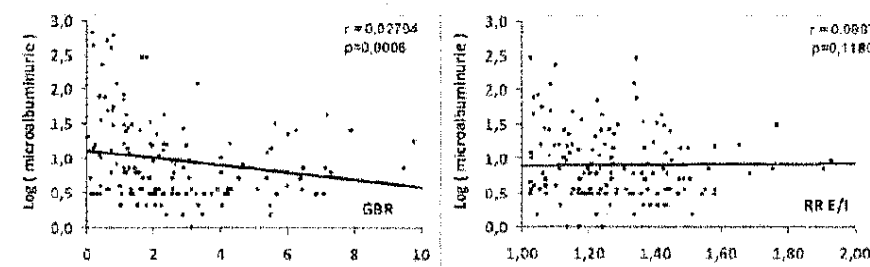
Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders, CHU Sart Tilman, Liege, Belgium.

Background and aims: Long-lasting type 1 diabetes (T1DM) may be associated with cardiac autonomic neuropathy (CAN), increased pulse pressure (PP) or pulsatile stress, and microalbuminuria (μ A), all cardiovascular risk factors. We compared the relationships of two markers of CAN, RR E/I (Expiratory/Inspiratory) ratio and baroreflex gain (BRG), with μ A and pulsatile stress during an active orthostatic test in patients with T1DM.

Materials and methods: 167 patients with T1DM (mean age 40 years, diabetes duration 20 years, body mass index 23.6 kg/m², HbA1c 8.64%), who had a measurement of μ A and RR E/I ratio during a deep breathing test, were submitted to a postural squat-stand test with a continuous noninvasive arterial blood pressure (BP) monitoring (Finapres®). The mirror changes in heart rate and systolic BP during the squat-stand transition allows the calculation of a so-called BRG (msec.mm Hg⁻¹), by plotting the pulse intervals (RR) against systolic BP values, as classically assessed during a pharmacological test using the infusion of a vasodilator and a vasopressor agent. Pulsatile stress was defined as the product of PP and heart rate, both during the whole test and during the squatting position only. The T1DM cohort was divided in two subgroups according to the median value of RR E/I ratio (>1.25 vs < 1.25) or of BRG (> 2.20 vs < 2.20 bpm.mmHg⁻¹).

Results: Compared to T1DM patients with high BRG (n = 82; 4.51±2.31 bpm.mmHg⁻¹), patients with low BRG (n = 85; 1.17±0.61 bpm.mm Hg⁻¹; p<0.00001) tended to be slightly older (42 vs 38 years, NS), to have a slightly longer duration of diabetes (21 vs 18 years; NS), and to have lower RR E/I ratio (1.25 vs 1.31; NS), but had similar recent HbA1c levels (8.64 vs 8.64 %). However, T1DM patients with low BRG had an increased pulsatile stress index (5190 vs 4521 mmHg.min⁻¹; p = 0.0019), especially in squatting position (5408 vs 4396 mmHg.min⁻¹; p<0.0001). Similarly, μ A was higher in T1DM patients with low BRG, being expressed by the mean level (59±133 vs 10±16 mg/l; p=0.0019) or by its logarithm to adjust for a non Gaussian distribution (1.14±0.67 vs 0.76±0.42; p=0.0001). There was an inverse correlation between BRG and log μ A (r=-0.28; p=0.0006), but not between RR E/I ratio and log μ A (r=0.09; p=0.12). All together, 26.9 % of T1DM patients with low BRG had abnormal μ A (\geq 30 mg/l) versus only 5.3 % of patients with high BRG (p< 0.001). Similarly, the correlation between BRG and pulsatile stress (r=-0.28; p=0.0003) was stronger than that between RR E/I ratio and pulsatile stress (r=-0.19; p=0.0153).

Conclusion: The calculation of BRG during a squat-stand test in subjects with T1DM allows to better detect patients with increased pulsatile stress and even more strongly patients with μ A than the classical RR E/I ratio CAN index. Decreased BRG may be used to detect T1DM patients at high risk of cardiorenal complications.



Supported by: Unrestricted grant from NovoNordisk Belgium



Baroreflex gain is more efficient than RR E/I ratio to detect progression of cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetes patients

Jean-Christophe Philips, Monique Marchand, André J. Scheen

University of Liège, Division of Diabetes, Nutrition and Metabolic Disorders,
Department of Medicine, CHU Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgium

Aims : The most widely used diagnostic test of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) in clinical practice is the RR E/I (expiratory/inspiratory) ratio during a deep breathing manoeuvre. We hypothesise that combined analysis of RR changes and blood pressure (BP) during an active orthostatic test, allowing the calculation of a baroreflex gain (BRG), would be more efficient to detect progression of CAN than measurement of RR E/I ratio in patients with type 1 diabetes (T1DM).

Methods : In this longitudinal study, 74 T1DM patients (39 men/35 women; mean age : 37 years; diabetes duration : 19 years, HbA1c : 8.6 %) were evaluated at two occasions, 79 ± 33 (range : 37-180) months apart. RR E/I ratio was evaluated during a 6 cycles/min breathing manoeuvre. Continuous non invasive arterial BP monitoring (Finapres®) was performed during a standardized 3x1min posture test (standing-squatting-standing). The mirror changes in heart rate and systolic BP during the squat-stand transition allow the calculation of BRG, by plotting pulse intervals (RR) against systolic BP values. Two other indices based on heart rate changes were derived from the squatting test : SqTv (vagal index), reflecting squatting-induced bradycardia, and SqTs (sympathetic index), reflecting standing-induced tachycardia. To assess the impact of glucose control on CAN progression, averaged HbA1c levels were calculated for each patient between the two evaluations.

Results : No significant change in RR E/I ratio was observed (from 1.28 ± 0.18 to 1.26 ± 0.27 ; $p=0.4566$) whereas a significant reduction in BRG was detected (from 3.34 ± 2.99 to 2.47 ± 2.08 ; $p=0.0022$). SqTv (from 0.85 ± 0.12 to 0.87 ± 0.22 ; $p=0.5687$) and SqTs (from 1.16 ± 0.14 to 1.18 ± 0.21 ; $p=0.4656$) remained almost unchanged. Reduction in BRG was similar in men (from 3.87 ± 2.98 to 2.77 ± 2.22 ; $p=0.0257$) and in women (from 2.91 ± 2.85 to 2.02 ± 1.81 ; $p=0.0406$). In univariate analysis, BRG changes were not correlated with between-test time interval ($r=0.15$; $p=0.22$), duration of T1DM before the first evaluation ($r=-0.04$; $p=0.72$) and average HbA1c levels between the two tests ($r=0.01$; $p=0.91$).

Discussion/Conclusion : Significant reduction of BRG could be detected after 6-7 years of inadequate glycaemic control in T1DM patients, even after 20 years of diabetes, whereas no significant changes were noticed regarding other markers of CAN, only based on changes of RR intervals, supporting the use of BRG to investigate CAN progression.



Société
Française
de Cardiologie

31^{èmes} Journées
de l'hypertension artérielle



Société Française
d'Hypertension Artérielle

15 -16 décembre 2011

Palais des Congrès de Paris

archives des maladies

ISSN 1261-694X

du
CŒUR
et des
Vaisseaux
pratique

HORS-SERIE 3 – Décembre 2011
CO-58

RELATIONS ENTRE GAIN BARO-REFLEXE ET STRESS PULSATILE CHEZ LE PATIENT DIABÉTIQUE DE TYPE 1

André J. Scheen, Monique Marchand, Jean-Christophe Philips (1)

(1) Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques, CHU Sart Tilman, Université de Liège, Liège, Belgique.

Objectifs :

Le patient diabétique de type 1 (DT1) est exposé à un risque accru de neuropathie autonome cardiovasculaire (NAC) et de rigidité artérielle responsable d'une augmentation de la pression pulsée (PP). Le but du travail est d'étudier les relations entre la NAC (évaluée par le gain baro-réflexe ou GBR) et la rigidité artérielle (évaluée par le stress pulsatile ou SP) chez le patient DT1.

Méthodes :

Dans une étude transversale, GBR et SP ont été mesurés chez 167 patients DT1 soumis à un enregistrement continu de la pression artérielle (PA) et de la fréquence cardiaque (FC) lors d'un test postural standardisé (1min debout – 1min accroupi – 1min debout) et chez 160 sujets témoins appariés. GBR (msec/mmHg) a été calculé par la pente de la relation entre les espaces R-R et la PA systolique lors du redressement. SP (mmHg/min) a été calculé par le produit PPxFC durant les 3 min du test et en position accroupie. Dans une étude longitudinale, GBR et SP ont été évalués avant et après un suivi moyen de 79±33 mois chez 74 patients (37 ans à l'inclusion, 19 années de DT1, HbA1c moyenne entre les deux tests : 8.6±1.5%).

Résultats :

Dans l'étude transversale, GBR (2,76±2,34 versus 3,81±2,98; p<0,0005) et SP (4862±1408 versus 4229±1045; p<0,0001) sont, respectivement, diminué et augmenté chez les DT1 par rapport aux témoins, avec une corrélation significative entre GBR et SP (r=-0,28; p=0,0003). Les DT1 avec un BRG abaissé (n=85; 1,17±0,61) ont un SP accru (5190 vs 4521; p=0,0019), et davantage encore en position accroupie (5408 vs 4396; p<0,0001), par comparaison aux DT1 avec un GBR élevé (n=82; 4,51±2,31). Dans l'étude longitudinale, une réduction significative du GBR est observée (de 3,34±2,99 à 2,47±2,08; p=0,0022), mais sans augmentation significative de SP (total : 4724±1570 à 4899±1422; p=0,40; accroupi : de 4693±1685 à 4969±1515 ; p=0,29). En analyse univariée, les variations du GBR ne sont pas corrélées significativement avec le délai entre les deux mesures (p=0,22), la durée du DT1 (p=0,72) et le taux moyen d'HbA1c (p=0,91), mais bien avec les variations de SP (r=-0,43 ; p=0,0003).

Conclusion :

Chez le patient DT1, GBR est diminué et SP est augmenté par rapport à une population témoin appariée pour l'âge. Il existe une corrélation entre les marqueurs de la NAC et de la rigidité artérielle, mais GBR semble se détériorer plus rapidement que SP chez le patient DT1 de la quarantaine imparfaitement équilibré.