

Os Efeitos da Metformina sobre a Dispersão do Intervalo QT e QTc de Ratos Diabéticos

Effects of Metformin on QT and QTc Interval Dispersion of Diabetic Rats

Eunice Cristina da Silva Costa, Antonio Ari Gonçalves, Miguel Arcanjo Areas, Rafael Gustavo Birochi Morgabel

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: Diversos fármacos podem causar aumento do intervalo QT, bem como da sua dispersão (QTd) em registros eletrocardiográficos (ECG). O QTd pode ser um marcador potencialmente sensível ao aumento do risco de arritmias cardíacas e morte súbita cardíaca. Metformina é uma substância de eficácia anti-hiperglicêmica utilizada no tratamento do diabetes. Entretanto, estudos têm relacionado efeitos dose-dependentes da metformina sobre a glicemia e marcadores de riscos cardiovasculares.

Objetivo: Avaliar os efeitos dose-resposta da metformina sobre o QT e QTd de ratos diabéticos.

Métodos: Ratos Wistar machos foram distribuídos em cinco grupos: controle não-tratado (C), diabético não-tratado (D), diabéticos tratados com metformina nas doses 3,5, 30 e 74 µg/kg/pc (DM 3,5, DM 30 e DM 74). O diabetes foi induzido por uma injeção de aloxana (40 mg/kg, i.v.). O ECG foi registrado (1º, 15º e 30º dias) através de quatro eletrodos inseridos na camada subcutânea das patas. Ambos os intervalos, RR e QT, foram medidos, e então os valores do QT corrigido e da dispersão de QT foram calculados.

Resultados: Os grupos DM 3,5 e DM 30 mostraram significativa redução da glicemia ($p < 0,05$) quando comparados à alta dose (DM 74). Ratos do grupo DM 74 apresentaram aumento dos intervalos QTc, QTd e QTcd, enquanto os ratos dos grupos DM 3,5 e DM 30 apresentaram menor prolongamento desses intervalos.

Conclusão: A metformina em altas doses proporcionou maior dispersão do intervalo QT, em razão, provavelmente, do aumento da não-homogeneidade do processo de repolarização ventricular, enquanto em baixas doses houve diminuição do intervalo QT em ratos diabéticos. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(4): 254-260)

Palavras-chave: Diabetes melito experimental, eletrocardiografia, metformina.

Summary

Background: Several drugs can cause prolonged QT interval, as well as prolonged QT dispersion (QTd) in electrocardiographic (EKG) recordings. QTd may be a potentially sensitive marker of increased risk of cardiac arrhythmias and sudden cardiac death. Metformin is an effective antihyperglycemic agent used in the treatment of diabetes. However, studies have correlated dose-dependent effects of metformin on glycemia and cardiovascular risk markers.

Objective: To evaluate the dose-response effects of metformin on QT and QTd of diabetic rats.

Methods: Male Wistar rats were distributed in five groups: non-treated control (C), non-treated diabetics (D), diabetics treated with metformin at the doses of 3.5, 30 and 74 µg/kg/bw (DM 3.5, DM 30 and DM 74). Diabetes was induced by an alloxan injection (40 mg/kg, IV). EKG was recorded (days 1, 15 and 30) using four electrodes inserted into the subcutaneous layer of the paws. Both RR and QT intervals were measured, and then corrected QT and QT dispersion values were calculated.

Results: The DM 3.5 and DM 30 groups showed a significant reduction of glycemia ($p < 0.05$) when compared with the high dose (DM 74). Rats of the DM 74 group presented prolonged QTc, QTd and QTcd intervals, whereas rats of the DM 3.5 and DM 30 groups presented less prolonged intervals.

Conclusion: Metformin at high doses provided greater dispersion of the QT interval probably because of the increased ventricular repolarization inhomogeneity, whereas at low doses decreased QT intervals were observed in diabetic rats. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(4): 232-238)

Key words: Diabetes mellitus, experimental; electrocardiography; metformin.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Eunice Cristina da Silva Costa •

Rua Izabel Negrão Bertotti, 30/102-B - Mansões Santo Antônio - 13087-508 - Campinas, SP - Brasil

E-mail: nicrisilva@uol.com.br

Artigo recebido em 13/08/2007; revisado recebido em 31/10/2007; aceito em 19/11/2007.

Introdução

O diabetes é uma desordem metabólica caracterizada pelo aumento da glicemia, decorrente de alterações no metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos, resultante de secreção deficiente ou de resistência periférica à insulina. Essas alterações aumentam a tendência ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e neuropatias, as quais representam uma das maiores causas de morte de pacientes^{1,2}. As alterações promovidas no metabolismo de carboidratos e de lipídeos e mudanças eletrolíticas de cálcio e potássio no sangue podem causar modificações na estrutura e fisiologia cardiovascular, que, por sua vez, alteram o registro do eletrocardiograma^{3,4}.

O eletrocardiograma (ECG) é um dos métodos mais importantes no diagnóstico de cardiopatias⁵. Dependendo da extensão e das áreas lesadas, a propagação do potencial de ação no músculo cardíaco altera as ondas do ECG e os respectivos intervalos.

Entre as principais alterações observadas, encontra-se o aumento do intervalo QT, também chamado síndrome do QT longo (LQTS). A LQTS pode ter origem congênita, quando ocorrem anormalidades nos canais de sódio ou potássio, ou adquirida, em razão do uso de medicamentos, anormalidades elétricas ou distúrbios metabólicos. O intervalo QT corresponde ao tempo necessário para a completa excitação elétrica e a recuperação dos ventrículos, sendo, portanto, a medida da duração da sístole "elétrica", a qual inclui a despolarização e a repolarização ventricular, ou seja, é a duração total da atividade elétrica ventricular⁶. O intervalo QT varia inversamente com a frequência cardíaca (FC), de modo que quanto maior a FC, menor o QT, e vice-versa. Assim, ele deve ser corrigido em relação à FC, gerando o QTc, que é preferencialmente usado⁷. Outros parâmetros a serem avaliados são a dispersão do QT e do QTc (QTd e QTcd, respectivamente). Esta seria provocada por tempos de repolarização não-homogêneos, sendo definida como a diferença entre o QT máximo e o mínimo nas doze derivações eletrocardiográficas⁸. A análise da dispersão do QT é um método não-invasivo para detecção da heterogeneidade da repolarização ventricular, sendo um marcador de arritmogênese⁹. Além disso, há estudos associando o aumento desse intervalo a um maior risco de morte súbita^{10,11} e como índice prognóstico na insuficiência cardíaca e na cardiomiopatia hipertrófica^{8,12}. Em diabéticos, o aumento do intervalo QT é considerado precursor de aumento do risco de morte súbita¹³.

Medicamentos, dependendo de sua dosagem, podem prolongar a duração do potencial de ação ventricular e o intervalo QT por meio de diferentes mecanismos iônicos.

A biguanida metformina é um agente anti-hiperglicemiante usado para diminuir a glicemia e conseqüentemente melhorar o perfil metabólico. Ela reduz os níveis de glicose sanguínea pela inibição da gliconeogênese e, na presença de insulina, estimula a captação de glicose periférica pelos tecidos, principalmente músculos esqueléticos, e diminui a absorção de glicose pelo trato gastrointestinal. Seu efeito direto sobre as células β ainda é caso de debate. A metformina não causa hipoglicemia, mas reduz os níveis de hemoglobina glicosilada e melhora o perfil lipídico e a atividade fibrinolítica^{14,15}.

Apesar dos efeitos benéficos da metformina, estudos

demonstram que o uso de altas doses de metformina não diminui a hiperglicemia e aumenta os riscos cardiovasculares¹⁶⁻²⁰.

Distúrbios gastrointestinais, como diarreia, são freqüentes, e a absorção intestinal de vitaminas B, especialmente folato, é reduzida durante terapia crônica. Frequentemente, essa deficiência aumenta os níveis plasmáticos de homocisteína, que acelera a progressão de doença vascular por causa do efeito adverso sobre os vasos sangüíneos, fatores de coagulação e endotélio. Um estudo verificou que há associação entre os níveis elevados de homocisteína e o índice geral de mortalidade em pacientes com doença aterogênica¹⁵.

Em algumas circunstâncias, a metformina pode induzir acidose láctica especialmente em pacientes clinicamente predispostos a esta complicação, como falência cardíaca ou infarto do miocárdio¹⁵.

Além disso, resultados preliminares (não publicados) mostraram que altas doses de metformina, como as recomendadas a pacientes humanos, promoveram grande aumento de glicogênio cardíaco em ratos aloxanizados, enquanto em baixas doses esse aumento foi menor. Nos diabéticos, o aumento da concentração de glicogênio no ventrículo aparentemente está associado à gravidade do diabetes e torna o coração mais suscetível aos efeitos da isquemia^{21,22}, além de causar inadequado funcionamento do coração, pois seu acúmulo no tecido condutor é a causa de disfunção dos nodos sinusal e atrioventricular²³.

Com base nesses achados, investigamos os efeitos de baixas e altas doses de metformina sobre a glicemia e o intervalo QT e suas derivadas QTc, QTd, e QTcd de ratos diabéticos por aloxana.

Métodos Animais

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados ratos machos, albinos, Wistar, com idade de 10 semanas, fornecidos pelo Centro de Biotério da Unicamp. Os ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica, sendo adaptados durante duas semanas. Os ratos são alimentados com ração (Purina para roedores) e água *ad libitum* em ciclo fotoperiódico de 12 h claro e 12 h escuro, a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. O Comitê de Ética em Experimentação Animal da Unicamp aprovou o protocolo experimental sob o número 262-1.

Indução do diabetes

Antes que o diabetes melito fosse induzido, os ratos foram mantidos sob jejum de 24 horas, com livre acesso a água. Após serem anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso corporal), os ratos receberam uma injeção de aloxana em salina (40 mg/kg/pc, i.v., pH 4,5, Sigma[®])^{24,25}. O estabelecimento do diabetes foi verificado pela presença de glicose na urina, no dia seguinte.

Tratamento com metformina e grupos

Após indução do diabetes, o tratamento foi iniciado. Os ratos dos grupos tratados receberam metformina (Lipha, Lion, França) diluída na água de beber (3,5, 30 e 74 $\mu\text{g/g/pc}$) durante 30 dias, formando os seguintes grupos: controle (C;

n = 5); diabetes (D; n = 6); diabetes metformina [3,5 µg/g/pc] (DM3.5; n = 8); diabetes metformina [30 µg/g/pc] (DM30; n = 7); diabetes metformina [74 µg/g/pc] (DM74; n = 8).

Eletrocardiograma

Ratos anestesiados (Pentobarbital sódico, 40 mg/kg/pc) foram mantidos em posição supina e com respiração espontânea para registrar o ECG. Os eletrodos foram conectados aos canais do computador (*Heart Ware System*) e registradas 6 ondas padrão (I, II, III, aVR, aVL e aVF) com sensibilidade 2N e velocidade de 50 mm/segundo. O intervalo QT foi medido em três batimentos consecutivos, do início do complexo QRS ao ponto de retorno da onda T à linha isoeletrica, definido como segmento TP²⁶. O QTd foi calculado em valores absolutos, subtraindo o intervalo QT mais curto do mais longo (QT = QT Max - QTmin). Esse valor foi convertido em porcentual (%QTd) pela correção do QTd pelo intervalo QT mais curto e multiplicando este valor por 100 (%QTd = QTmax - QTmin/QTmin x 100). O intervalo QT foi corrigido pela frequência cardíaca usando a fórmula de Bazett (QTc = QT/√R-R) e posteriormente foi calculada a dispersão do intervalo QTc, subtraindo o intervalo QTc mais curto do QTc mais longo (QTcd = QTcmax - QTcmin). O porcentual de QTcd foi calculado também (%QTcd = Qtcmax - Qtcmin/ Qtcmin x 100). As análises foram feitas por um observador único e sem conhecimento prévio dos tratamentos aos quais os animais foram submetidos, para minimizar as divergências na medida da dispersão.

Determinação da glicose plasmática, Na⁺, K⁺ e Ca²⁺

A glicose plasmática foi determinada pelo método da glicose oxidase, usando *kit* comercial (Laborlab, São Paulo, SP-Brazil). O Na⁺ e o K⁺ foram determinados pelo método de eletrodo íon seletivo (Roche®). O cálcio sérico total foi

medido pelo método colorimétrico com cresolftaleína (o-cresolftaleine complexone - Roche®)²⁷, utilizando-se analisador automático (Hitachi®).

Estatística

Os resultados foram relatados como média ± DPM. A avaliação dos dados foi feita por meio da análise de variância por dois fatores, seguida do teste de Tukey. Foram considerados significativos os valores cujas diferenças foram demonstradas menores que 5%.

Resultados

Efeitos da metformina sobre a glicose sanguínea

Os níveis de glicose sanguínea não diferiram entre os ratos de todos os grupos no início do período experimental (primeiro dia). No final do experimento, níveis similares foram observados em ratos do grupo controle.

A administração de aloxana induziu uma hiperglicemia severa no 15º dia que foi mantida até o 30º dia em ratos do grupo D (563 ± 61 mg/dl, p < 0,001; comparado com a glicemia antes da administração de aloxana). Os ratos que receberam diariamente doses de 3,5 (DM3.5) e 30 (DM30) mg/kg de metformina mostraram menor nível de glicemia no 15º (381 ± 37 e 360 ± 14, respectivamente) e 30º dias de tratamento quando comparados com ratos do grupo diabético controle. A administração de 74 mg/kg de metformina reduziu marginalmente a glicose sanguínea após 30 dias em comparação aos ratos diabéticos controle (p > 0,05) (fig. 1).

Efeitos da metformina sobre o ECG

A figura 2 (A, B, C e D) indica que os intervalos QT (2A) e QTc (B), bem como suas derivadas QTd (2C) e QTcd (2D),

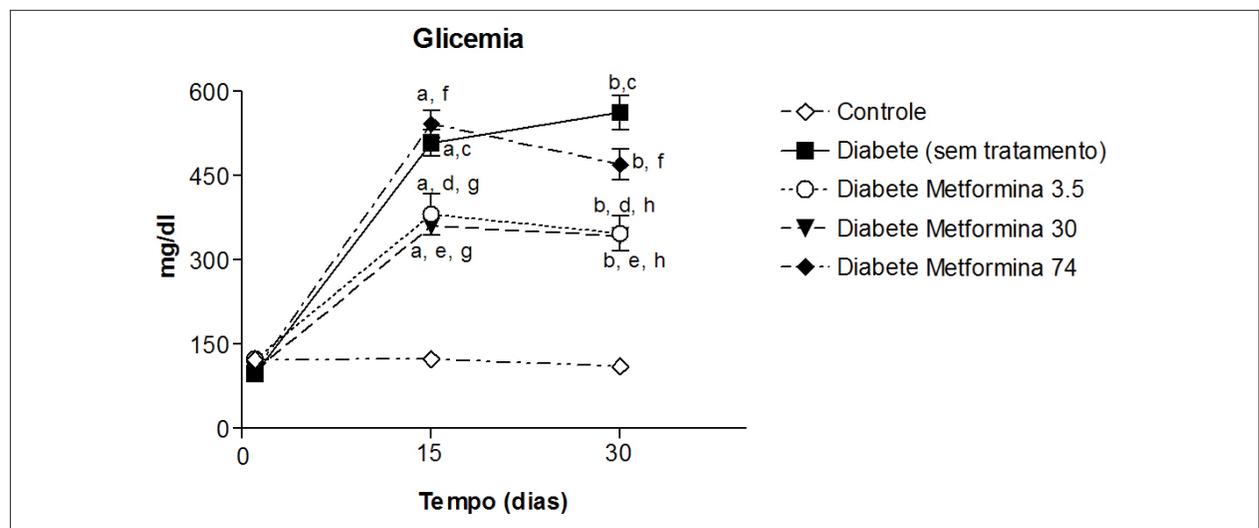


Fig. 1 - Mudanças na glicemia (mg/dl) em ratos após indução de aloxana e após 15 e 30 dias de tratamento com metformina em baixas doses (3,5 µg/g/pc), em doses intermediárias (30 µg/g/pc) e altas doses (74 µg/g/pc). Dados representam a média ± DPM. a - significativamente diferente do grupo controle no 15º dia do período experimental (p < 0,05); b - significativamente diferente do grupo controle no 30º dia do período experimental (p < 0,05); c - significativamente diferente do grupo diabetes (sem tratamento) no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); d - significativamente diferente do grupo diabetes metformina 3,5 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); e - significativamente diferente do grupo diabetes metformina 30 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); f - significativamente diferente do grupo diabetes metformina 74 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); g - significativamente diferente do grupo diabetes (sem tratamento) no 15º dia do período experimental (p < 0,05); h - significativamente diferente do grupo diabetes (sem tratamento) no 30º dia do período experimental (p < 0,05).

Artigo Original

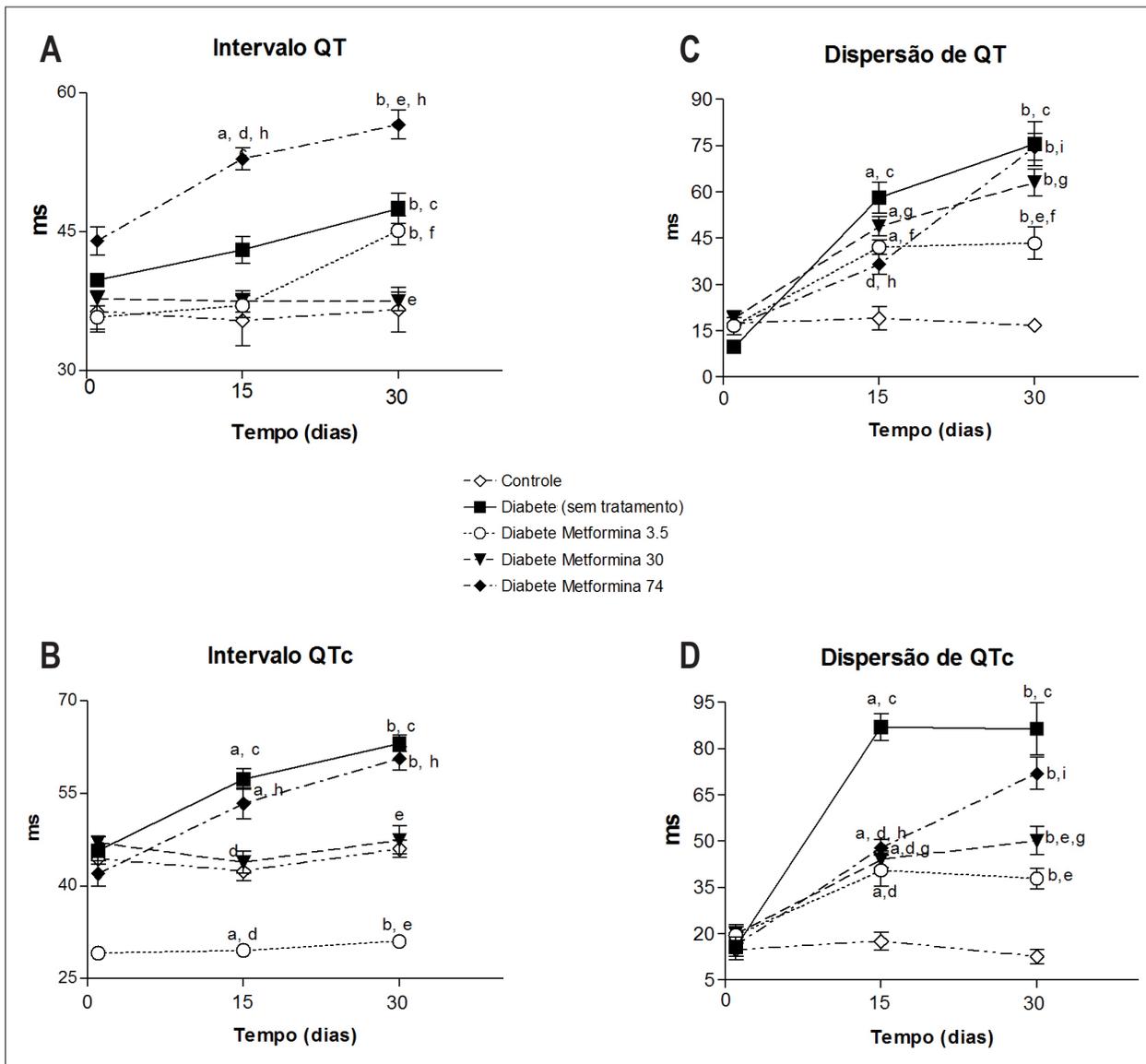


Fig. 2 A, B, C, D - Mudanças nos intervalos QT, QTc, QTd, QTcd (ms) em ratos após indução de aloxana e após 15 e 30 dias de tratamento com metformina em doses baixas (3,5 µg/g/pc), em doses intermediárias (30 µg/g/pc) e doses altas (74 µg/g/pc). Dados representam a média ± DPM. a - significativamente diferente do grupo controle no 15º dia do período experimental (p < 0,05); b - significativamente diferente do grupo controle no 30º dia do período experimental (p < 0,05); c - significativamente diferente do grupo diabete (sem tratamento) no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); d - significativamente diferente do grupo diabete (sem tratamento) no 15º dia do período experimental (p < 0,05); e - significativamente diferente do grupo diabete (sem tratamento) no 30º dia do período experimental (p < 0,05); f - significativamente diferente do grupo diabete metformina 3,5 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); g - significativamente diferente do grupo diabete metformina 30 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); h - significativamente diferente do grupo diabete metformina 74 no primeiro dia do período experimental (p < 0,05); i - significativamente diferente do grupo diabete metformina 74 no 15º dia do período experimental (p < 0,05).

foram semelhantes no início do período experimental. Em ratos diabéticos, esses intervalos aumentaram 15 dias após a administração de aloxana e se mantiveram semelhante após 30 dias. No 15º e 30º dias, o intervalo QT de ratos diabéticos tratados com 3,5 e 30 mg/kg foi semelhante ao observado no grupo controle não-diabético, mas foi significativamente maior em ratos tratados com 74 mg/kg de metformina. O intervalo QTc de ratos tratados com doses menores de metformina (3,5 e 30 mg/kg) foi maior do que

o observado em ratos do grupo controle (não-diabético) 15 e 30 dias após administração de aloxana. Entretanto, foi significativamente menor do que os valores observados em diabéticos (sem tratamento) e diabéticos tratados com altas doses de metformina (74 mg/kg). Apenas metformina em doses menores (3,5 e 30 mg/kg) diminuiu a dispersão de QT e QTc quando comparados ao grupo de diabéticos não-tratados. Entretanto, essas diferenças ficaram mais claras após 30 dias de tratamento.

Efeitos do tratamento com metformina sobre a concentração iônica no soro

A tabela 1 mostra que houve diminuição da concentração de K^+ no soro de ratos diabéticos (não-tratados) quando comparados ao grupo controle (não-diabético).

A tabela 1 também mostra que houve aumento da concentração de Ca^{2+} apenas no grupo tratado com metformina em altas doses. Os demais parâmetros não sofreram modificações.

Discussão

O diabetes tipo 2 é caracterizado por alterações no metabolismo de glicose e gordura, por causa, em parte, da resistência da ação da insulina nos tecidos periféricos. A ausência de tratamento pode levar a várias complicações, como o aumento de risco cardiovascular^{1,2}.

A biguanida metformina é um anti-hiperglicemiante usado no tratamento de diabéticos tipo 2. Entretanto, o mecanismo de ação da metformina ainda é obscuro.

Estudos mostraram que a metformina ativa a AMPK proteína quinase ativada (AMPK) em hepatócitos e músculo esquelético de ratos²⁸. Recentes pesquisas indicam que a AMPK desempenha um papel na regulação do metabolismo de glicose e lipídeos. A AMPK é uma enzima que promove a disponibilização de energia, sendo ativada pela contração do músculo esquelético e durante isquemia miocárdica, e está envolvida na estimulação do transporte de glicose e na oxidação de ácidos graxos. No fígado, a ativação da AMPK resulta em aumento da oxidação de ácidos graxos e diminuição da produção de glicose, colesterol e triglicerídeos²⁹. Esse efeito contribui para a diminuição da glicemia, melhora o perfil metabólico e provoca o aumento de glicogênio no fígado e nos músculos, além de promover benefícios ao perfil lipídico sanguíneo^{30,31}.

Outros estudos, entretanto, indicaram que, em animais diabéticos, altas doses de metformina não reduziram a hiperglicemia, podendo, ainda, aumentar os riscos cardiovasculares¹⁶⁻²⁰.

Tabela 1 - Efeitos do tratamento com metformina em baixas doses (3,5 µg/g/pc), em intermediárias doses (30 µg/g/pc) e altas doses (74 µg/g/pc) sobre as concentrações de potássio (mEq/l), sódio (mEq/l) e cálcio (mg/dl) no soro. Dados representam a média ± DPM

Grupos	Sódio	Potássio	Cálcio
Controle	140 ± 1,08	4,80 ± 0,06	7,05 ± 0,33
Diabete	127 ± 2,4	4,00 ± 0,11a	6,80 ± 0,18
DM 3,5	136 ± 2,8	4,73 ± 0,03	7,10 ± 0,30
DM 30	137 ± 1	4,92 ± 0,08	6,64 ± 0,52
DM 74	134 ± 1,4	4,80 ± 0,10	8,76 ± 0,30a, b,c,d

a - significativamente diferente do grupo controle (n = 4) no 30º dia do período experimental (p < 0,05); b - significativamente diferente do grupo diabete (sem tratamento) (n = 4) no 30º dia do período experimental (p < 0,05); c - significativamente diferente do grupo diabete metformina 3,5 (n = 5) no 30º dia do período experimental (p < 0,05); d - significativamente diferente do grupo diabete metformina 30 (n = 5) no 30º dia do período experimental (p < 0,05).

Nossos resultados (fig. 1) mostram que a metformina, em altas doses, equivalente à recomendada a pacientes diabéticos (74 µg/g/pc) não diminuiu a glicemia em ratos diabéticos, ao passo que, em doses baixas (3,5 µg/g/pc) e intermediárias (30 µg/g/pc), ela reduziu significativamente a glicemia, quando comparados com ratos diabéticos sem tratamento. Entretanto, a redução da glicemia induzida por baixas doses de metformina não foi suficiente para normalizar os níveis glicêmicos.

A ineficácia de altas doses de metformina em diminuir a glicemia pode ter sido provocada pela redução da responsividade das células β à glicose. Um estudo *in vitro* com células β mostrou que a metformina, em altas doses (1 mM) e exposição prolongada (24 horas), ativou a AMPK e inibiu, assim, parcialmente a síntese e liberação de insulina nas células β, o que causou a redução de sua responsividade à glicose³².

Além disso, foi observado que a metformina, em doses terapêuticas, estimulou a atividade da tirosina quinase da subunidade β na porção intracelular do seu receptor. Entretanto, altas doses de metformina inibiram a atividade da tirosina quinase e, conseqüentemente, a ação da insulina³³.

O diabetes, *per se*, causa mudanças na MAP quinase e nos transportadores de glicose. A elevação das correntes de K^+ em células ventriculares depende da ativação da MAP quinase, o que reflete na síntese de novos canais. A diminuição de insulina em diabéticos, provavelmente, leva a uma diminuição da corrente de K^+ no epicárdio, causando aumento da duração do potencial de ação cardíaco³⁴.

As alterações promovidas no metabolismo de carboidratos e de lipídeos e nas concentrações dos eletrólitos podem causar modificações na estrutura e na fisiologia cardiovascular, as quais podem ser registradas no eletrocardiograma. Um dos problemas mais comumente detectados em diabéticos é o aumento do intervalo QT e suas derivadas QTc, QTd e QTcd. Esse fato se deve ao retardo na despolarização e/ou na repolarização do potencial de ação cardíaco, provocando o aumento do risco de arritmias e de morte súbita³⁵.

Apesar de o intervalo QT ser utilizado como um meio não-invasivo para identificar risco de desenvolver arritmias ventriculares malignas e morte súbita, de fato espera-se que haja imperfeições no sistema proposto. O ideal na utilização da fórmula $QT \max - QT \min$ é obter um ECG de 12 derivações com uma onda T bem definida em cada derivação³⁶. Em nosso estudo, este foi um fator limitante, em razão de apenas podermos registrar 6 derivações em ratos, conforme metodologia aplicada por outros autores³⁷. Além disso, em diversas situações foi impossível detectar o final da onda T. Nesta situação, a metodologia indica que o mais adequado é excluir esse intervalo da análise³⁶, tal como efetuamos em nossos resultados. Entretanto, apesar dessas limitações, algumas medidas foram tomadas para minimizar as divergências na medida da dispersão. Houve utilização do mesmo eletrodo em todos os registros eletrocardiográficos, bem como padronização do local colocado, e a realização do ECG foi sempre pela manhã para diminuirmos os possíveis efeitos do ritmo circadiano. Além disso, um único observador analisou o intervalo QT em três batimentos consecutivos para diminuir erros de contagem²⁶.

Artigo Original

Após determinação dos valores, não houve diferença estatística entre os resultados calculados.

Assim, apesar dos fatores limitantes do estudo, a figura 2 (B, C e D) mostra que os intervalos QTc, QTd e QTcd aumentaram em ratos diabéticos aloxanizados.

As causas do aumento do intervalo são desconhecidas. Entretanto, essa alteração observada em eletrocardiograma pode ser explicada em razão da mais comum manifestação clínica do diabetes melito, a poliúria³⁸. A poliúria observada em diabéticos é tradicionalmente atribuída à diurese osmótica secundária ao aumento da glicemia (glicosúria)³⁷. A excessiva perda urinária causa diminuição de potássio³⁹ que pode ser responsável pelo aumento do período de repolarização da membrana⁴⁰, com resultante aumento do intervalo QT. A tabela 1 mostra que houve diminuição concentrações de K⁺ no soro de ratos do grupo diabetes.

O aumento da dispersão do intervalo QT pode também ser resultante de alterações nos canais de K⁺ voltagem dependentes⁴¹. De fato, o diabetes pode alterar a magnitude dos canais de K⁺ envolvidos no processo de repolarização da membrana dos cardiomiócitos³⁴, afetando, então, o tecido cardíaco.

O tratamento de ratos diabéticos com altas doses de metformina (74 µg/g) causou aumento do QT e suas derivadas (QTd, QTc, QTcd), no 15^o e 30^o dias do período experimental (fig. 2 A-D).

Esse aumento pode ser decorrente da hipercalcemia observada nesse grupo (tab. 1), uma vez que o aumento da concentração do cálcio diminui a velocidade de condução ventricular e encurta o período refratário efetivo, podendo causar arritmias⁴².

Fatores não avaliados neste estudo, entretanto, também podem ter contribuído para o aumento do intervalo QT. A atividade persistente da AMPK, como ocorre durante o tratamento com metformina em altas doses, pode promover mutação no PRKAG2, o gene γ2 da subunidade reguladora da proteína quinase AMP-ativada. Essa mutação pode aumentar a captação de glicose pela estimulação da translocação de transportadores de glicose GLUT-4 para a membrana plasmática e elevar a atividade da hexoquinase, levando ao acúmulo de glicogênio que pode causar disfunção no nodo sinusal e atrioventricular^{22,24}.

Além disso, a ativação da AMPK também promove aumento da glicólise e da oxidação de ácidos graxos em cardiomiócitos de uma maneira dose-dependente. O aumento da oxidação de ácidos graxos inibe a oxidação de glicose, e a acetil-coA produzida pode inibir o complexo piruvato-desidrogenase, limitando, assim, a oxidação de

piruvato. Esses eventos levam ao aumento da glicólise, e, nessa situação, os prótons e o lactato produzidos se acumulam, o que provoca diminuição do pH, sobrecarga de cálcio intracelular e conseqüente morte celular, reduzindo, assim, a capacidade funcional cardíaca¹⁶.

Em doses baixas e intermediárias, a metformina, no entanto, diminuiu o intervalo QT e suas derivadas, sugerindo que houve melhora na condução elétrica ventricular. Além disso, os eletrólitos do soro (cálcio, potássio e sódio), que são outros fatores que podem alterar a condutividade elétrica, não sofreram alterações nesses grupos.

Assim, como em outros estudos, pode ser questionado se realmente a dispersão do QTc oferece uma medida mais precisa e segura do que a medida isolada do QTc como marcador de risco cardiovascular, ou se é meramente mais uma medida de precisão a ser adicionada ao arsenal clínico de acesso ao risco cardiovascular. Independentemente desse questionamento, conclui-se que sua determinação, por ser simples e de relativo baixo custo, é importante para estudar a influência de drogas sobre parâmetros cardiovasculares. Pelas limitações na metodologia utilizada neste trabalho, os resultados e comentários aqui apresentados baseiam-se somente em dados obtidos nas nossas condições experimentais, para não se incorrer no risco de extrapolações que não sejam pertinentes.

Conclusão

O aumento significativo da dispersão do intervalo QT foi observado com altas doses de metformina. Doses baixas e intermediárias de metformina diminuíram a dispersão do intervalo QT.

Agradecimentos

Agradecemos a assistência do CNPq e do Grupo Lipha, Lion, França pelo fornecimento de metformina.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo CNPQ.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Eunice Cristina da Silva Costa pela Universidade Estadual de Campinas.

Referências

1. Paulson D. The diabetic heart is more sensitive to ischemic injury. *Cardiovasc Res.* 1997; 34: 104-12.
2. Balkau B, Hu C, Qiao Q, Tuomilehto J, Borch-Johnsen K, Pyorala K. Prediction of the risk of cardiovascular mortality using a score that includes glucose as a risk factor. *Diabetologia.* 2004; 47 (12): 2118-28.
3. Tomaselli GF, Beuckelmann DJ, Calkins HG, Berger RD, Kessler PD, Lawrence JH, et al. Sudden cardiac death in heart failure: the role of abnormal repolarization. *Circulation.* 1994; 90: 2534-9.

4. Pye MP, Cobbe SM. Mechanism of ventricular arrhythmias in cardiac failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 1992; 26: 740-50.
5. Sgarbossa EB, Barold SS, Pinski SL, Wagner GS, Pahlm O. Twelve-lead electrocardiogram: the advantages of an elderly frontal lead display including lead-AVR. *J Electrocardiol.* 2004; 37 (3): 141-7.
6. Rocha e Silva M. As bases fisiológicas da eletrocardiografia. In: Aires MM. *Fisiologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
7. Arildsen H, May O, Christiansen EH, Damsgaard EM. Increased QT dispersion in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Cardiol.* 1999; 71: 235-42.
8. Day CP, McComb JM, Campbell RW. QT dispersion: an indication of arrhythmia risk in patients with long QT intervals. *Br Heart J.* 1990; 63: 342-4.
9. Shimoni Y, Severson D, Giles W. Thyroid status and diabetes modulate regional differences in potassium currents in rat ventricle. *J Physiol.* 1995; 488 (Pt 3): 673-88.
10. Sawicki PT, Kiwitt S, Bender R, Berger M. The value of QT interval dispersion for identification of total mortality risk in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Intern Med.* 1998; 243: 49-56.
11. Christensen PK, Gall MA, Major-Pedersen A, Sato A, Rossing P, Breum L, et al. QTc interval length and QT dispersion as predictors of mortality in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Scand J Clin Lab Invest.* 2000; 60: 323-32.
12. Dristas A, Gilligan D, Nihoyannopoulos P, Oakley CM. Amiodarone reduces QT dispersion in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 1992; 36: 345-9.
13. Brown DW, Giles WH, Greenlund KJ, Valdez R, Croft JB. Impaired fasting glucose, diabetes mellitus and cardiovascular disease risk factors are associated with prolonged QTc duration: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Cardiovasc Risk.* 2001; 8: 227-33.
14. Bailey CJ. Insulin resistance and antidiabetic drugs. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58: 1511-20.
15. Fisman EZ, Tenenbaum A, Motro M, Adler Y. Oral antidiabetic therapy in patients with heart disease. *Herz.* 2004; 29: 290-8.
16. An D, Kewalramani G, Chan JK, Qi D, Ghosh S, Pulinilkunnil T, et al. Metformin influences cardiomyocyte cell death by pathways that are dependent and independent of caspase-3. *Diabetologia.* 2006; 49 (9): 2174-84.
17. Fisman EZ, Tenenbaum A, Benderly M, Goldbourt U, Behar S, Motro M. Antihyperglycemic treatment in diabetics with coronary disease: increased metformin-associated mortality over a 5-year follow-up. *Cardiology.* 1999; 91 (3): 195-202.
18. Grant PJ. The effects of high- and medium-dose metformin therapy on cardiovascular risk factors in patients with type II diabetes. *Diabetes Care.* 1996; 19 (1): 64-6.
19. Yajima K, Shimada A, Hirose H, Kasuga A, Saruta T. "Low dose" metformin improves hyperglycemia better than acarbose in type 2 diabetics. *Rev Diabet Stud.* 2004; 1 (2): 89-94.
20. Bailey CJ, Bagdonas A, Rubes J, McMorn SO, Donaldson J, Biswas N, et al. Rosiglitazone/metformin fixed-dose combination compared with uptitrated metformin alone in type 2 diabetes mellitus: a 24-week, multicenter, randomized, double-blind, parallel-group study. *Clin Ther.* 2005; 27 (10): 1548-61.
21. Higuchi M, Miyagi K, Nakasone J, Sakanashi M. Role of high glycogen in underperfused diabetic rat hearts with added norepinephrine. *J Cardiol Pharm.* 1995; 26: 899-907.
22. Donthi RV, Ye C, Wu C, McClain DA, Lange AJ, Epstein PN. Cardiac expression of kinase-deficient 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase inhibits glycolysis, promotes hypertrophy, impairs myocyte function, and reduces insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 2004; 279 (46): 48085-90.
23. Arad M, Benson DW, Perez-Atayde AR, McKenna WJ, Sparks EA, Kanter RJ, et al. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 2002; 109 (3): 357-62.
24. Steiner DF, Rauda V, Williams RH. Severe ketoacidosis in the alloxan diabetic rats. *Endocrinology.* 1961; 68: 809-15.
25. Scherer J. Action of alloxan on the pancreas of the guinea pig. *Acta Anat (Basel).* 1955; 23: 350-79.
26. Oliveira MA, Costa LS, Martins VS, Tress JC, Aldrighi JM, Wajngarten M, et al. Efeito da terapia de reposição hormonal e do raloxifeno a curto prazo sobre o intervalo QTc e dispersão de QTc em mulheres idosas com hipertensão arterial sistêmica. *Rev SOCERJ.* 2005; 18 (1): 77-81.
27. Sarkar BC, Chauhan UPS. A new method for determining micro quantities of calcium in biological materials. *Anal Biochem.* 1967; 20: 155-66.
28. Misra P, Chakrabarti R. The role of AMP kinase in diabetes. *Indian J Med Res.* 2007; 125 (3): 389-98.
29. Zou MH, Kirkpatrick SS, Davis BJ, Nelson WG, Schlattner U, Neumann D, et al. Activation of the AMP-activated protein kinase by the anti-diabetic drug metformin in vivo. *J Biol Chem.* 2004; 279 (42): 43940-51.
30. Gonçalves AA, da Silva EC, Brito IJL, da Silva CA, Wiernsperger N. Metformin interacts with training to lower glycemia and to increase glycogen stores in diabetic rats. *Diabetologia.* 1999; 42 (Suppl): 52A.
31. Leclerc I, Woltersdorf WW, da Silva Xavier G, Rowe RL, Cross SE, Korbutt GS, et al. Metformin, but not leptin, regulates AMP-activated protein kinase in pancreatic islets: impact on glucose-stimulated insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 286: E1023-E1031.
32. Kefas BA, Cai Y, Kerckhofs K, Ling Z, Martens G, Heimberg H, et al. Metformin-induced stimulation of AMP-activate protein kinase in β -cells impairs their glucose responsiveness and can lead to apoptosis. *Biochem Pharmacol.* 2004; 68 (3): 409-16.
33. Stith BJ, Woronoff K, Wiernsperger N. Stimulation of the intracellular portion of the human insulin receptor by the antidiabetic drug metformin. *Biochem Pharmacol.* 1998; 55 (4): 533-6.
34. Shimoni Y, Severson D, Ewart HS. Insulin resistance and the modulation of rat cardiac K(+) currents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000; 279 (2): H639-49.
35. Feuvray D, Lopaschuk GD. Controversies on the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury: the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury is decreased. *Cardiovasc Res.* 1997; 34: 113-20.
36. Sá R, Perez C. Dispersão do QT: seu significado clínico. *Rev SOCERJ.* 2004; 17 (3): 183-91.
37. Howarth FC, Jacobson M, Shafiullah M, Adeghate E. Long-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats. *Exp Physiol.* 2005; 90 (6): 827-35.
38. Brodsky WA, Rapoport S, West CD. The mechanism of glycosuric diuresis in diabetic man. *J Clin Invest.* 1950; 29: 1021-32.
39. Kitabchi AE, Wall BM. Diabetic ketoacidosis. *Med Clin North Am.* 1995; 79: 9-37.
40. Punske BB, Rossi S, Ershler P, Rasmussen I, Abel ED. Optical mapping of propagation changes induced by elevated extracellular potassium ion concentration in genetically altered mouse hearts. *J Electrocardiol.* 2004; 37 (Suppl): 128-34.
41. Nishiyama A, Ishii DN, Backx PH, Pulford BE, Birks BR, Tamkun MM. Altered K⁺ channel gene expression in diabetic rat ventricle: isoform switching between Kv4.2 and Kv1.4. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 281: H1800-H1807.
42. Kiewiet RM, Ponsen HH, Janssens ENW, Fels PHW. Ventricular fibrillation in hypercalcaemic crisis due to primary hyperparathyroidism. *Neth J Med.* 2004; 62 (3): 94-6.