

Os Efeitos da Trimetazidina no Prolongamento do Intervalo QT e na Hipertrofia Cardíaca em Ratos Diabéticos

The Effects of Trimetazidine on QT-interval Prolongation and Cardiac Hypertrophy in Diabetic Rats

Fatemeh Ramezani-Aliakbari, Mohammad Badavi, Mahin Dianat, Seyed Ali Mard, Akram Ahangarpour

Centro de Pesquisas em Fisiologia e Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Ciências Médicas Ahvaz Jundishapur, Ahvaz – Irã

Resumo

Fundamento: A trimetazidina (TMZ) é uma droga anti-iscêmica. Apesar de seus efeitos protetores sobre o sistema cardiovascular, não há estudos científicos sobre a utilidade do tratamento com TMZ para o intervalo QT prolongado e a hipertrofia cardíaca induzida pelo diabetes.

Objetivo: Avaliar os efeitos da TMZ no prolongamento do intervalo QT e na hipertrofia cardíaca em ratos diabéticos.

Métodos: Vinte e quatro ratos machos Sprague-Dawley (200-250 g) foram distribuídos aleatoriamente em três grupos (n = 8) pelo método de amostragem aleatória simples. Controle (C), diabético (D) e diabético administrado com TMZ a 10 mg/kg (T10). A TMZ foi administrada por 8 semanas. O ecocardiograma foi registrado antes de isolar os corações e transferir para um aparelho de Langendorff. Foram medidos os parâmetros hemodinâmicos, intervalo QT e intervalo QT corrigido (QTc), frequência cardíaca e enzimas antioxidantes. O índice de hipertrofia foi calculado. Os resultados foram avaliados pelo *one-way* ANOVA e pelo teste *t* pareado pelo SPSS (versão 16) e $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados: Os ratos diabéticos indicaram hipertrofia aumentada, intervalos QT e QTc e diminuição da pressão sistólica no ventrículo esquerdo (PSVE), pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE), duplo produto (DP), Max dp/dt e min dp/dt (\pm dp/dt max), frequência cardíaca, superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e catalase no coração. O tratamento com TMZ nos animais diabéticos melhorou significativamente esses parâmetros em comparação com o grupo diabético não tratado.

Conclusões: A TMZ melhora o prolongamento do intervalo QTc e a hipertrofia cardíaca no diabetes. (Arq Bras Cardiol. 2019; 112(2):173-178)

Palavras-chave: Diabetes Mellitus; Trimetazidina; Cardiomegalia; Eletrocardiografia; Estresse Oxidativo; Ratos.

Abstract

Background: Trimetazidine (TMZ) is an anti-ischemic drug. In spite of its protective effects on cardiovascular system, there is no scientific study on the usefulness of TMZ treatment for prolonged QT interval and cardiac hypertrophy induced by diabetes.

Objectives: To evaluate the effects of TMZ on QT interval prolongation and cardiac hypertrophy in the diabetic rats.

Methods: Twenty-four male Sprague-Dawley rats (200-250 g) were randomly assigned into three groups (n = 8) by simple random sampling method. Control (C), diabetic (D), and diabetic administrated with TMZ at 10 mg/kg (T10). TMZ was administrated for 8 weeks. The echocardiogram was recorded before isolating the hearts and transfer to a Langendorff apparatus. Hemodynamic parameters, QT and corrected QT interval (QTc) intervals, heart rate and antioxidant enzymes were measured. The hypertrophy index was calculated. The results were evaluated by one-way ANOVA and paired *t*-test using SPSS (version 16) and $p < 0.05$ was regarded as significant.

Results: The diabetic rats significantly indicated increased hypertrophy, QT and QTc intervals and decreased Left ventricular systolic pressure (LVSP), Left ventricular developed pressure (LVDP), rate pressure product (RPP), Max dp/dt, and min dp/dt (\pm dp/dt max), heart rate, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and catalase in the heart. Treatment with TMZ in the diabetic animals was significantly improved these parameters in comparison to the untreated diabetic group.

Conclusions: TMZ improves QTc interval prolongation and cardiac hypertrophy in diabetes. (Arq Bras Cardiol. 2019; 112(2):173-178)

Keywords: Diabetes Mellitus; Trimetazidine; Cardiomegaly; Electrocardiology; Oxidative Stress; Rats.

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

Correspondência: Mohammad Badavi •

Centro de Pesquisa em Fisiologia do Golfo Pérsico, Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Ciências Médicas Ahvaz Jundishapur, Ahvaz – Irã.

E-mail: badavim@yahoo.com

Artigo recebido em 24/04/2018, revisado em 23/07/2018, aceito em 23/07/2018

DOI: 10.5935/abc.20180248

Introdução

O diabetes está associado a distúrbios cardiovasculares e aumento da mortalidade em pacientes diabéticos.¹ A estatística revela que 30 milhões de pessoas sofriam de diabetes em todo o mundo em 1985 e, recentemente, prevê-se, pela OMS, que haverá 300 milhões em 2025.²

A cardiomiopatia diabética é conhecida como alterações estruturais e funcionais do coração induzidas por diabetes, associadas à hipertrofia cardíaca, disfunção diastólica e/ou sistólica na ausência de hipertensão arterial, doenças cardíacas valvares e isquêmicas e outras alterações cardíacas.^{3,4}

Os intervalos QT e QT corrigido (QTc) são parâmetros eletrocardiográficos considerados como preditores críticos de mortalidade e acidente vascular cerebral em pacientes diabéticos.^{5,6} O prolongamento patológico do intervalo QT é conhecido como um fator de risco que aumenta as arritmias ventriculares e outras doenças cardíacas. Além disso, a hipertrofia ventricular desempenha um papel importante no desenvolvimento do diabetes relacionado ao intervalo do QT prolongado.⁷ Um estudo anterior confirmou os efeitos negativos da hipertrofia e do prolongamento do intervalo QT na função do coração no diabetes.⁸ A homeostase energética é eficaz na diminuição da hipertrofia no coração.⁹

A trimetazidina (TMZ) é um agente antianginoso que é conhecido por melhorar o metabolismo de energia no coração submetido à isquemia.^{10,11} Estudos anteriores indicaram oxidação reduzida de ácidos graxos por meio da redução da atividade 3-cetoacil-CoA tiolase mitocondrial (3-KAT) na beta-oxidação pelo tratamento com TMZ.¹² Outros também indicaram que a TMZ tem efeitos protetores na fibrose cardíaca resultante da sobrecarga de pressão.¹³ Além disso, há outras investigações mostrando que o tratamento com TMZ tem efeitos positivos sobre a função cardíaca em diabéticos com desordens cardiovasculares.¹⁴ Tomados em conjunto, estes resultados de estudos relacionados evidenciam que a TMZ tem efeitos benéficos no sistema cardiovascular. No entanto, o papel da TMZ no prolongamento do intervalo QT e na melhora da hipertrofia cardíaca no diabetes ainda é desconhecido. Portanto, o presente estudo foi realizado para avaliar os efeitos da TMZ no prolongamento do intervalo QT e hipertrofia cardíaca nos animais diabéticos.

Métodos

Químico

A TMZ, a heparina e a aloxana foram obtidas da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, E.U.A.) e a cetamina e xilazina adquiridas à Alfasan Co. (Woderen-Holland).

Animal

Vinte e quatro ratos Sprague-Dawley machos adultos (250 ± 20 g) foram alojados sob condições padrão (20 ± 5°C, ciclo claro/escuro de 12 horas e com água e comida disponíveis) durante o período do estudo. Todos os protocolos experimentais seguiram as Diretrizes do Autor de Consenso sobre Ética e Bem-Estar Animal e as diretrizes nacionais para a realização de estudos com animais (Autorização do Comitê de

Ética No. APRC-94-25 da Universidade de Ciências Médicas de Ahvaz Jundishapur, Ahvaz, Irã).¹⁵

O tamanho da amostra de cada grupo foi computado em oito pela fórmula:¹⁶

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times (S_1^2 + S_2^2)}{d^2} = \frac{(1,96 \times 1,29)^2 \times (13,52^2 + 9,07^2)}{(89-70)^2} = 7,75 \sim 8$$

onde S_1^2 e S_2^2 são os meios.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos (n = 8) pelo método de amostragem aleatória simples. Controle (C), diabético (D) e diabético administrado com TMZ a 10 mg/kg (T10).¹⁷ A TMZ foi tratada oralmente por gavagem uma vez ao dia por 8 semanas.

Modelo diabético

O diabetes foi induzido por administração intraperitoneal de aloxana a 120 mg/kg. Após 6 h, os animais foram tratados oralmente com solução de glicose a 10% (10 ml). Eles foram mantidos por 24 h em solução de glicose a 5% para reduzir os resultados hipoglicêmicos fatais de aloxana. Os ratos, indicando glicemia de jejum ≥ 250 mg/dl, redução do peso corporal, dislipidemia, aumento de enzimas hepáticas e sinais claros de poliúria, polifagia e polidipsia após 4 dias, foram considerados animais diabéticos e utilizados para o experimento.¹⁸

Eletrocardiografia

Os animais foram anestesiados por heparina, cetamina e xilazina (1000 U/kg, 50 e 5 mg/kg, respectivamente), o chumbo II foi registrado por Bio Amp e controlado utilizando um sistema Power Lab (AD Instruments, Austrália). O intervalo QT e a frequência cardíaca foram medidos. Os intervalos QT e QTc foram calculados pela fórmula de Bazett normalizada como $QTc = QT / (RR/f)^{1/2}$, onde RR é o intervalo R – R e $f = 150 \text{ ms}$.^{19,20}

Isolamento dos corações

Após o registro do ecocardiograma (ECG), a canulação e a ventilação da traqueia foram realizadas com um ventilador de animais (UGO BASILE, modelo: 7025). A canulação da aorta foi realizada por uma incisão central na aorta. Os corações foram transportados para o sistema Langendorff. A perfusão do coração foi realizada por solução de Krebs-Henseleit (5% de dióxido de carbono e 95% de oxigênio, 37°C, pH = 7,4, 8 ml/min). Um balão de látex foi inserido no ventrículo esquerdo para a medição da pressão ventricular esquerda (PVE) pelo sistema Power Lab (AD Instruments, Austrália). A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) foi aproximadamente regulada em 5-10 mmHg pela alteração do volume do balão. A pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE), Max dp/dt e min dp/dt (± dp/dt máx) foram medidas.²¹ A pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE) e o duplo produto (DP) foram calculados pela seguinte fórmula:

$$PDVE = PSVE - PDFVE$$

$$DP = PDVE \times \text{frequência cardíaca}$$

Medição de hipertrofia

Após avaliação dos parâmetros hemodinâmicos pelo sistema de Langendorff, os corações foram removidos e colocados em soro fisiológico, em seguida, em papel para avaliação do peso do coração. O índice de hipertrofia cardíaca (mg/g) foi calculado a partir do peso total do coração (mg) em relação ao peso corporal total (g) do rato.²²

Medição de enzimas antioxidantes

Após a medição da hipertrofia, 100 mg de tecido cardíaco foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -70°C . As amostras de tecido foram homogeneizadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS; 50 mM a pH de 7,4) utilizando um Homogeneizador (Heidolph Silenterosher M, Alemanha) e centrifugadas a 14000 g durante 15 minutos. A avaliação dos níveis de enzimas incluindo glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) foi realizada no sobrenadante. A GPx e a SOD foram medidas usando kits Randox (Randox Lab, UK) e a atividade da CAT foi avaliada usando o kit Zellbio (Zellbio Lab, Ulm, Alemanha).

Análise estatística

Os resultados foram indicados como média e desvio padrão (DP). No presente estudo, a distribuição normal dos resultados foi realizada pela análise de Kolmogorov-Smirnov. O teste *one-way* ANOVA e o teste *Least Significant Difference* (LSD) foram usados para comparação entre os vários grupos. A comparação de pré e pós-metabólicas em cada grupo foi realizada pelo teste *t* pareado usando o SPSS (versão 16). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Parâmetros eletrocardiográficos

Os intervalos QT e QTc aumentaram significativamente nos animais diabéticos em comparação com o grupo controle ($100 \pm 13,80$ vs. $70 \pm 8,34$, $82,52 \pm 13,03$ vs. $58,4 \pm 7,33$, $p = 0,007$ e $p = 0,009$, respectivamente). O tratamento com TMZ foi associado com uma redução significativa nos

intervalos QT e QTc em comparação com os ratos diabéticos não tratados ($80 \pm 10,69$ vs. $100 \pm 13,80$, $63,11 \pm 7,05$ vs. $82,52 \pm 13,03$, $p = 0,043$ e $p = 0,040$, respectivamente, Figura 1). Como mostrado na Tabela 1, os ratos diabéticos indicaram uma diminuição na frequência cardíaca em comparação com os ratos de controle ($198 \pm 41,21$ vs. $268 \pm 27,99$, $p = 0,002$). Obviamente, a administração do grupo diabético com TMZ aumentou significativamente a frequência cardíaca em comparação com os ratos diabéticos não tratados ($263 \pm 35,02$ vs. $198 \pm 41,21$, $p = 0,006$).

Marcadores da função cardíaca

No final do experimento, PSVE, PDVE, $\pm dp/dt$ max e DP foram observados significativamente menores no grupo diabético que no grupo controle. No entanto, a administração da TMZ durante 8 semanas foi associada a um aumento significativo destes parâmetros em comparação com os ratos diabéticos não tratados (Tabela 1).

Efeito da TMZ na hipertrofia miocárdica

Como indicado, o índice de hipertrofia aumentou significativamente nos ratos diabéticos em 8 semanas em comparação com o grupo controle ($56,62 \pm 6,50$ vs. $48,62 \pm 7,90$, $p = 0,039$). De acordo com nossos achados, nos ratos diabéticos, a administração com TMZ diminuiu notavelmente o índice de hipertrofia quando comparado aos ratos diabéticos ($41,87 \pm 7,50$ vs. $56,62 \pm 6,50$, $p < 0,001$, Figura 2).

Efeito da TMZ nas enzimas antioxidantes

Como indicado na Tabela 2, enzimas antioxidantes, GPx, CAT e SOD diminuíram significativamente no coração de animais diabéticos em comparação com o grupo controle ($p < 0,001$, $p = 0,002$, respectivamente). No entanto, a administração oral com TMZ foi significativamente melhorada GPx, CAT e SOD ($p < 0,001$, $p < 0,049$, respectivamente).

Discussão

Nossos resultados indicaram que a injeção de aloxana aumentou significativamente os intervalos QT e QTc e diminuiu a

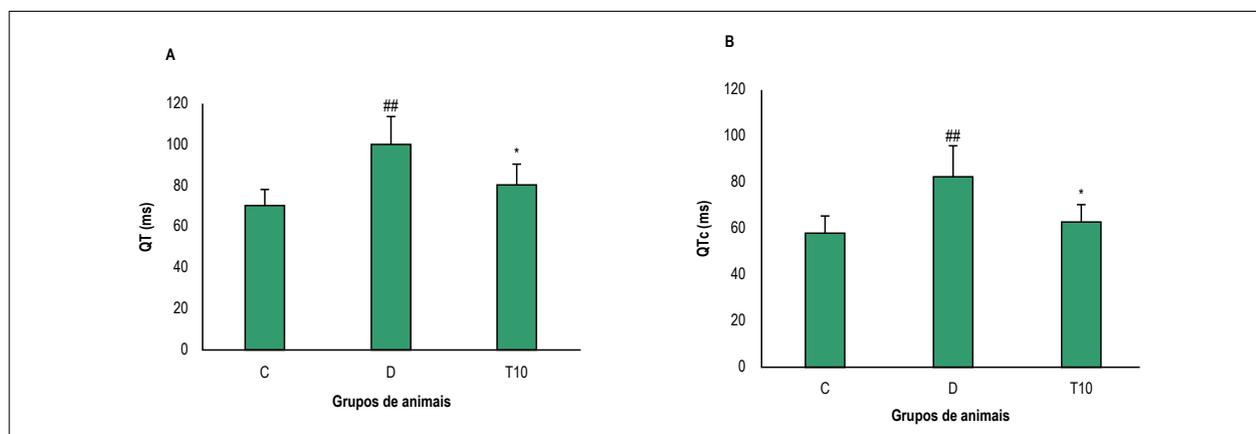


Figura 1 – Valores do Intervalo QT (a) e do intervalo QTc (b) nos grupos controle (C), diabético (D) e diabético tratado com TMZ (10 mg/kg, (T10)) oito semanas após o tratamento nos ratos. Os resultados foram apresentados como média \pm DP. ## $p < 0,01$ comparado ao grupo controle, * $p < 0,05$ comparado ao grupo diabético.

Tabela 1 – Parâmetros hemodinâmicos no coração

Grupos	C	D	T10	Valor de p D vs. C	Valor de p T10 vs. D
Frequência cardíaca (batimentos/min)	268 ± 27,99	198 ± 41,21	263 ± 35,02	0,002 ^{###}	0,006 [†]
PSVE (mmHg)	75 ± 20,91	60,78 ± 16,76	79,75 ± 10,16	0,041 [†]	0,028 [†]
PDVE (mmHg)	74,37 ± 18,76	56 ± 18,37	74,25 ± 9,93	0,030 [†]	0,031 [†]
DP (mmHg)	14.965 ± 5.582	10.184 ± 4.589	14.099 ± 3.859	0,041 [†]	0,049 [†]
Max +dp/dt(mmHg)	2.294 ± 255,27	1.035 ± 370,33	1.727 ± 410,60	< 0,001 ^{###}	0,001 [†]
Min -dp/dt (mmHg)	-1.220 ± 229,09	-594,77 ± 210	-962 ± 194	< 0,001 ^{###}	0,002 [†]

(média ± DP, n = 8) no controle (C), diabético (D) e diabético tratado com TMZ (T10), (one-way ANOVA seguido de teste post hoc de LSD). PSVE: pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDVE: pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo; DP: duplo produto pressórico.

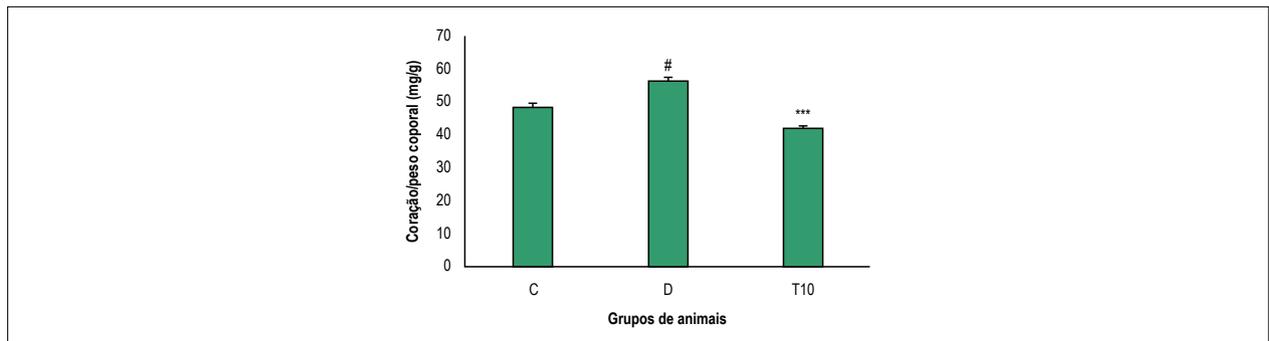


Figura 2 – Valor da hipertrofia nos grupos controle (C), diabético (D) e diabético tratado com TMZ (T10) oito semanas após o tratamento nos ratos. Os resultados foram apresentados como média ± DP. # p < 0,05 comparado ao grupo controle, *** p < 0,001 comparado ao grupo diabético não tratado.

Tabela 2 – Atividades das enzimas antioxidantes

Grupos	C	D	T10	Valor de p D vs. C	Valor de p T10 vs. D
SOD (U/dl)	8,46 ± 1,51	5,86 ± 0,69	7 ± 1,54	0,002 ^{###}	0,049 [†]
CAT (U/dl)	10,52 ± 0,60	1,90 ± 4,08	10,71 ± 0,50	0,002 ^{###}	< 0,001 ^{###}
GPx (U/dl)	28,50 ± 2,67	13,22 ± 0,95	24,03 ± 1,73	< 0,001 ^{###}	< 0,001 ^{###}

(Média ± DP, n = 8) no controle (C), diabético (D) e diabético tratado com TMZ (T10), (one-way ANOVA seguido de teste post hoc de LSD). SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; GPx: glutatona peroxidase.

frequência cardíaca, PSVE, PDVE, DP, ± dp/dt max e hipertrofia cardíaca, SOD, GPx e CAT no coração dos ratos diabéticos quando comparado com o grupo controle. No entanto, o tratamento com TMZ foi capaz de melhorar significativamente os intervalos QT e QTc, frequência cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, SOD, CAT e hipertrofia. Estudos prévios demonstraram que o diabetes está associado às alterações do intervalo QTc eletromecânico e prolongado no coração.²³

As disfunções diastólica e sistólica são as manifestações mais precoces no desenvolvimento da cardiomiopatia diabética.²⁴ Os índices ± dp/dt máx, PSVE, PDVE, DP, diastólica e sistólica cardíaca são amplamente utilizados para avaliar a função cardíaca. Os ratos diabéticos induzidos por aloxana progrediram disfunção cardíaca como demonstrado por uma diminuição significativa em ± dp/dt, PSVE, PDVE e DP. O tratamento com TMZ, por sua vez, melhorou cada um desses parâmetros.

Em nosso modelo de diabetes tipo 1, o ECG indicou QTc prolongado, um achado que é consistente com estudos

anteriores. O tratamento com TMZ diminuiu significativamente essas dispersões de QT e QTc. Esse resultado está de acordo com relatos anteriores que indicam que o tratamento com TMZ melhora o prolongamento do intervalo QT em indivíduos com distúrbios renais.^{25,26}

No presente estudo, também observamos que o diabetes levou à bradicardia nos animais diabéticos. É revelado que nos ratos diabéticos a frequência cardíaca tende a diminuir após oito semanas.²⁷ Por outro lado, o diabetes aumenta o tônus vagal e diminui o tônus simpático em ratos diabéticos.²⁸ Além disso, o tratamento com TMZ melhora o tônus autonômico em indivíduos com a SCA.²⁹ A melhora nos tônus simpático e parassimpático pode explicar parcialmente o aumento da frequência cardíaca em ratos diabéticos tratados com TMZ.

A cardiomiopatia diabética está associada à hipertrofia e disfunção cardíaca. A glicemia elevada e o estresse oxidativo podem ser considerados fatores críticos que envolvem a hipertrofia e a disfunção do coração.³⁰ No presente estudo,

os ratos diabéticos apresentaram hipertrofia cardíaca demonstrada pelo aumento da relação coração-peso/peso corporal. Resultados semelhantes têm sido indicados em estudos anteriores.³¹ Está bem estabelecido que, o aumento do VLDL-c e a diminuição dos níveis de HDL-c podem resultar em redução do sistema de defesa antioxidante.²⁷ Em um estudo anterior, foi indicado que o comprometimento dos níveis do perfil lipídico em animais diabéticos podem ser atribuídos ao aumento da degradação lipídica e a liberação de grande quantidade de ácidos graxos livres.¹⁷ Os ácidos graxos livres liberados são suscetíveis à oxidação, resultando em diminuição do nível de antioxidantes e do sistema de defesa antioxidante.³² O aumento do nível de oxidação de ácidos graxos no coração diabético leva ao acúmulo de lipídios e hipertrofia cardíaca.³³ A redução na oxidação de ácidos graxos e no estresse oxidativo pelo tratamento com TMZ pode parcialmente atribuir à melhora da hipertrofia cardíaca.

Estudos anteriores mostraram que o nível de SOD reduziu no diabetes tipo 1 e foi demonstrado que o aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO) está negativamente associado com os valores das enzimas antioxidantes, como o SOD e GPx.³⁴ O SOD altera rapidamente O_2 para H_2O_2 , o que é ainda mais destruído através da GPx e CAT. Os níveis de enzimas antioxidantes são sensíveis ao stress oxidativo, e os valores melhorados ou reduzidos foram indicados em várias patologias, em que um aumento das ERO é uma causa ou resultado do distúrbio, tais como diabetes.^{35,36} Além disso, os ânions superóxidos e as ERO também foram indicados para contribuir para hipertrofia cardíaca resultante de vários estímulos; portanto o SOD é uma defesa primária contra o estresse oxidativo que envolve a hipertrofia do coração.³⁷ Os nossos resultados indicaram que os níveis de SOD e CAT em corações de ratos diabéticos tratados com TMZ foi significativamente maior do que nos animais diabéticos não tratados. Os valores de GPx foram ligeiramente, mas não significativamente mais, nos corações de animais diabéticos tratados com TMZ em comparação com os ratos diabéticos.

Em conjunto, esses achados indicaram que os ratos diabéticos mostraram hipertrofia e disfunção no coração, bem como aumento do dano oxidativo cardíaco em comparação com os animais controle, mostrando que esses fatores indesejáveis estão conectados. A TMZ provavelmente melhorou esses fatores pelos efeitos antioxidantes. Com base nos resultados

do presente estudo, mais estudos precisam ser realizados para avaliar os mecanismos envolvidos na melhora da hipertrofia e distúrbios cardiovasculares decorrentes da diabetes usando o tratamento com TMZ.

Conclusões

Todas estas observações mostram que o tratamento com TMZ contribui para a melhora da função prejudicada e da atividade elétrica, bem como hipertrofia do coração na cardiomiopatia diabética em ratos. Melhorias observadas no tratamento com TMZ estão associadas à diminuição do estresse oxidativo.

Contribuições do autores

Concepção e concepção do estudo: Ramezani-Aliakbari F, Badavi M; Aquisição de dados: Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A; Análise e interpretação dos dados: Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A; Análise estatística: Ramezani-Aliakbari F, Badavi M; Obtenção de financiamento: Badavi M; Redação do manuscrito: Ramezani-Aliakbari F, Badavi M; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: Badavi M.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Centro de Pesquisas em Fisiologia da Universidade de Ciências Médicas de Ahvaz Jundishapur (No. APRC-94-25).

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Fatemeh Ramezani-Aliakbari pela Physiology Research Center of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences.

Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences sob o número de protocolo APRC-94-25.

Referências

1. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation*. 2007;115(25):3213-23.
2. Cohari A, Noorafshan A, Akmal M, Zamani-Garmsiri, Seghatoleslam A. Urtica Dioica Distillate (Aragh Gazaneh) regenerates pancreatic beta cells in streptozotocin-induced diabetic rat. *Iran J Med Sci*. 2018;43(2):174-83.
3. Aneja A, Tang WH, Bansilal S, Garcia MJ, Farkouh ME. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options. *Am J Med*. 2008;121(9):748-57.
4. Tarquini R, Lazzeri C, Pala L, Rotella CM, Gensini GF. The diabetic cardiomyopathy. *Acta Diabetol*. 2011;48(3):173-81.
5. Cardoso CR, Salles GF, Deccache W. QTc interval prolongation is a predictor of future strokes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stroke*. 2003;34(9):2187-94.
6. 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(4):323-32.
7. Oikarinen L, Nieminen MS, Viitasalo M, Toivonen L, Wachtell K, Papademetriou V, et al. Relation of QT interval and QT dispersion to echocardiographic left ventricular hypertrophy and geometric pattern in hypertensive patients. The LIFE study. The Losartan Intervention For Endpoint Reduction. *J Hypertens*. 2001;19(10):1883-91.

8. Tuomainen T, Tavi P. The role of cardiac energy metabolism in cardiac hypertrophy and failure. *Exp Cell Res.* 2017;360(1):12-8.
9. Rimbaud S, Sanchez H, Garnier A, Fortin D, Bigard X, Veksler V, et al. Stimulus specific changes of energy metabolism in hypertrophied heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;46(6):952-9.
10. Zhang L, Lu Y, Jiang H, Zhang L, Sun A, Zou Y, et al. Additional use of trimetazidine in patients with chronic heart failure: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(10):913-22.
11. Tsioufis K, Andrikopoulos G, Manolis A. Trimetazidine and cardioprotection: facts and perspectives. *Angiology.* 2015;66(3):204-10.
12. Lopatin YM, Rosano GM, Fragasso G, Lopaschuk GD, Seferovic PM, Gowdak LH, et al. Rationale and benefits of trimetazidine by acting on cardiac metabolism in heart failure. *Int J Cardiol.* 2016 Jan 15;203:909-15.
13. Liu X, Gai Y, Liu F, Gao W, Zhang Y, Xu M, et al. Trimetazidine inhibits pressure overload-induced cardiac fibrosis through NADPH oxidase-ROS-CTGF pathway. *Cardiovasc Res.* 2010;88(1):150-8.
14. Rosano GM, Vitale C, Sposato B, Mercurio G, Fini M. Trimetazidine improves left ventricular function in diabetic patients with coronary artery disease: a double-blind placebo-controlled study. *Cardiovasc Diabetol.* 2003 Nov 28;2:16.
15. Olfert CB, McWilliam AA. . Guide to the care and use of experimental animals. 2nd ed. Canada: McWilliam; 1998.
16. Rosner B. Fundamentals of biostatistics. 6th ed. Boston : Brooks/Cole; 2005.
17. Xiang YL, He L, Xiao J, Xia S, Deng SB, Xiu Y, et al. Effect of trimetazidine treatment on the transient outward potassium current of the left ventricular myocytes of rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45(3):205-11.
18. Gargouri M, Magne C, El Feki A. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by Spirulina supplementation. *Nutr Res.* 2016;36(11):1255-68.
19. Joukar S, Ghasemipour-Afshar E, Sheibani M, Naghsh N, Bashiri A. Protective effects of saffron (*Crocus sativus*) against lethal ventricular arrhythmias induced by heart reperfusion in rat: a potential anti-arrhythmic agent. *Pharm Biol.* 2013;51(7):836-43.
20. Joukar S, Zarisfi Z, Sepehri G, Bashiri A. Efficacy of *Melissa officinalis* in suppressing ventricular arrhythmias following ischemia-reperfusion of the heart: a comparison with amiodarone. *Med Princ Pract.* 2014;23(4):340-5.
21. Radmanesh E, Dianat M, Badavi M, Goudarzi G, Mard SA. The cardioprotective effect of vanillic acid on hemodynamic parameters, malondialdehyde, and infarct size in ischemia-reperfusion isolated rat heart exposed to PM10. *Iran J Basic Med Sci.* 2017;20(7):760-8.
22. Dorri Mashhadi F, Zavvar Reza J, Jamhiri M, Hafizi Z, Zare Mehrjardi F, Safari F. The effect of resveratrol on angiotensin II levels and the rate of transcription of its receptors in the rat cardiac hypertrophy model. *J Physiol Sci.* 2017;67(2):303-9.
23. Casis O, Echevarria E. Diabetic cardiomyopathy: electromechanical cellular alterations. *Curr Vasc Pharmacol.* 2004;2(3):237-48.
24. Schannwell CM, Schneppenheim M, Perings S, Plehn G, Strauer BE. Left ventricular diastolic dysfunction as an early manifestation of diabetic cardiomyopathy. *Cardiology.* 2002;98(1-2):33-9.
25. Suner A, Cetin M. The effect of trimetazidine on ventricular repolarization indexes and left ventricular diastolic function in patients with coronary slow flow. *Coron Artery Dis.* 2016;27(5):398-404.
26. Balenovic D, Prkacin I, Cavric G, Horvat I, Pocanic D, Baotic I. [The effects of trimetazidine on QT-interval prolongation in patients with chronic kidney disease stage III-IV (predialysis CRD)]. *Acta Med Croatica.* 2012;66(3):153-6.
27. Badavi M, Abedi HA, Dianat M, Sarkaki AR. Exercise Training and Grape Seed Extract Co-Administration Improves Lipid Profile, Weight Loss, Bradycardia, and Hypotension of STZ-Induced Diabetic Rats. *Int Cardiovasc Res J.* 2013;7(4):111-7.
28. Vinik AI, Erbas T. Diabetic autonomic neuropathy. *Handb Clin Neurol.* 2013;117:279-94.
29. Zhang J, He S, Wang X, Wang D. Effect of trimetazidine on heart rate variability in elderly patients with acute coronary syndrome. *Pak J Med Sci.* 2016;32(1):75-8.
30. Adebisi AO, Adebisi OO, Owira PM. Naringin Mitigates Cardiac Hypertrophy by Reducing Oxidative Stress and Inactivating c-Jun Nuclear Kinase-1 Protein in Type I Diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2016;67(2):136-44.
31. Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Hasan IH, Al-Amin MA, Al-Ajmi HN, Mahmoud AM. Sitagliptin attenuates cardiomyopathy by modulating the JAK/STAT signaling pathway in experimental diabetic rats. *Drug Des Devel Ther.* 2016 Jun 28;10:2095-107.
32. Prisacaru AE. Effect of antioxidants on polyunsaturated fatty acids - review. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2016;15(2):121-9.
33. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404(6779):787-90.
34. Carillon J, Rugale C, Rouanet JM, Cristol JP, Lacan D, Jover B. Endogenous antioxidant defense induction by melon superoxide dismutase reduces cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Int J Food Sci Nutr.* 2014;65(5):602-9.
35. Navarro-Arevalo A, Canavate C, Sanchez-del-Pino MJ. Myocardial and skeletal muscle aging and changes in oxidative stress in relationship to rigorous exercise training. *Mech Ageing Dev.* 1999;108(3):207-17.
36. Ulker S, McMaster D, McKeown PP, Bayraktutan U. Impaired activities of antioxidant enzymes elicit endothelial dysfunction in spontaneous hypertensive rats despite enhanced vascular nitric oxide generation. *Cardiovasc Res.* 2003;59(2):488-500.
37. Peixoto EB, Pessoa BS, Biswas SK, Lopes de Faria JB. Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase-induced oxidative stress and renal damage in the early stage of experimental diabetes and hypertension. *Am J Nephrol.* 2009;29(4):309-18.

