



Sistemas de infusión subcutánea continua de insulina y de monitorización continua de la glucosa en la Diabetes de tipo 1. Perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con control lábil por hipoglucemias recurrentes y graves

Marga Giménez Álvarez

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

JULIO DE 2012

UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL CLÍNIC I UNIVERSITARI

Sistemas de infusión subcutánea continua de insulina y de monitorización continua de la glucosa en la Diabetes de tipo 1. Perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con control lábil por hipoglucemias recurrentes y graves.

Memoria presentada por Marga Giménez Álvarez para optar al grado de doctor en Medicina.

“La verdadera ciencia consiste en conocer que se sabe lo que realmente se sabe, y que se ignora lo que en verdad se ignora. En esto consiste la verdadera sabiduría”.

Confucio

A mis padres, Daniel y Marga y a todos los que me han enseñado a aprender

Agradecimientos**Abreviaturas**

Prefacio.....	1
----------------------	----------

Introducción.....	5
--------------------------	----------

1. DM1, control glucémico y aparición de complicaciones crónicas microvasculares.....	7
---	---

2. DM1, control glucémico y aparición de complicaciones crónicas macrovasculares.....	11
---	----

3. DM1, control metabólico, hipoglucemia, hipoglucemia desapercibida e hipoglucemia grave.....	15
--	----

4. DM1, control metabólico, hipoglucemia y otras comorbilidades asociadas.....	22
--	----

5. DM1, control metabólico, hipoglucemia de repetición, hipoglucemia grave y sistemas de infusión subcutánea continua de insulina.....	27
--	----


Justificación e hipótesis de trabajo.....	31
--	-----------

Objetivos**Objetivo 1**

1. Justificación del objetivo.....	36
------------------------------------	----

2. Material y métodos.....	38
----------------------------	----


3. Resultados..... 40

 “Efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in type 1 diabetes: a 2-year perspective using the established criteria for funding from a National Health Service”

Diabetic Medicine 2007; 24:1419-1423

Objetivo 2


1. Justificación del objetivo..... 48
2. Material y métodos..... 52
3. Resultados..... 54

 “Glycemic profile characteristics and frequency of impaired awareness of hypoglycaemia in subjects with T1D and repeated hypoglycaemic events”

Acta Diabetologica 2009; 46(4): 291-293

Objetivo 3

1. Justificación del objetivo..... 60
2. Material y Métodos..... 64
3. Resultados..... 66


 “Aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes jóvenes con Diabetes de tipo 1 de un área Mediterránea”

Medicina Clínica (Barc) 2009; 132:740-742

Objetivo 4

1. Justificación del objetivo..... 72
2. Material y Métodos..... 75

3. Resultados.....	82
---------------------------	-----------

 “Repeated episodes of hypoglycaemia aggravate preclinical atherosclerosis in a group of young adult subjects with T1D”


Diabetes Care 2011; 34:198-203

Objetivo 5

1. Justificación del objetivo.....	92
---	-----------

2. Material y Métodos.....	96
-----------------------------------	-----------

3. Resultados.....	98
---------------------------	-----------

 “Sustained efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in T1D subjects with recurrent non-severe and severe hypoglycemia and hypoglycemia unawareness”

Diabetes Technology and Therapeutics 2010; 12 (7): 517-521

Discusión.....	105
-----------------------	------------

Conclusiones finales.....	125
----------------------------------	------------

Bibliografía.....	129
--------------------------	------------

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos

El agradecimiento y dedicatoria más especial es para mi director de tesis y tutor de todo este proyecto de investigación, el Dr. Ignacio Conget. Durante todos estos años he tenido el privilegio de estar a su lado y aprender de su rigor científico, sus conocimientos, su enorme paciencia, optimismo, entusiasmo y dedicación al trabajo. Más allá de todo ello, me uno a la admiración de todos los que hemos trabajado con él y que coincidimos en dudar si algún día seremos capaces de dirigir a un joven investigador como él ha hecho con todos nosotros. Él sabe que mi gratitud y cariño van mucho más allá de lo que puedan reflejar estas líneas. ¡Gracias Ignacio!

Al Dr. Enric Esmatjes, Cap de la Unitat de Diabetis de nuestro hospital y al Dr. Pep Vidal, Jefe de Servicio de Endocrinología y Nutrición, por su apoyo y confianza durante estos años.

Un agradecimiento especial al Dr. Ramón Gomis, sin él nunca hubiera tenido la oportunidad de dedicar unos años a la investigación. Porque siempre es innovador y eso todos los jóvenes investigadores se lo agradecemos.

A la Dra. Rosa Gilabert, nuestra mano derecha en esta tesis. Estar a su lado me permitió aprender técnicas ecográficas y ¡otras muchas cosas! Guardo para el recuerdo esas tardes en hemodinámica hepática con Rosa e Ignacio. Esta tesis hubiese sido imposible sin su colaboración.

Al Dr. Jaume Bosch por las facilidades que siempre nos ha dado para realizar nuestras pruebas. A todo su equipo de Hemodinámica Hepática por su apoyo y amabilidad estos años.

Al Dr. Joan Monteagudo y al personal de enfermería de hemostasia. Porque todo es fácil cuando se trabaja con ellos. Por su entusiasmo por el proyecto y su ayuda con la interpretación de los resultados. Ojalá podamos trabajar juntos en otras ocasiones.

A Mercè Lara, compañera infatigable en toda esta tesis. Por su predisposición, trabajo y buen humor. Cómo te echamos de menos...

A Anna Alonso por su ayuda con el test del autónomo y con la colocación de sensores.

A la Dra. Roser Casamitjana y a todos los técnicos del laboratorio de hormonal que me han ayudado en esta tesis. Siempre guardaré un recuerdo especial de mi paso por Hormonal.

Al Dr. Carles Paré por su ayuda con la ecocardiografía de ejercicio y con su interpretación.

Al Dr. Xavier Filella y al Dr. Manuel Moreno por su colaboración en esta tesis.

A Xavi Pirretas por sus consejos y por el diseño de la portada de esta tesis.

A mis compañeros de la Unidad de Diabetes y del Servicio de Endocrinología del Hospital Clínic por todo lo que me enseñáis y por los buenos momentos que hemos pasado juntos estos años. Y los que nos quedan...En especial a mi compañera de despacho Irene Vinagre por sus consejos en esta última fase de la tesis y a Marga Jansà y Mercè Vidal porque aprender a su lado ha sido durante estos años todo un privilegio.



A todos los pacientes y controles que han colaborado con nosotros durante estos años porque es por ellos por los que realmente tiene sentido esta tesis y nuestro trabajo de cada día.

A mis padres, a mi hermana Olivia, a mi familia y amigos. Por acompañarme en este camino desde el principio, por el apoyo y el entusiasmo que siempre habéis mostrado por mi trabajo. Por eso y mucho más, ¡GRACIAS!

Por último, a Lucas y a Jordi, por todo el tiempo que la redacción de esta tesis se ha podido llevar consigo... Por vuestra paciencia y apoyo incondicional y, sobretodo, por vuestro amor. ¡Sabéis que sois lo más importante!

ABREVIATURAS

Abreviaturas (por orden alfabético)

	<i>Publicación en revista indexada</i>
	<i>Comunicación en congreso</i>
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ADRB2	<i>Receptor β2 adrenérgico</i>
AVC	<i>Accidente Vascular Cerebral</i>
CAD	<i>Cetoacidosis diabética</i>
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DE	<i>Desviación estándar</i>
DQoL	<i>Diabetes Quality-of-life questionnaire</i>
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DM1	<i>Diabetes mellitus tipo 1</i>
DM1A	<i>Diabetes mellitus tipo 1A ó inmunológica</i>
DM2	<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>
EASD	<i>European Association for the Study of Diabetes</i>
ECV	<i>Enfermedad cardiovascular</i>
EDIC	<i>Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study</i>
E-Selectin	<i>E-Selectina soluble</i>
EV	<i>Endovenoso</i>
FRCV	<i>Factores de riesgo cardiovascular</i>
FMD	<i>Flow-mediated dilatation</i>
GAD	<i>Anticuerpos contra la descarboxilasa del ácido glutámico</i>
HTA	<i>Hipertensión arterial</i>
HbA_{1c}	<i>Hemoglobina glucosilada A_{1c}</i>
HG	<i>Hipoglucemia grave</i>
HNG	<i>Hipoglucemia no grave</i>
IA-2	<i>Anticuerpos contra la tirosin fosfatasa</i>
IAA	<i>Anticuerpos contra la insulina</i>
1β-IL	<i>Interleukina 1-B</i>
IMC	<i>Índice de masa corporal</i>
IMT	<i>Grosor de la íntima-media arterial</i>
c-IMT	<i>Grosor íntima-media carotídeo</i>

max-cIMT	<i>Máximo grosor íntima-media carotídeo</i>
cIMTcomp	<i>Medida compuesta del grosor íntima-media carotídeo</i>
f-IMT	<i>Grosor íntima-media femoral</i>
ISCI	<i>Sistemas de infusión subcutánea continua de insulina</i>
ITB	<i>Índice tobillo-brazo</i>
LB	<i>Línea basal</i>
cLDL	<i>Colesterol LDL</i>
MAPA	<i>Monitorización ambulatoria de la presión arterial</i>
MAGE	<i>Mean amplitude glucose excursion</i>
MDI	<i>Múltiples dosis de insulina</i>
NPH	<i>Neutral Protamin Hagedorn</i>
PCRus	<i>Proteína C-reactiva ultrasensible</i>
PET	<i>Programa de educación terapéutica</i>
sICAM-1	<i>Molécula de adhesión intercelular soluble-1</i>
SF-12	<i>Health survey questionnaire SF-12</i>
SMBG	<i>Sistemas de monitorización de la glucemia capilar</i>
SMCG	<i>Sistemas de monitorización continua de la glucosa</i>
TA	<i>Tensión arterial</i>
TAs	<i>Tensión arterial sistólica</i>
TAd	<i>Tensión arterial diastólica</i>
vWF	<i>Factor de Von Willebrand</i>

PREFACIO

PREFACIO

La diabetes mellitus (DM) es un conjunto de enfermedades metabólicas que se caracterizan por presentar una hiperglucemia provocada por defectos en la secreción de insulina, en la acción de la misma o por ambas causas. La hiperglucemia crónica de la DM se asocia a la presencia a largo plazo de lesiones a nivel ocular, renal, nervioso, cardíaco y vascular.

La gran mayoría de casos de DM se engloban en dos amplias entidades etiopatogénicas: la diabetes tipo 1 (DM1) y la diabetes tipo 2 (DM2). Esta última entidad es mucho más frecuente que la DM1 y se produce por la combinación de resistencia a la acción de la insulina y la inadecuada respuesta compensadora de secreción de la misma hormona.

La DM1 es una enfermedad inmunoinflamatoria crónica en la que existe una destrucción de las células encargadas de la producción de insulina mediada principalmente por linfocitos T activados. Tras un periodo larvado y asintomático, una vez completada la destrucción de las células β del páncreas, la insulinopenia resultante se traduce en un deterioro inexorable del metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos. De hecho, si la insulinopenia no se resuelve mediante la administración exógena de la hormona, sus consecuencias son irremisiblemente fatales en todos los casos.

Aunque la DM1 solamente suponga 1 de cada 10 casos de DM, si tenemos en cuenta las connotaciones propias de esta entidad, las peculiaridades de su tratamiento, el impacto que genera el diagnóstico de esta enfermedad en el sujeto y su entorno más inmediato y que más del 50 % de los casos nuevos se diagnostican en la edad pediátrica, es fácil de entender que su importancia real es mucho mayor que los números que la representan.

La incidencia de la DM1 parece estar aumentando en todas las poblaciones, con un incremento en las naciones con una menor incidencia de la enfermedad. En nuestra área podemos decir que se diagnostican entre 12 y 14 nuevos casos de DM1 por cada 100.000 habitantes y año(1).

El estudio "*Diabetes Control and Complications Trial*" (DCCT) marca un antes y un después en la relación existente entre control metabólico y DM1(2)(3). Este trabajo

publicado en 1993 se diseñó con el fin de dilucidar si la mejora del control glucémico de los pacientes con DM1 reduce la aparición y evita el empeoramiento de las complicaciones crónicas de la enfermedad. La mejoría del control glucémico redujo el riesgo de desarrollar retinopatía, nefropatía y neuropatía entre el 35 y el 75 % aproximadamente y disminuyó el riesgo de empeoramiento de las complicaciones entre un 50 y un 75 %.

A partir de los datos del DCCT y de los publicados posteriormente por el estudio “*Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*” (EDIC)(3)(4) se afirma que el tratamiento intensivo con insulina y el estricto control glucémico deben ser el estándar en el tratamiento de los pacientes con DM1 desde el debut de la enfermedad.

Años después se describen las primeras contrapartidas del tratamiento intensivo con insulina en estos pacientes. En primer lugar, esta modalidad terapéutica se asocia indefectiblemente con un aumento en la aparición de hipoglucemia e hipoglucemia grave (HG) del orden de tres a cuatro veces según los estudios(5). De hecho, este fenómeno es a día de hoy el primer y más importante obstáculo a la hora de implementar el tratamiento intensivo en estos pacientes. La aparición repetida de hipoglucemias se asocia a toda una pléyade de consecuencias que van a condicionar el tratamiento, su relación coste-efectividad, el pronóstico y la calidad de vida del paciente con DM1. El número de episodios de hipoglucemia es el mejor predictor de nuevos episodios y sobretodo de episodios de HG. Asimismo, las hipoglucemias de repetición condicionan en algunos pacientes la desaparición de los síntomas de alerta proporcionados por los sistemas neurohormonales de contrarregulación que sufre una mala adaptación ante la recurrencia del estímulo. De esta forma, la aparición repetida del fenómeno da lugar a las denominadas hipoglucemias desapercibidas o inadvertidas y éstas multiplican el riesgo de aparición de HG en los pacientes que las sufren ante su incapacidad para responder adecuadamente ante este efecto adverso. Ambas situaciones obligan a reestructurar los objetivos del tratamiento y en algunos casos a contraindicar algunas formas de tratamiento intensificado, sin que el paciente pueda beneficiarse a largo plazo de los efectos favorables asociados al mismo y que anteriormente se han mencionado.

Frente a la situación que nos ocupa y ante el fracaso del tratamiento intensivo convencional con múltiples dosis de insulina (MDI), las hipoglucemias de repetición, las hipoglucemias desapercibidas y las HG suponen en nuestro medio una de las causas más frecuentes de mal control metabólico e indicación de tratamiento no

convencional alternativo. Desde que se introdujo en el *Servei Català de la Salut* el uso de los infusores subcutáneos continuos de insulina (ISCI), el mal control metabólico asociado a la hipoglucemia de repetición ha constituido más del 60 % de las indicaciones(6)(7). Por otro lado, cabe señalar que en la mayoría de centros con un programa establecido de trasplante de islotes pancreáticos (y en menor proporción aquellos con programa de trasplante de órgano aislado) la DM1 de control “lábil” es la principal indicación para el procedimiento. Dentro de este grupo de pacientes, más del 50 % de los mismos corresponden a aquellos con hipoglucemia de repetición e HG recurrente.

Por otro lado, son múltiples los estudios que han demostrado que los pacientes con DM1, aun aquellos asintomáticos, presentan signos de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (ECV) precoz en mayor proporción que los pacientes control sin la enfermedad. Asimismo, y sobretodo a partir de la evaluación cardiovascular pormenorizada de pacientes candidatos al trasplante de islotes pancreáticos, sabemos que los pacientes con DM1 y control lábil (incluyendo aquellos con hipoglucemias de repetición) presentan un perfil de riesgo de ECV más desfavorable que los pacientes con DM1 control con la misma duración de la enfermedad y el mismo perfil de complicaciones microvasculares asociadas. Además, este hallazgo es independiente del control metabólico y de la existencia de otras comorbilidades no directamente asociadas a la enfermedad.

Sin embargo, las posibles vías fisiopatológicas a través de las cuales el mal control metabólico crónico de los pacientes con DM1 e hipoglucemias recurrentes se relaciona con ECV precoz han sido poco estudiadas.

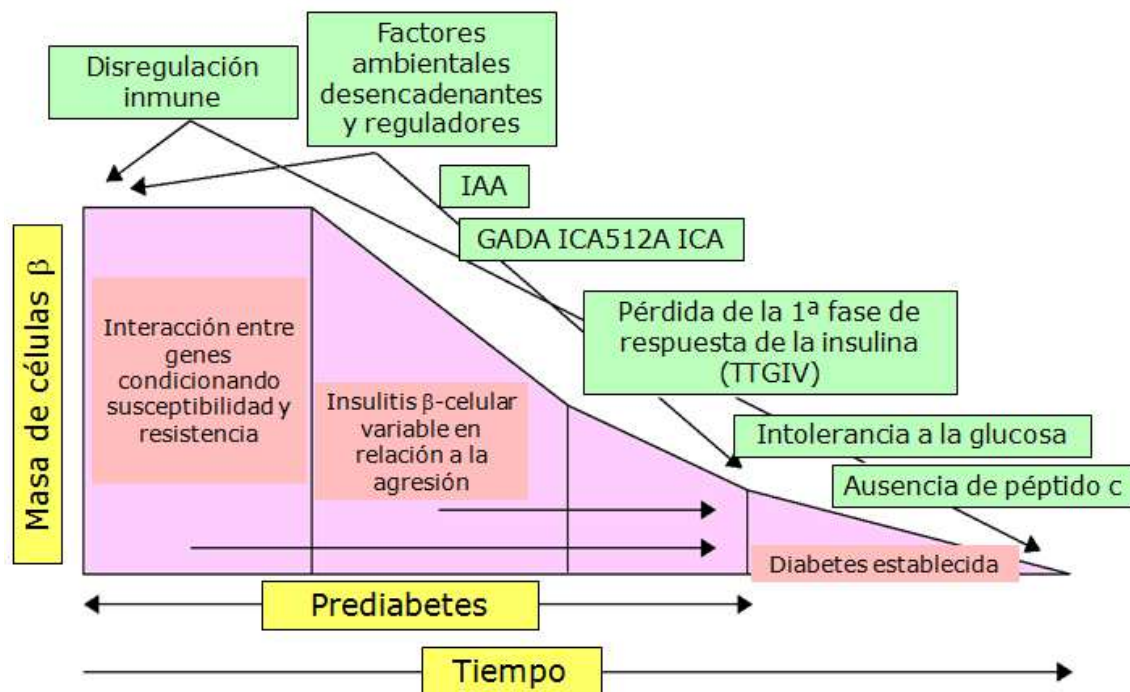
INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Como hemos comentado previamente, la DM1 es una enfermedad inmunoinflamatoria crónica en la que existe una destrucción selectiva de las células encargadas de la producción de insulina mediada por linfocitos T activados. Existe un periodo asintomático tras el cual la insulinopenia resultante es tal que de no administrarse la hormona de forma exógena el deterioro en el metabolismo de los hidratos de carbono llega a ser letal en todos los casos. Aunque la DM1 se ha conocido tradicionalmente como una enfermedad de la infancia, estudios epidemiológicos recientes han mostrado que su incidencia es comparable a la de la población adulta. En nuestra área podemos decir que se diagnostican entre 12 y 14 nuevos casos de DM1 por cada 100.000 habitantes y año y que esta incidencia se ha mantenido estable en los últimos 20 años(1).

Figura 1. Modelo de la etiopatogenia e historia natural de la DM1.

Adaptado de Atkinson et al. (8)



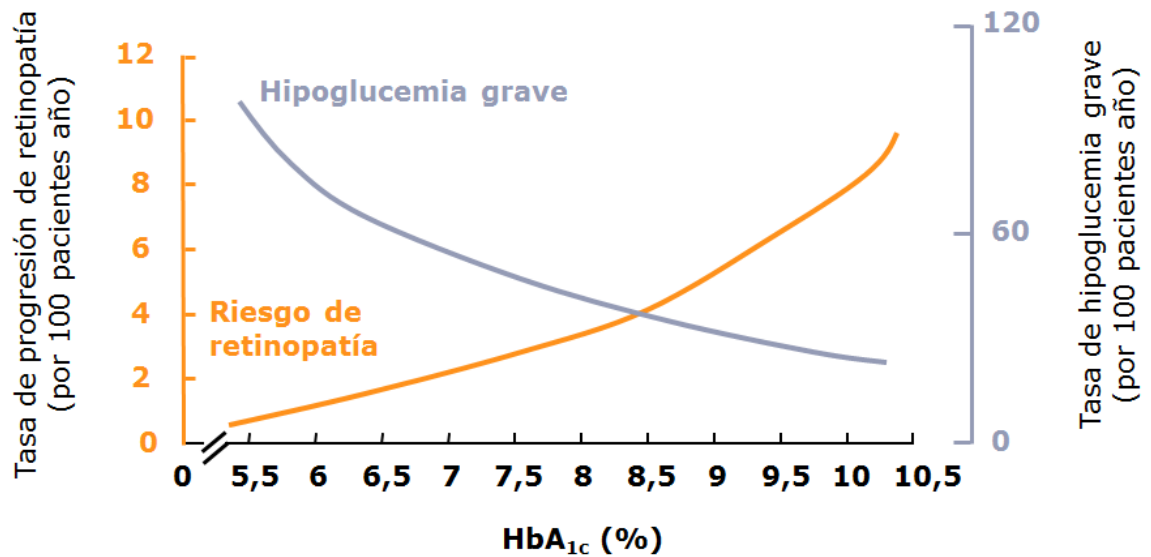
La interacción inicial de los genes y de los factores ambientales actuaría como factor desencadenante de la respuesta inmunológica, con la aparición posterior de anticuerpos antipancreáticos como el primer signo de la destrucción β-celular, seguida de la pérdida de la primera fase de secreción de insulina.

1. DM1, control glucémico y aparición de complicaciones crónicas microvasculares

El estudio que marca un antes y un después en la relación existente entre control metabólico y DM1 no es otro que el DCCT(2). Este estudio se diseñó con el fin de aclarar si la mejora del control glucémico de los pacientes con DM1 reduce la aparición (prevención primaria) y evita el empeoramiento (prevención secundaria) de las complicaciones crónicas de la enfermedad. Para ello se incluyeron 1441 pacientes (aproximadamente la mitad en prevención primaria) que se siguieron pormenorizadamente durante 6,5 años. A los pacientes tratados de forma convencional se les administraron dos dosis diarias de insulina. El tratamiento intensivo consistió en la administración subcutánea de insulina 3 ó 4 veces al día (inyecciones) o mediante un sistema de tipo ISCI (sistemas de tipo "bomba"). Mediante la modalidad intensificada de tratamiento se consiguió un descenso de 2 puntos en el valor de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) en comparación con lo observado en el grupo control. Aunque el tratamiento intensivo no evitó la aparición ni la progresión de las complicaciones por completo, los resultados obtenidos fueron incontestablemente favorables. La mejora del control glucémico redujo el riesgo de desarrollar retinopatía, nefropatía y neuropatía entre el 35 y el 75 % aproximadamente y disminuyó el riesgo de empeoramiento de las complicaciones entre un 50 y un 75 %.

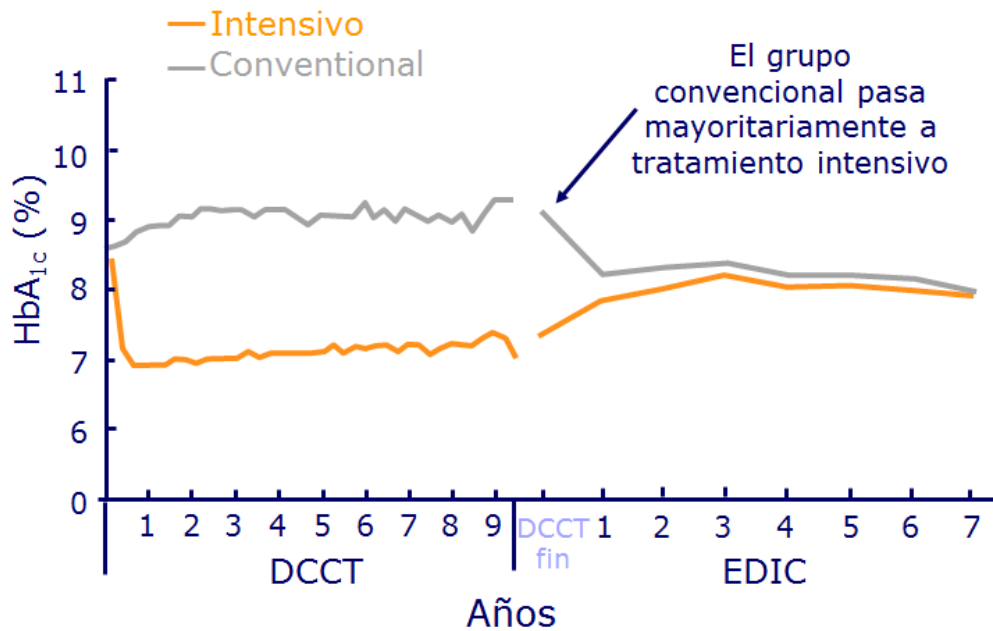
Finalizado el estudio DCCT, 1375 pacientes aceptaron participar en el estudio observacional de seguimiento denominado EDIC(9). Concretamente participaron el 95 % de los pacientes que habían recibido tratamiento intensivo y el 75 % de aquellos que habían recibido tratamiento convencional. Cabe señalar en primer lugar que 4 años después de finalizar el DCCT ya no había diferencias en las cifras de HbA_{1c} entre los dos grupos de pacientes. Este dato pone en evidencia las dificultades que tiene el mantenimiento de esta modalidad terapéutica en la práctica asistencial cotidiana. Sin embargo, el beneficio del control glucémico persistía. Es decir, la proporción de personas con un empeoramiento de las complicaciones microvasculares (nefropatía y retinopatía) fue más baja en aquellos pacientes que habían recibido años antes tratamiento intensivo(3)(10). En concreto, la incidencia acumulada de progresión de la retinopatía estaba reducida en un 75 % en aquellos pacientes que habían recibido tratamiento intensivo. En resumen, podemos afirmar que el tratamiento intensivo con insulina y el estricto control glucémico deben ser el estándar en el tratamiento de los pacientes con DM1 desde el debut de la enfermedad.

Figura 2. Estudio DCCT, control metabólico, retinopatía e hipoglucemia grave. Adaptado de NEJM 1993; 329:977-86 (2).



Durante el DCCT el riesgo de retinopatía se incrementó a medida que empeoró el control metabólico medido como valor de HbA_{1c}. A la inversa, con la mejoría del control metabólico disminuyó el riesgo de aparición/progresión de retinopatía sin embargo se incrementó de 2 a 3 veces el riesgo de hipoglucemia grave en el grupo de tratamiento intensivo.

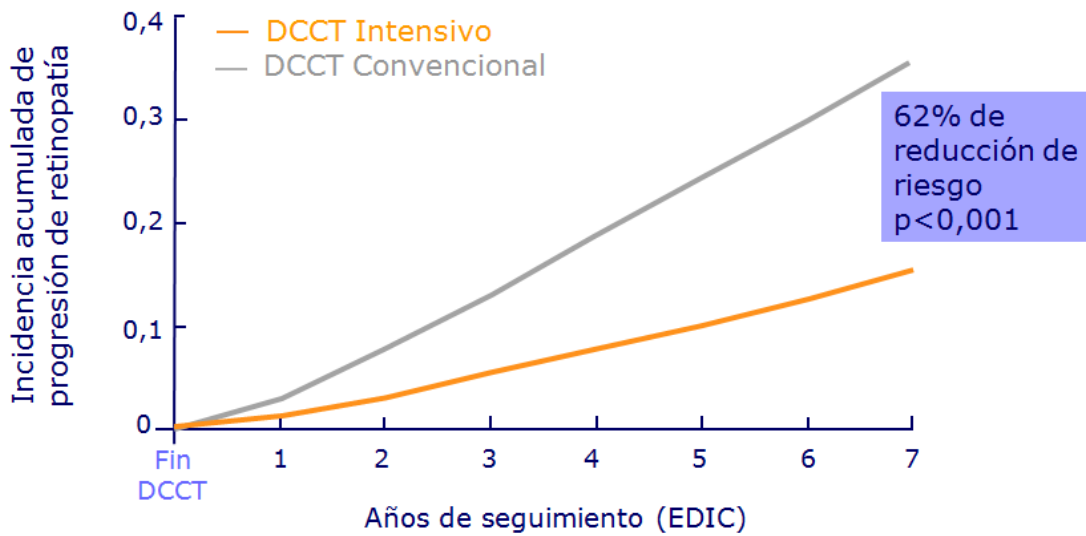
Figura 3. Estudios DCCT y EDIC. Diferencias en HbA_{1c} entre ambos grupos de tratamiento. Adaptado de NEJM 2005; 353:2643-2653(11).



Durante el DCCT el tratamiento intensivo con insulina redujo de forma significativa el valor de HbA_{1c} conseguida respecto al grupo que recibió tratamiento convencional. El grupo de tratamiento intensivo alcanzó un valor de HbA_{1c} de 7,2 % mientras que para el grupo de tratamiento convencional fue de 9,1 %. Posteriormente, durante el estudio EDIC, a ambos grupos de pacientes se les ofreció continuar o iniciar tratamiento intensivo. Durante este tiempo, los valores de HbA_{1c} entre ambos grupos fueron similares, alrededor de 8%.

Figura 4. Memoria metabólica en el EDIC. Reflexiones a partir de los resultados de los estudios DCCT/EDIC. *Adaptado de JAMA 2002; 287:2563-2569(12).*

DCCT/EDIC: Reducción del riesgo de complicaciones microvasculares a largo plazo



Tras finalizar el estudio DCCT, a todos los pacientes se les ofreció continuar con tratamiento intensivo durante el estudio EDIC. A pesar de que tras 4 años de la finalización del estudio DCCT no existían diferencias en el valor de HbA_{1c} entre ambos grupos de tratamiento, aquellos pacientes que recibieron tratamiento intensivo durante el DCCT seguían presentando menor incidencia de retinopatía. Es decir, el efecto beneficioso del DCCT sobre las complicaciones microvasculares persistía años después de finalizado el estudio.

2. DM1, control glucémico y aparición de complicaciones crónicas macrovasculares

La ECV es sin duda una de las mayores causas de morbimortalidad en los pacientes con DM(13)(14). La mayoría de datos epidemiológicos, socio-económicos y de intervención provienen del estudio de pacientes con DM2. La DM1 es, en comparación, mucho menos frecuente y habitualmente afecta a población más joven. Además, la mayoría de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) reconocidos en la DM2, no están presentes en los sujetos con DM1. Sin embargo, no debemos olvidar que aunque el riesgo absoluto de ECV es inferior en la DM1, el riesgo relativo ajustado por edad de estos pacientes comparados con sujetos de su misma edad puede ser hasta 10 veces mayor(15)(16). Además, el seguimiento prospectivo de pacientes con DM1 durante más de 20 años nos dice que alrededor del 40 % de los casos de mortalidad se justifican por eventos de origen coronario.

En nuestros días, la ECV ha arrebatado a la nefropatía el liderato en la causa más frecuente de muerte en los pacientes jóvenes con DM1. El riesgo cardiovascular que presentan los pacientes con DM1 probablemente está asociado, en parte, a las complicaciones microvasculares (fundamentalmente la alteración renal), la neuropatía del sistema autónomo, la presencia de hipertensión arterial (HTA) y la dislipemia. Sin embargo, estos factores no explican por sí solos el exceso de riesgo de ECV que presentan estos pacientes.

La investigación del papel que juega el control glucémico en el desarrollo de ECV en los pacientes con DM1 no siempre ha dado resultados concluyentes. De hecho, aunque en el DCCT se observó una reducción de más del 40 % en el riesgo del número de eventos cardiovasculares en el grupo con tratamiento intensivo, ésta no fue significativa. En una revisión sistemática (6 estudios, 1731 personas con DM1) reciente, se encontró que el tratamiento intensivo con insulina en comparación con el tratamiento convencional disminuyó significativamente el número de episodios de ECV (OR, 0,55), pero sin embargo no tuvo repercusión significativa en el número de personas que desarrollaron ECV o sobre la mortalidad por ECV(17).

La utilización de técnicas ecográficas no invasivas se ha extendido en los últimos años con el objetivo de detectar anomalías vasculares precoces que precedan a la aparición del evento clínico(18)(19)(20)(21)(22). En esta línea, el estudio EDIC incluyó la medida

ecográfica del grosor de la íntima media carotídea (c-IMT) como indicador de aterosclerosis(23). Los autores pudieron comprobar cómo el grosor de la c-IMT de los pacientes con DM1 era superior al de los sujetos control. Pero el hallazgo más relevante fue sin duda el hecho de que la progresión en el engrosamiento de la pared arterial de la carótida fue de menor magnitud en los sujetos que habían recibido tratamiento intensivo durante el DCCT en comparación con los que habían recibido tratamiento convencional. Más recientemente, el mismo estudio ha demostrado que el tratamiento intensivo reduce el riesgo de cualquier tipo de ECV en un 42 % y en un 57 % el de infarto de miocardio no fatal, ictus o muerte por ECV(11)(24).

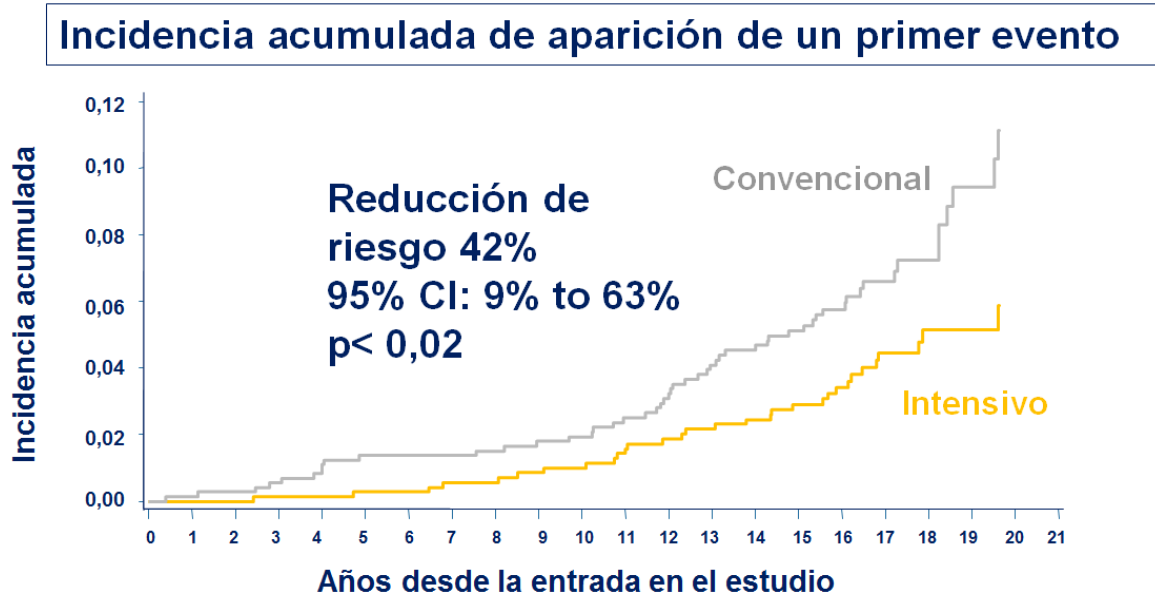
En resumen, el tratamiento intensivo también es eficaz a la hora de prevenir la progresión de fenómenos relacionados con la aterosclerosis aún muchos años después de haber finalizado el estudio original.

Tabla 1. Diferencias en el riesgo relativo para ECV entre la DM1 y la DM2. Tasas de incidencia y riesgo relativo para accidente vascular cerebral (AVC) en la DM1 y la DM2. Obtenido a partir de “*The Nurses Health Study, 1976-2002*”. Adaptado de *Diabetes Care* 2007; 30 (7):1730-1735(16).

N sujetos / Total AVC	Sin DM (105247/2384)	DM1 (303/33)	DM2 (10766/637)
Total AVC	1,0	4,7 (3,3-6,6)	1,8 (1,7-2,0)
Incidencia por 100000 p/año	92	475	240
AVC isquémico	1,0	6,3 (4,0-9,8)	2,3 (2,0-2,6)
	42	288	140
AVC trombótico	1,0	6,4 (3,9-10,5)	2,4 (2,1-2,7)
	33	230	118
Infarto por oclusión arterial extensa	1,0	7,2 (3,2-16,2)	2,0 (1,6-2,6)
	12	86	36
Infarto lacunar	1,0	7,2 (3,2-16,1)	2,8 (2,3-3,5)
	13	86	50
AVC hemorrágico	1,0	3,8 (1,2-11,8)	1,0 (0,7-1,4)
	10	43	12
AVC subtipo desconocido	1,0	4,7 (1,7-12,7)	2,3 (1,7-3,0)
	8	58	33

El “*The Nurses Health Study*” es un estudio prospectivo diseñado con el objetivo de valorar la relación existente entre DM1, DM2 y riesgo de AVC en mujeres. Se demostró que ambos tipos de DM se asocian con un incremento en el riesgo de padecer cualquier subtipo de AVC. Sin embargo, el riesgo relativo ajustado para cada tipo de AVC es significativamente superior en el grupo de pacientes con DM1 respecto a aquellos con DM2.

Figura 5. Resultados del estudio EDIC respecto a eventos cardiovasculares. *Adaptado de NEJM 2005; 353:2643-2653(11).*



Durante el DCCT y el seguimiento posterior en el estudio EDIC el tratamiento intensivo con insulina redujo el riesgo de infarto de miocardio no fatal, AVC y muerte por ECV en un 42 % (intervalo de confianza de 95 % 9-63 % con una $p < 0,05$).

3. DM1, control metabólico, hipoglucemia, hipoglucemia desapercibida e hipoglucemia grave

El tratamiento intensivo no está exento de contrapartidas que no podemos dejar de tener en cuenta. En primer lugar, esta modalidad terapéutica se asocia con un incremento en la aparición de hipoglucemia leve e HG del orden de 3 a 4 veces según los diferentes estudios publicados(25)(26). De hecho, este fenómeno es a día de hoy la principal contrapartida de este tipo de tratamiento y el principal condicionante de cara a implementar terapias intensivas en los sujetos con DM1(27).

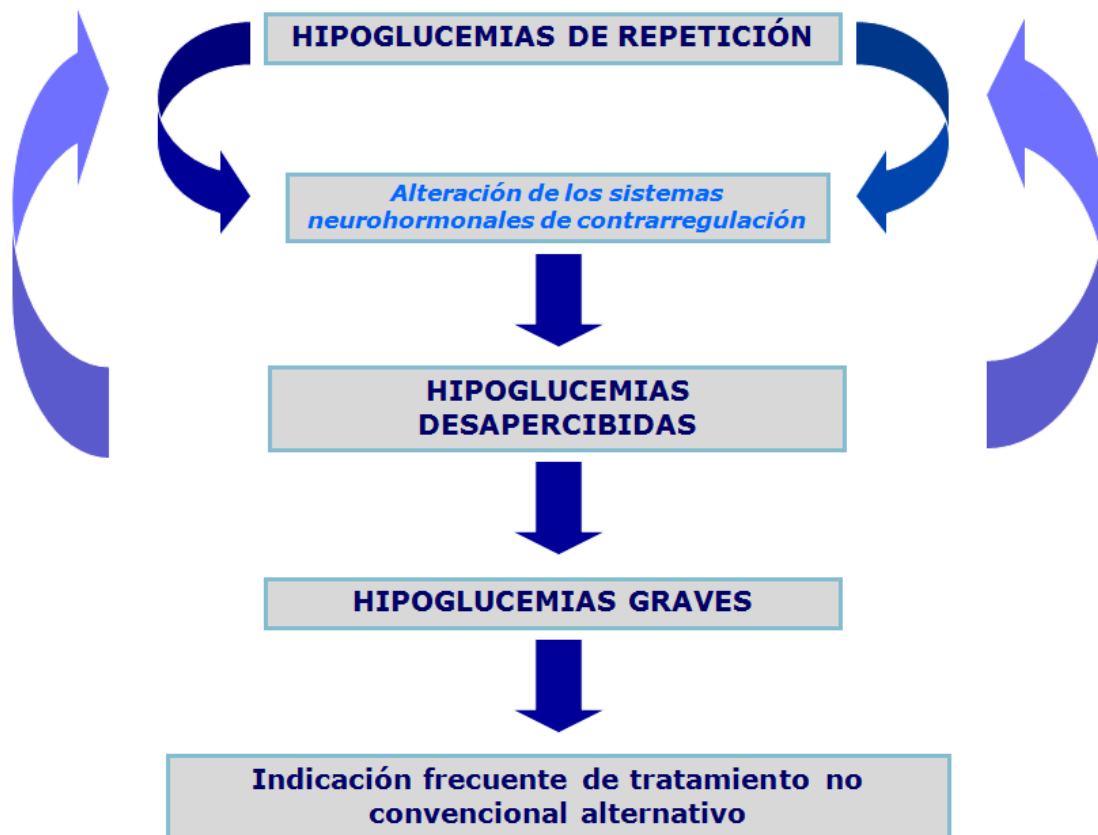
En algunos pacientes, por motivos aún desconocidos, la aparición recurrente de episodios de hipoglucemia leve condiciona la pérdida progresiva de los síntomas adrenérgicos y neuroglucopénicos fisiológicos de respuesta ante un episodio de hipoglucemia(28). De esta manera, aparecen las denominadas hipoglucemias desapercibidas o inadvertidas que multiplican el riesgo de aparición de HG de los pacientes con DM. Algunos trabajos han demostrado que la alteración de la percepción ante la hipoglucemia predispone al sujeto a un incremento 6 veces superior en el riesgo de aparición de HG. Si tenemos en cuenta, además, que la mayoría de estos episodios ocurren durante la noche, podemos imaginar el riesgo que esta situación comporta(29).

Durante los últimos años, el uso de los sistemas de monitorización continua de la glucosa (SMCG) nos ha permitido identificar mejor a los sujetos con hipoglucemias de repetición e hipoglucemia desapercibida. Actualmente se conoce que la frecuencia de hipoglucemia leve es el mejor predictor de la aparición de nuevos episodios y, sobretodo, de la aparición futura de episodios de HG(30).

El uso rutinario de cuestionarios específicos para la detección de pacientes con hipoglucemia desapercibida es también otra vía para el diagnóstico precoz de esta situación. Existen fundamentalmente tres cuestionarios específicos para cribar la hipoglucemia desapercibida en pacientes con DM: el test de Gold, el cuestionario de Pedersen-Bjergaard y el test de Clarke. De entre todos ellos, el cuestionario de Clarke et al. aporta no sólo información sobre percepción ante las hipoglucemias sino también datos sobre el dintel de glucemia a partir del que aparece sintomatología.

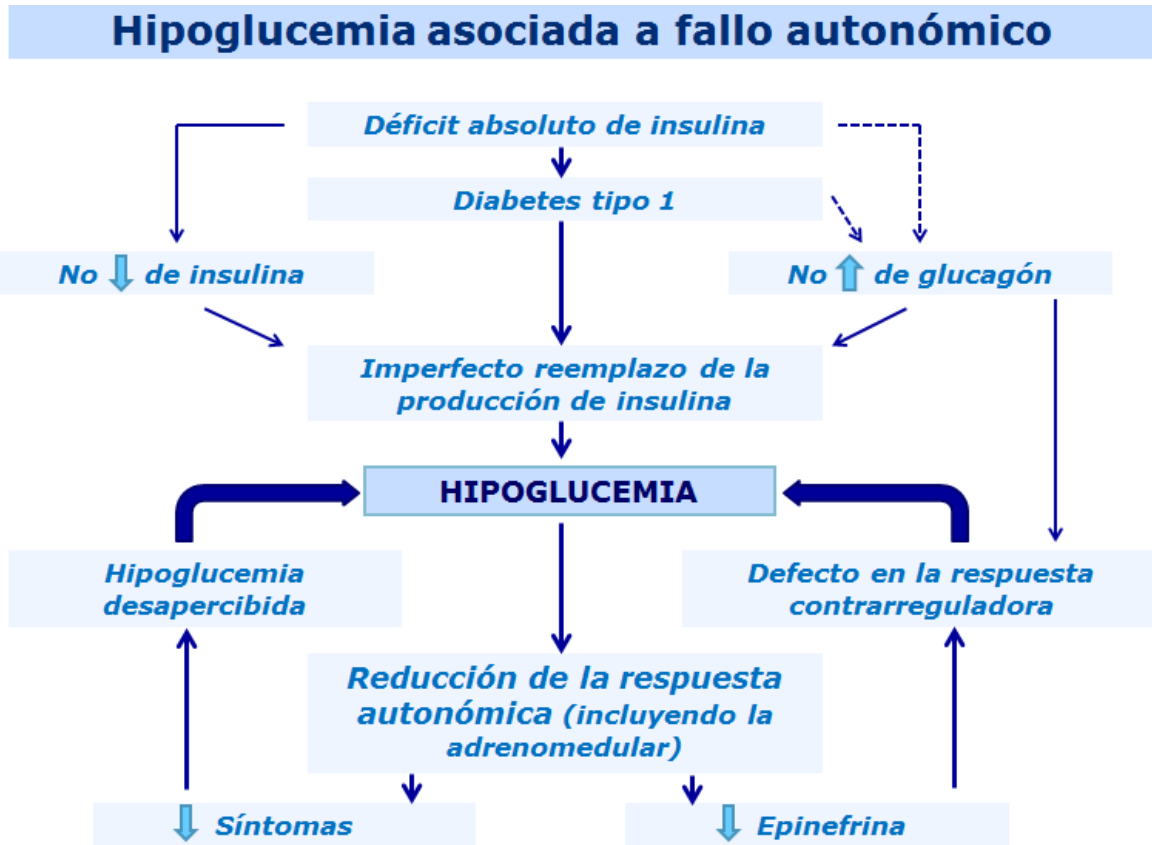
Cuando aparece de manera recurrente la hipoglucemia desapercibida y la HG, a menudo fracasa el tratamiento intensificado con MDI y nos vemos obligados a modificar los objetivos de control metabólico del paciente. Es por ello que a día de hoy, la aparición de HG de repetición o hipoglucemia desapercibida constituye una de las indicaciones más frecuentes de tratamiento intensificado no convencional alternativo. En la mayoría de países europeos, existe financiación para el tratamiento con sistemas de tipo ISCI para pacientes con DM1 que cumplan una serie de requisitos. Una de las indicaciones principales para este tratamiento es la aparición de hipoglucemias recurrentes y desapercibidas. La otra opción de tratamiento no convencional es el trasplante de páncreas aislados (en la actualidad es una opción excepcional pero plausible en algunos de estos pacientes) o bien el trasplante de islotes pancreáticos(31).

Figura 6. Hipoglucemias de repetición e hipoglucemia grave.



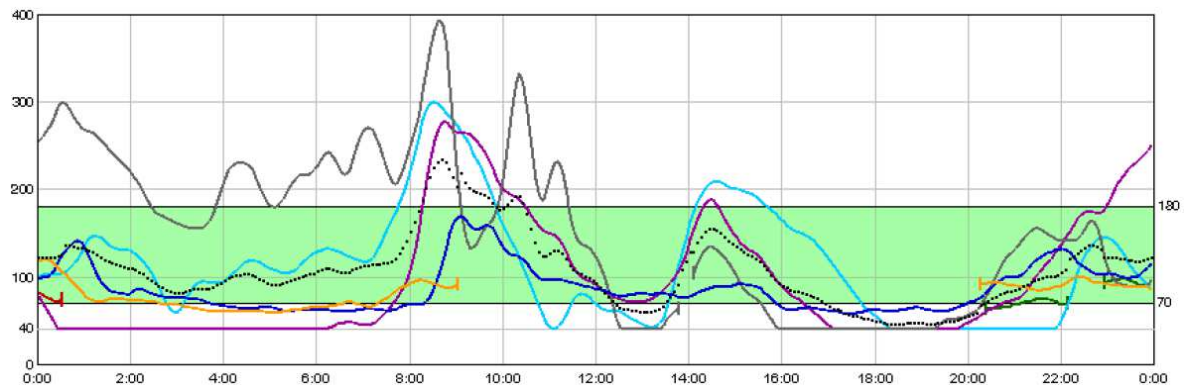
La hipoglucemia de repetición es el mejor predictor de la aparición de episodios de hipoglucemia grave. La presencia de hipoglucemia desapercibida condiciona un aumento en la frecuencia de hipoglucemias leves/moderadas y, consecuentemente, un incremento en el riesgo de hipoglucemia grave.

Figura 7. Hipoglucemia asociada a fallo autonómico. *Adaptado de NEJM 350:2272-2279, 2004(32).*



El concepto de hipoglucemia asociada a alteración en el sistema autonómico parte de la premisa de que la hipoglucemia iatrogénica asociada al tratamiento con insulina causa una alteración en la respuesta contrarreguladora (se reduce la respuesta de epinefrina ante un valor de glucemia bajo con una ausencia de reducción de insulina y ausencia de aumento de glucagón) y con ello aparece el fenómeno de hipoglucemia desapercibida (al reducir la respuesta simpatoadrenal resulta en síntomas neuroglucopénicos como única respuesta ante el evento) creándose un círculo vicioso de hipoglucemia recurrente.

Figura 8. SMCG para la detección de hipoglucemias desapercibidas.



Los SMCG de características “ciegas” permiten describir el perfil glucémico continuo de un paciente a lo largo de 3-7 días consecutivos en función del dispositivo. Podemos disponer de la información gráfica con los días consecutivos superpuestos de cara a identificar los fenómenos repetidos a lo largo de esa semana de monitorización. Ejemplo obtenido a partir de un registro de 6 días con el sistema de monitorización iPRO-2 de Medtronic. Cada línea coloreada corresponde a un día en concreto y la línea punteada al promedio de los 6 días de registro. Sombreado en verde los límites de euglucemia definidos como intervalo entre 70-180 mg/dl y de izquierda a derecha las horas del día iniciándose a las 24h. En este caso en concreto, el paciente pasa un 35 % del tiempo total de esos 6 días en hipoglucemia definida como valores de glucemia intersticial inferiores a 70 mg/dl.

Figura 9. Cuestionario de Clarke et al. para la valoración de la percepción ante las hipoglucemias. *Adaptado de Clarke WL et al. Diabetes Care 1995; 18(4):517-520(33). Versión en lengua castellana validada por Jansà M, Giménez M, Salamero M, Vidal M, Conget I, Galindo M, Levy I, Esmatjes E. "Validación en lengua castellana del cuestionario de percepción de hipoglucemia Clarke". Ajut a la Recerca en Educació Diabetològica 2008. Associació Catalana de Diabetis (ACD). Av Diab 2011. 27:24-25.*

1. **Escoja la categoría que mejor le describe (sólo una)**
 - a. Siempre tengo síntomas cuando mi azúcar en sangre está bajo
 - b. Algunas veces tengo síntomas cuando mi azúcar en sangre está bajo
 - c. Ya no tengo síntomas cuando mi azúcar en sangre está bajo.

2. **¿Ha perdido alguno de los síntomas que solía presentar ante una bajada de azúcar? (hipoglucemia)**
 - a. Sí b. No

3. **En los últimos seis meses, ¿Con qué frecuencia ha tenido episodios de hipoglucemia grave SIN pérdida de conocimiento? (episodios en los que se ha sentido confundido, desorientado, cansado y sin posibilidad de tratar usted mismo la situación de hipoglucemia).**
 - a. Nunca b. Una/dos veces c. 1 vez cada 2 meses
 - d. Una vez al mes e. Más de una vez al mes

4. **En el último año, ¿Con qué frecuencia ha tenido episodios de hipoglucemia grave CON pérdida de conocimiento? (episodios acompañados de pérdida de conciencia o convulsiones que hayan requerido la administración de glucagón o glucosa intravenosa).**
 - a. Nunca b. 1 vez c. 2 veces d. 3 veces e. 5 veces
 - f. 6 veces g. 7 veces h. 8 veces i. 9 veces j. 10 veces
 - k. 11 veces l. 12 veces o más

5. **En el último mes, ¿Con qué frecuencia ha tenido lecturas inferiores a 70 mg/dl con síntomas?**
 - a. Nunca
 - b. De 1 a 3 veces
 - c. 2 ó 3 veces/semana

- d. 4 ó 5 veces/semana
 - e. Casi cada día
6. **En el último mes, ¿con que frecuencia ha tenido lecturas inferiores a 70 mg/dl sin síntomas?**
- a. Nunca
 - b. De 1 a 3 veces
 - c. 2 ó 3 veces/semana
 - d. 4 ó 5 veces/semana
 - e. Casi cada día
7. **¿Hasta cuánto ha de bajar su azúcar en sangre para notar síntomas?**
- a. 60-69 mg/dl
 - b. 50-59 mg/dl
 - c. 40-49 mg/dl
 - d. inferior a 40 mg/dl
8. **¿Hasta qué punto puede decir por sus síntomas que su azúcar en sangre es bajo?**
- a. Nunca
 - b. Casi nunca
 - c. Algunas veces
 - d. Casi siempre
 - e. Siempre

4. DM1, control metabólico, hipoglucemia y otras comorbilidades asociadas

Varios estudios han demostrado que los pacientes con DM1, inclusive en niños, presentan más signos de aterosclerosis precoz y más ECV que los pacientes control sin DM. Existen trabajos que muestran mayor c-IMT y menor respuesta de dilatación de la arteria braquial en respuesta a la isquemia (*Flow-mediated dilatation, FMD*) en pacientes con DM1 respecto a controles sanos(34)(35)(36). Por otro lado, aunque es bien conocido que la hiperglucemia crónica aumenta la resistencia de los vasos sanguíneos de calibre medio, el análisis discontinuo de la glucemia capilar de los pacientes incluidos en el DCCT no fue capaz de encontrar alguna relación entre variabilidad glucémica y desarrollo de complicaciones crónicas. Además, a diferencia de los resultados obtenidos para pacientes con DM2, el estudio de varias medidas de variabilidad glucémica no ha sido capaz de encontrar mayor relación con estrés oxidativo a pesar de que la variabilidad glucémica es significativamente mayor en la DM1 que en la DM2.

Por otro lado, cabe decir que no existe ningún trabajo que compare la aterosclerosis precoz de una cohorte de pacientes con duración media de la DM1 con población general Mediterránea. El interés reside en que en algunas zonas del Mediterráneo la prevalencia de ECV es significativamente más baja respecto a otros países europeos(37). Este hecho obliga a seleccionar poblaciones control autóctonas de cara a comparar la aterosclerosis precoz en este grupo de pacientes.

La mayoría de características del perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 y control metabólico lábil (frecuentemente asociado a la presencia de hipoglucemias de repetición) las conocemos a partir del estudio de sujetos candidatos a trasplante de islotes pancreáticos. Sabemos que este subgrupo de pacientes presenta un perfil de riesgo más desfavorable que el de aquellos pacientes con DM1 con los mismos años de evolución de la enfermedad y el mismo perfil de complicaciones microvasculares(38). Además, sabemos que este hallazgo es independiente del grado de control metabólico y de la existencia de otras comorbilidades no directamente asociadas a la enfermedad.

Como posibles explicaciones para una posible relación entre hipoglucemia y ECV estarían los conocidos cambios que la hipoglucemia induce de forma directa e

indirecta y que producen una alteración significativa en el sistema cardiovascular(39)(40). Sin embargo, muy poco se ha investigado sobre las posibles vías fisiopatológicas en la aparición de ECV precoz de los pacientes con DM1 y mal control por hipoglucemias recurrentes. Sí se han evaluado, por contra, diversos efectos de la hipoglucemia aguda. Se ha relacionado la hipoglucemia con la elevación de marcadores proinflamatorios como la proteína C reactiva ultrasensible (PCR_{us}), que está relacionada con el riesgo cardiovascular de los pacientes con y sin DM(41)(42)(43)(44). Asimismo, las hipoglucemias recurrentes inducen cambios en la viscosidad plasmática y en la hemostasia que pueden disminuir la perfusión tisular(45). La relación entre los fenómenos proinflamatorios, la función endotelial y los fenómenos trombóticos es hoy bien conocida. En los últimos años, se ha reportado, por ejemplo, que los niveles elevados de fibrinógeno predicen la progresión de la calcificación de las arterias coronarias en pacientes con DM1(46). Asimismo, en jóvenes con DM1 y buen control metabólico se han descrito elevaciones de algunos marcadores inflamatorios, sugiriendo un papel de éstos en la aparición precoz de aterosclerosis en la DM1(47).

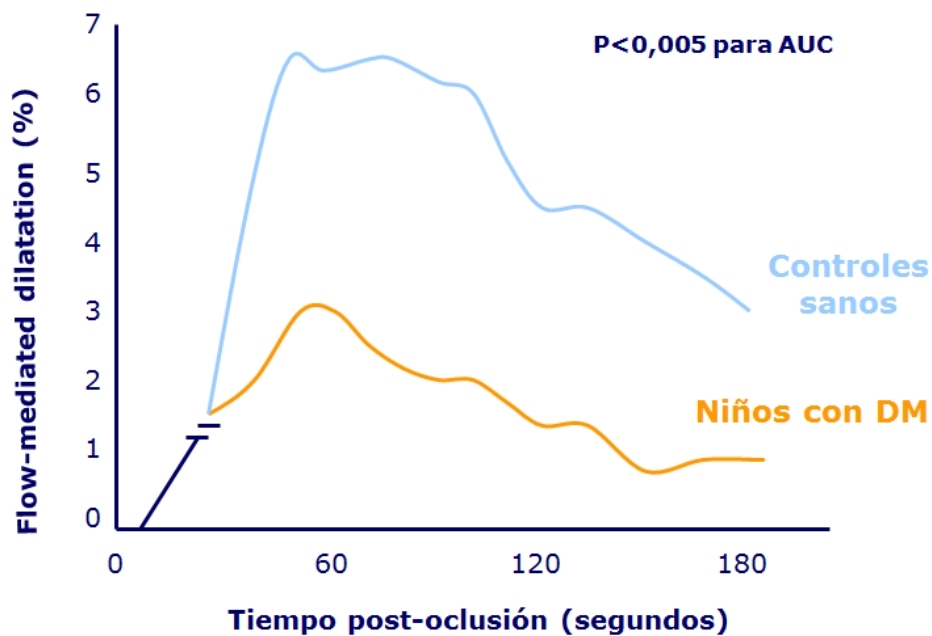
La aparición de hipoglucemia recurrente, especialmente durante el periodo nocturno, también se ha involucrado con cambios en el perfil diario de la presión arterial(48)(49). Concretamente, en aquellos pacientes bajo tratamiento intensivo con insulina se han detectado elevaciones de la presión arterial durante el periodo nocturno que se han relacionado potencialmente con la activación catecolaminérgica en estos pacientes(50)(51). Estos hallazgos, sin embargo, no se han constatado por otros autores(52). Cabe señalar de todos modos, que en ninguno de ellos se estudió de manera pormenorizada el perfil glucémico de los mismos y únicamente las características del control metabólico se establecieron en función de las cifras de HbA_{1c}. Hoy en día, la existencia de sistemas tipo Holter para monitorizar de forma continua la concentración de glucosa (minimamente invasivos) y su combinación con la monitorización ambulatoria de la presión arterial (MAPA) puede permitirnos el abordaje más fidedigno de las alteraciones que ocurren en estos pacientes y la relación temporal entre las mismas.

A todo lo mencionado, podemos añadirle dos factores más que potencialmente pueden contribuir a un peor perfil de riesgo cardiovascular en los pacientes que nos ocupan. Es bien conocido el hecho de que en los pacientes con hipoglucemias de repetición es más frecuente encontrar sobrepeso por la situación de hiperinsulinización y por la propia corrección mediante la ingesta, muchas veces en exceso, de los

fenómenos recurrentes(53). Esta situación y según datos recientes del estudio DCCT, se ha relacionado con el hecho de que en este subgrupo de pacientes los efectos positivos del tratamiento intensivo con insulina no se reflejen en algunos marcadores proinflamatorios(54).

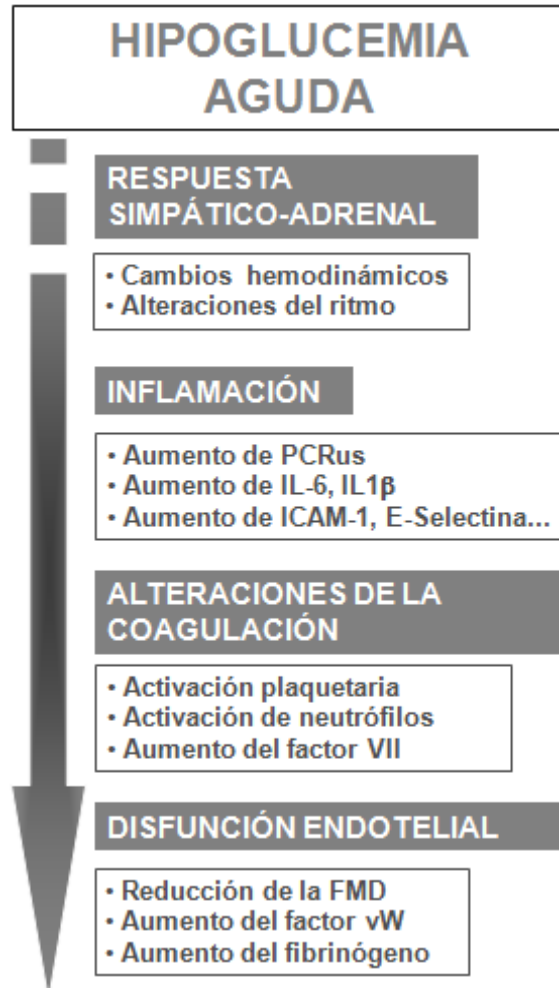
Por último, debemos recordar que las hipoglucemias recurrentes y las HG suponen hoy en día el mayor obstáculo para implementar de manera completa el tratamiento intensivo con insulina. En estos pacientes se suceden a la par periodos de hipoglucemias y periodos de hiperglucemia también recurrentes que además de su efecto pernicioso sobre el árbol micro y macrovascular, desvirtúan las cifras de HbA_{1c} como parámetro de control metabólico.

Figura 10. FMD en pacientes pediátricos con DM1 respecto a niños sanos. *Adaptado de Circulation 2004; 109:1750-1755(34).*



Se ha demostrado, inclusive en niños, que los pacientes con DM1 presentan más aterosclerosis precoz que sus homólogos sin DM. Se han detectado diferencias estructurales medidas como c-IMT e inclusive diferencias funcionales valoradas como diferencia en el porcentaje de respuesta a la FMD. En este trabajo, se valoraron ambos índices de aterosclerosis precoz siendo significativamente superiores los valores de c-IMT e inferiores los porcentajes de FMD en el grupo de niños con DM respecto al grupo control sin la enfermedad.

Figura 11. Efectos de la hipoglucemia aguda. *Adaptado de I. Conget y M. Giménez, Diabetes Management 2011 1(3), 291-297.*



Posibles efectos de la hipoglucemia aguda sobre la respuesta simpático-adrenal, la inflamación, alteraciones hemorreológicas y de función endotelial.

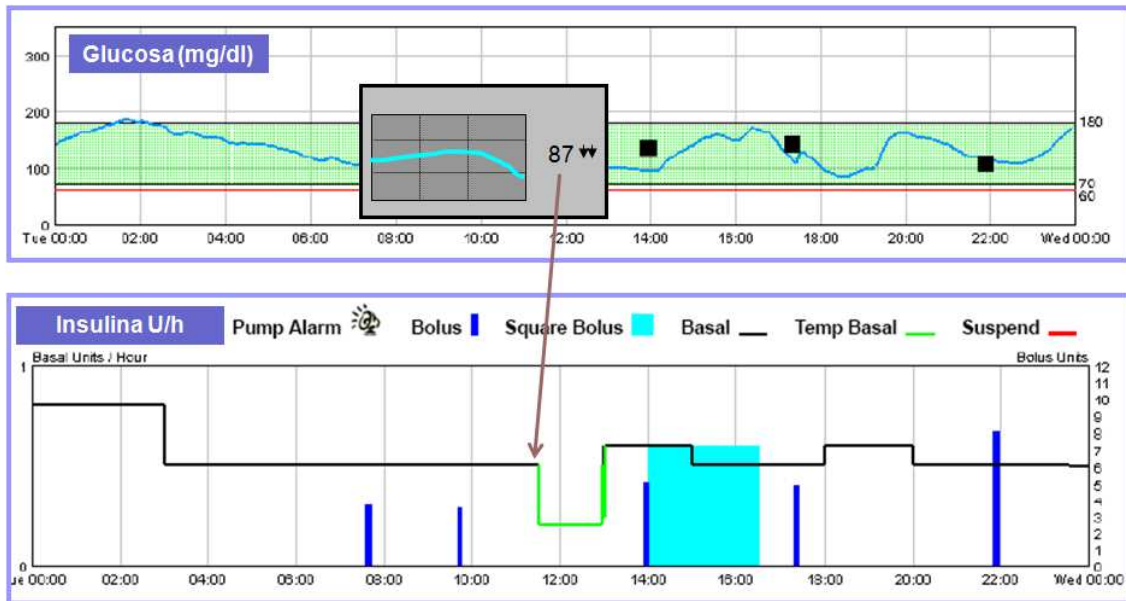
5. DM1, control metabólico, hipoglucemia de repetición, hipoglucemia grave y sistemas de infusión subcutánea continua de insulina

El tratamiento mediante “bomba” o sistemas tipo ISCI representa hoy en día una alternativa terapéutica en aquellos pacientes con DM1 en los que el tratamiento convencional intensivo con MDI se muestra ineficaz para alcanzar los objetivos de control deseados en un paciente. De hecho, la mayoría de agencias de evaluación de actividades biomédicas lo consideran hoy en día una opción plausible y a tener en cuenta en determinadas circunstancias. En nuestro medio, y dentro del sistema de financiación pública del *Servei Català de la Salut*, el control metabólico deficiente con hipoglucemias de repetición y la presencia de hipoglucemias desapercibidas e HG suponen prácticamente el 75 % de las indicaciones financiadas por el mismo. Los últimos metanálisis que han evaluado la eficacia de este tipo de tratamiento nos dicen que se puede conseguir una reducción de entre 0,35 y 0,95 % de las cifras de HbA_{1c} con una disminución del promedio diario de las cifras de glucemia del orden de los 17-19 mg/dl(55)(56)(57)(58)(59). Estas cifras que a priori podrían parecer de una magnitud de carácter menor, es obvio que quedan maquilladas por el hecho de que este tipo de terapéutica se asocia también a una disminución en el número de hipoglucemias. Cabe señalar que si bien inicialmente la presencia de hipoglucemias constituía un hándicap para el uso de ISCI, en la actualidad la situación es bien distinta, considerándose estas últimas una de sus principales indicaciones. En el estudio “5-Nations”, en el que tuvimos la oportunidad de participar como centro, pudimos comprobar cómo la utilización de ISCI en comparación con el uso de MDI además de disminuir las cifras de HbA_{1c} (-0,23%) y mejorar las fluctuaciones de la glucemia, produjo una disminución significativa de las hipoglucemias leves/moderadas y de las de carácter grave(59). Por otro lado cabe señalar que en uno de los escasísimos estudios en que se ha evaluado la relación coste-eficacia del uso de ISCI, se demostraba que esta relación era especialmente favorable cuando la ISCI se usaba en aquellos pacientes con mal control por HG(60)(56)(61). Sin embargo, a día de hoy no existen estudios específicamente diseñados para valorar el impacto de este tratamiento en la percepción y frecuencia de hipoglucemias a medio plazo.

En los últimos años además, la incorporación de los SMCG, el uso por parte del paciente de la información que proporcionan a tiempo real y su combinación con equipos ISCI que incorporan algoritmos de modificación de la infusión de la hormona, han abierto la puerta a la utilización de sistemas artificiales de suministro autoregulado

de insulina que sin duda van a revolucionar el tratamiento, pronóstico y calidad de vida de los pacientes con DM1.

Figura 12. Actuación de los sistemas combinados de infusión subcutánea continua de insulina y de monitorización continua de la glucosa. *Adaptado de J. Ampudia, I. Conget, M. Giménez y M. Torres, "Optimización del control glucémico mediante monitorización continua de la glucosa interactiva en pacientes adultos y en edad pediátrica. Manual para profesionales no iniciados y avanzados, editado por Medtronic Ibérica 2010".*



El uso de los sistemas combinados de ISCI-SMCG a tiempo real informa sobre el valor de glucosa intersticial cada 5 min con la tendencia de las horas previas y la velocidad a la que está modificándose dicha concentración de glucosa. Esta información permite que el paciente pueda actuar con más rapidez, en este caso utilizando una línea basal temporal, para corregir un determinado fenómeno.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO

Tal y como se ha comentado en la introducción, el tratamiento intensivo con MDI reduce significativamente el riesgo de complicaciones crónicas micro y macrovasculares en los pacientes con DM1 y es, por tanto, el tratamiento de elección desde el diagnóstico de la enfermedad. Sin embargo, esta modalidad de terapia se asocia con un aumento en la aparición de hipoglucemias de repetición leves/moderadas y graves, lo que condiciona en ocasiones su implementación y su éxito. Se calcula que aproximadamente un 20% de los pacientes con DM1 presenta mal control metabólico crónico asociado a la presencia de hipoglucemias de repetición, fenómeno que condiciona que ésta sea una de las indicaciones principales de tratamiento intensificado no convencional alternativo. Desde que se introdujo en el *Servei Català de la Salut* el uso de los sistemas de tipo ISCI, el mal control metabólico incluyendo la indicación por hipoglucemia de repetición ha constituido más del 60% de las indicaciones. Por otro lado, la DM1 de control "lábil" (que en más del 50% de los casos se asocia a la presencia de hipoglucemia de repetición) es la principal indicación establecida para el trasplante de islotes pancreáticos (o bien de trasplante de órgano aislado aunque en menor proporción) en la mayoría de centros internacionales donde existe un programa de este tipo.

Existe suficiente evidencia científica que confirma que el uso de estos sistemas de tipo ISCI es eficaz en los pacientes con DM1 y mal control asociado a hipoglucemias de repetición e HG. No obstante, a día de hoy no existe ningún trabajo específicamente diseñado para valorar el impacto de distintas modalidades de tratamientos o de programas educativos dirigido a este grupo particular de pacientes.

Por otro lado, existen numerosos estudios que han demostrado que los pacientes con DM1, aun aquellos asintomáticos, presentan signos de aterosclerosis y ECV precoz en mayor proporción que los pacientes control sin la enfermedad. Pese a ello, no existen datos que corroboren estos hallazgos en población Mediterránea donde la prevalencia de ECV es significativamente más baja que en países nórdicos.

A partir de los resultados de diversos estudios que han evaluado de forma pormenorizada el perfil cardiovascular de los pacientes candidatos a trasplante de islotes pancreáticos, sabemos que los pacientes con DM1 y control lábil (incluyendo aquellos con hipoglucemias de repetición) presentan un perfil de riesgo de ECV más desfavorable que los pacientes con DM1 control con la misma duración de la enfermedad y el mismo perfil de complicaciones microvasculares asociada. Además,

este hallazgo ha demostrado ser independiente del grado de control metabólico y de la presencia de otras comorbilidades no asociadas directamente a la enfermedad.

Por último, trabajos recientes sugieren que la hipoglucemia aguda se relaciona con la elevación de algunos marcadores inflamatorios, con alteraciones de la viscosidad plasmática y alteraciones en marcadores hemorreológicos que podrían contribuir a la disminución de la perfusión tisular y al empeoramiento de la función endotelial de estos sujetos.

Por todo lo anteriormente mencionado nuestra HIPÓTESIS de trabajo es que los pacientes con DM1 lábil con hipoglucemias de repetición e HG presentan un perfil de riesgo cardiovascular más desfavorable que aquellos que no presentan esta condición.

La corrección de esta situación y sus posibles efectos deletéreos sobre el árbol cardiovascular mediante la utilización de sistemas ISCI y de SMCG podría potencialmente contribuir no sólo a la mejora del control metabólico y a las alteraciones asociadas, sino también a la del perfil cardiovascular de este tipo de pacientes.

Desde este punto de vista, los OBJETIVOS planteados en esta tesis son los siguientes:

- 1) Cuantificar la proporción de pacientes a los que se solicita tratamiento con ISCI en nuestro centro por presentar HG de repetición. Valorar el efecto del tratamiento ISCI en una cohorte de pacientes de nuestro centro seguidos durante dos años de tratamiento.
- 2) Caracterizar a un grupo de pacientes con DM1 y mal control metabólico asociado a hipoglucemias de repetición. Evaluar la relación existente entre la clínica, los resultados de la monitorización continua de la glucosa y de la prueba de provocación de hipoglucemia.
- 3) Estudiar el c-IMT de un grupo de pacientes con DM1 de nuestras consultas. Compararlo con su grupo etario en la población de referencia Mediterránea.

- 4) Evaluar si el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 de difícil control o “lábil” con hipoglucemias de repetición e HG es más desfavorable que el de aquellos sujetos con DM1 que no presentan esta condición.

- 5) Evaluar si la utilización de sistemas de tipo ISCI mejora el perfil glucémico, incluyendo la disminución de la frecuencia de hipoglucemias de repetición, y mejora la percepción de las mismas en aquellos pacientes con DM1 con control lábil por HG de repetición.

OBJETIVO 1:


Cuantificar la proporción de pacientes a los que se solicita tratamiento con ISCI en nuestro centro por presentar hipoglucemias de repetición graves. Valorar el efecto del tratamiento con ISCI en una cohorte de pacientes de nuestro centro seguidos durante dos años de tratamiento.

OBJETIVO 1

1. Justificación del objetivo

El tratamiento intensivo con insulina en la DM1 ha demostrado reducir de forma significativa el riesgo de aparición y de progresión de complicaciones micro y macrovasculares durante el seguimiento crónico de estos pacientes. De esta manera, a día de hoy constituye el tratamiento estándar desde el debut de la enfermedad. Por otro lado, este tipo de tratamiento se asocia forzosamente con un aumento de 3 a 4 veces del riesgo de aparición de episodios de HG, lo que en ocasiones condiciona no sólo la aplicación sino también el éxito del tratamiento intensivo. La aparición de hipoglucemias de repetición es una causa frecuente de mal control metabólico crónico y, por tanto, es una indicación de tratamiento intensificado no convencional alternativo.

En este contexto, dentro del **Objetivo 1** se planteó en primer lugar describir las características de los pacientes con DM1 a los que se les solicita tratamiento intensificado no convencional con sistemas de tipo ISCI en nuestro centro y valorar la proporción de pacientes en los que la indicación por mal control metabólico crónico va ligada a la presencia de hipoglucemias de repetición graves y no graves. En segundo lugar se planteó valorar la eficacia de esta modalidad de tratamiento en términos de grado de control metabólico y de percepción de calidad de vida. Para este último propósito se evaluó a una cohorte de pacientes a los que se siguió de forma prospectiva durante 24 meses de tratamiento con ISCI.

Publicación surgida de este objetivo ():

Efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in type 1 diabetes: a 2-year perspective using the established criteria for funding from a National Health Service

Marga Giménez, Ignacio Conget, Marga Jansà, Mercè Vidal, Gastón Chiganer, Isaac Levy

Diabetic Medicine 2007; 24:1419-1423

Comunicaciones surgidas de este objetivo (9):

- *Eficàcia del tractament amb infussors subcutanis d'insulina en la diabetis de tipus 1 seguint les indicacions i les guies d'actuació establertes pel Servei Català de la Salut. Perspectiva a 2 anys.*
Marga Giménez, Ignacio Conget, Marga Jansà, Mercè Vidal, Gonzalo Díaz, Gastón Chiganer, Isaac Levy. 9è Congrés de l'Associació Catalana de Diabetis. Barcelona, 22-23 de Març de 2007.

- *Efficacy in continuous subcutaneous insulin infusion in type 1 diabetes: a 2-year perspective under the established guidelines and indications for funding from a national health service.*
Marga Giménez, Ignacio Conget, Mercè Vidal, Marga Jansà, Gastón Chiganer, Isaac Levy. 67th Scientific Sessions, American Diabetes Association. Chicago, IL. 22-26 June 2007.

- *Efficacy in continuous subcutaneous insulin infusion in type 1 diabetes: a 2-year perspective under the established guidelines and indications for funding from a national health service.*
Marga Giménez, Isaac Levy, Marga Jansà, Mercè Vidal, Gastón Chiganer, Ignacio Conget. 43rd EASD Annual meeting 2007. Amsterdam, September 2007.

2. Material y métodos

Se diseñó un estudio longitudinal, prospectivo, observacional y unicéntrico incluyendo una cohorte de 153 pacientes con DM1, todos ellos previamente tratados con MDI y tras haber sido sometidos a varios ciclos de educación terapéutica destinados a optimizar su grado de control metabólico. En todos ellos se indicó, entonces, tratamiento intensificado no convencional con un sistema ISCI siguiendo los criterios para obtener el reembolso por el *Servei Català de la Salut*. Del grupo global de pacientes, el 22 %, 68 % y el 10 % fueron previamente tratados con insulina regular, lispro y aspártica, respectivamente, como insulinas de acción rápida. Como insulina basal, se utilizó insulina NPH (Neutral Protamin Hagedorn) en todos los sujetos. Ninguno de estos pacientes recibía tratamiento con análogos de insulina lenta en aquel momento. Las indicaciones para iniciar tratamiento con ISCI incluían: (i) control glucémico subóptimo (cuando el tratamiento intensificado con MDI no es capaz de conseguir un valor de HbA_{1c} < 7,5 % sin hipoglucemias de repetición), (ii) hipoglucemia grave de repetición e hipoglucemia desapercibida, (iii) dificultades extremas en el control glucémico nocturno (hiperglucemia recurrente basal y/o hipoglucemia recurrente nocturna), incluyendo el fenómeno del alba marcado, (iv) control pregestacional y gestación en la DM1, (v) rápida progresión o aparición precoz de complicaciones microvasculares, (vi) alergia a la insulina o lipoatrofia grave y; (vii) horarios laborales variables que condicionan una importante dificultad en el manejo del perfil glucémico. Se comprobó, asimismo, la ausencia de cualquier contraindicación para el tratamiento con ISCI, que en general incluye la incapacidad para mantener un autocontrol en el tratamiento de la DM bajo MDI, mala adherencia al tratamiento y a las visitas fijadas con su equipo terapéutico o la evidencia de un trastorno psiquiátrico. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínic i Universitari de Barcelona, España y todos los sujetos incluidos en el mismo dieron su consentimiento informado por escrito.

Durante el mes previo al inicio del tratamiento con ISCI, se recogió información general de cada uno de los pacientes incluyendo edad, sexo, duración de la enfermedad, índice de masa corporal (IMC), presencia de complicaciones asociadas a la DM, dosis de insulina bajo tratamiento con MDI junto con las indicaciones establecidas en cada caso para el inicio de ISCI. Se analizaron los episodios de HG ocurridos durante el año previo al inicio del tratamiento con ISCI. Las hipoglucemias leves y moderadas se obtuvieron de los diarios de recogida de glucemia capilar de los propios pacientes. Estos últimos episodios se definieron como aquellas hipoglucemias que el paciente

resuelve sin la ayuda de una tercera persona o bien aquellas mediciones de glucemia capilar $< 3,3$ mmol/l y se dividieron por su frecuencia en tres categorías distintas: < 3 episodios/semana, 3-5 episodios/semana y >5 episodios por semana. Los episodios de HG se definieron como aquellas hipoglucemias asociadas a tal neuroglucopenia que el paciente no es capaz de resolver la situación por sí solo y requiere la ayuda de una tercera persona. Se recogieron también los episodios de cetoacidosis diabética (CAD) durante el año previo al inicio de ISCI. El valor de HbA_{1c} (HPLC, Menarini Diagnostici, Firenze, Italy; rango normal 3,5 – 5,5 %) y del perfil lipídico se analizaron al inicio del estudio.

Se valoró la calidad de vida de los pacientes mediante el uso de tres cuestionarios diferentes: el Diabetes Quality-of-life (DQoL) (a mayor puntuación, mayor deterioro en la calidad de vida); el cuestionario SF-12 de salud general y un cuestionario adicional que valora el estilo de vida, el manejo del tratamiento y la aceptación de la enfermedad. Este último cuestionario incluye, además, cuatro ítems respecto a hábitos alimentarios y tres más sobre flexibilidad del estilo de vida y hábitos de sueño.

Todos los sujetos incluidos en el estudio recibieron un programa de educación terapéutica (PET) específico para pacientes que inician tratamiento con ISCI. El PET tiene habitualmente una duración de 4 meses y consta de las siguientes fases: (i) sesión inicial en grupo, (ii) sesión inicial individual y familiar, (iii) inicio del tratamiento con ISCI y (iv) seguimiento del programa y finalización del mismo. A cada paciente se le prescribió de forma individual una dieta ajustada a su edad e IMC y las dosis de insulina se adaptaron para conseguir valores de glucemia basal y preprandial entre 3,9 - 7,0 mmol/l, postprandiales entre 8 - 10 mmol/l (1h) y al acostarse entre 6 - 10 mmol/l, siempre basándose en el registro con 4 - 6 controles de glucemia capilar diarios. El mismo equipo médico visitó a todos los pacientes el número de veces necesarias durante el periodo PET y cada 2 - 3 meses posteriormente hasta los 24 meses de seguimiento. Se les recordó a los pacientes los objetivos de control así como las pautas para modificar las dosis de insulina en las visitas. Todos los pacientes utilizaron sistemas ISCI con diferentes líneas basales (LB) preprogramables. Veintisiete sujetos iniciaron ISCI con el sistema Minimed 507C (Minimed Technologies, Northridge, CA, USA), 12 utilizaron el sistema Minimed 508 (Minimed Technologies, Northridge, CA, USA), 98 el sistema HTron V-100 (Disetronic Medical Systems, AG, Burgdorf, Switzerland) y, por último, 18 pacientes utilizaron el sistema Animas 1000 (Animas Corporation, West Chester, PA, USA).

Tras 24 meses de tratamiento con ISCI, se reevaluaron todos los parámetros analizados en el momento basal pre tratamiento con ISCI. Se calcularon los eventos adversos, incluyendo los episodios de HG y CAD así como los problemas locales asociados a signos de disconfort en la zona de punción del catéter.

a. **Análisis estadístico**

Los resultados se presentan como media \pm DE (desviación estándar). Las comparaciones del grupo en global entre los periodos basal y 24 meses se realizaron mediante un análisis de T-Student. Las diferencias de resultados entre subgrupos se compararon mediante el uso de un T-Student para datos no apareados o bien mediante un ANOVA para las medidas repetidas. Las comparaciones entre proporciones se realizaron mediante un test de X^2 . Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. El estudio estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS (Statistical Package for Social Science) versión 10.0 para Windows (SPSS versión 10.0, SAS Institute, Cary, NC, USA).

3. **Resultados**

Original Article: Treatment

Efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in Type 1 diabetes: a 2-year perspective using the established criteria for funding from a National Health Service

M. Giménez, I. Conget, M. Jansà, M. Vidal, G. Chiganer and I. Levy

Endocrinology and Diabetes Unit, IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Hospital Clínic i Universitari, Barcelona, Spain

Accepted 20 June 2007

Abstract

Aim To determine the 2-year efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) following the current established criteria for funding of a National Health Service.

Methods Longitudinal, prospective, observational unicentre study. Included in the study were 153 Type 1 diabetes (T1D) subjects, previously treated with multiple daily injections (MDI) of insulin, in whom CSII was started in accordance with the criteria for reimbursement of the Catalan National Health Service. At baseline, we recorded data on age, gender, duration of the disease, body mass index (BMI), insulin dose and indications for CSII. Glycated haemoglobin (HbA_{1c}) and the frequency of hypoglycaemic events were used to assess glycaemic control. Quality of life was assessed using three different self-report questionnaires. After 24 months, these same items were remeasured in all subjects. Serious adverse events and injection-site complications were also recorded.

Results In 96% of subjects, CSII indication included less than optimal glycaemic control using MDI. HbA_{1c} fell from 7.9 ± 1.3 to $7.3 \pm 1.1\%$ ($P \leq 0.001$) after 24 months of CSII. Insulin requirements were significantly lower at the end of follow-up (0.55 ± 0.21 U/kg body weight) in comparison with before use of CSII (0.70 ± 0.20 , $P \leq 0.001$). BMI increased from 24.0 ± 3.1 to 24.4 ± 3.2 kg/m² after 24 months ($P \leq 0.025$). The rate of episodes of diabetic ketoacidosis per year remained unchanged. Mild and severe hypoglycaemic episodes were significantly reduced. The scores in all subsets of the Diabetes Quality-of-Life (DQoL) questionnaire significantly improved after 24 months of CSII.

Conclusions CSII, commenced according to the criteria for a nationally funded clinical programme, improves glycaemic control and quality-of-life outcomes with fewer hypoglycaemic episodes in T1D subjects previously conventionally treated with MDI.

Diabet. Med. 24, 1419–1423 (2007)

Keywords continuous subcutaneous insulin infusion, National Health Service, Type 1 diabetes

Abbreviations BMI, body mass index; CSII, continuous subcutaneous insulin infusion; DKA, diabetic ketoacidosis; DQoL, Diabetes Quality-of-Life; HbA_{1c}, glycated haemoglobin; MDI, multiple daily injections of insulin; T1D, Type 1 diabetes; TEP, therapeutic education programme

Introduction

Intensive insulin therapy using multiple daily injections (MDI) is recognized as the 'gold standard' treatment for optimizing

the glycaemia profile of patients with Type 1 diabetes (T1D). The benefits of this treatment in reducing the risk of microvascular and probably macrovascular complications associated with the disease have been clearly demonstrated [1–4]. However, in addition to the risk of severe hypoglycaemia, there are a substantial proportion of subjects in whom less than optimal glucose profile and markedly elevated glycated haemoglobin (HbA_{1c}) persists over time in spite of MDI [5].

Correspondence to: Dr I. Conget, Endocrinology and Diabetes Unit, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail: iconget@clinic.ub.es

Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII), also known as insulin pump therapy, represents an alternative to MDI when this conventional intensive insulin therapy is unable to achieve the major glycaemic goals of diabetes treatment: HbA_{1c} within desirable levels without an unacceptable incidence of hypoglycaemia [6,7]. Until now, CSII has demonstrated beneficial effects in reducing the number of episodes of severe hypoglycaemia, as well as diminishing HbA_{1c} from -0.5 to -1.2%, depending on the meta-analysis [8,9]. However, there is currently no information comparing the effects of MDI and CSII on diabetic complications in the long term and, at present, it appears unlikely that there will be information in the near future.

There is an enormous difference in cost between conventional therapy using MDI and CSII. Likewise, data on the cost-effectiveness of CSII compared with MDI in the delivery of intensive insulin therapy for the treatment of diabetes are still very scarce and not completely conclusive [10–12]. National health services and authorities are currently analysing their financial ability to sustain the cost of CSII therapy implementation in T1D using specific guidelines and indications, including the most suitable target groups of subjects [11].

The aim of this study was to determine the 2-year global efficacy of CSII compared with previous MDI conventional therapy following the current established indications and the guidelines of the Catalan National Health Service.

Patients and methods

We conducted a longitudinal, prospective, observational, single-centre study, including a cohort of 153 subjects with T1D, previously treated with MDI supported by optimized education, in whom CSII was started following the criteria for reimbursement of the Catalan National Health Service authorities. Of the subjects, 22%, 68% and 10% were previously treated with regular, lispro and aspart, respectively, as rapid-acting insulins. NPH insulin was used as basal insulin in all subjects as required. None received long-acting analogues. The indications for CSII included: (i) less than optimal glycaemia control (intensive insulin therapy with MDI has been unable to maintain HbA_{1c} < 7.5% without disabling hypoglycaemia); (ii) recurrent severe hypoglycaemic episodes and unawareness of hypoglycaemia; (iii) extreme difficulties in nocturnal glycaemia control (recurrent basal hyperglycaemia and/or recurrent nocturnal hypoglycaemia), including dawn phenomenon; (iv) preconception and pregnancy planning; (v) rapid disease progression and early microvascular complications; (vi) insulin allergy or severe lipoatrophy; and (vii) variable work activity schedules with difficult management of glycaemic profile. Contraindications for CSII were ruled out in all subjects, mainly including inability to perform self management of an intensive insulin therapy programme, evidence of poor treatment compliance and failure to attend outpatient clinics, and evidence of a disabling psychiatric disorder. The study was approved by the Ethical Committee of Hospital Clínic i Universitari, Barcelona, Spain, and all subjects gave informed written consent.

Within the 1-month period of time before initiation of CSII, data on age, gender, duration of the disease, body mass index

(BMI), presence of diabetic complications, insulin dose and indications for CSII were recorded. Patients were questioned regarding the number of hypoglycaemic episodes. These were classified as severe or mild and were estimated from the subjects' diaries of self-capillary blood glucose monitoring. Mild hypoglycaemic events were defined as symptoms or signs associated with hypoglycaemia experienced by the patient and self treated without the need of assistance from a third party, or a blood glucose measurement < 3.3 mmol/l. Mild hypoglycaemic episodes were subdivided by their frequency as follows: < 3 episodes/week, 3–5 episodes/week and > 5 episodes/week. Severe hypoglycaemic events were defined as those associated with neuroglycopenia severe enough to require treatment from a third party, and they were collected for the previous year. Episodes of diabetic ketoacidosis (DKA) during the year before starting CSII treatment were also recorded. HbA_{1c} (HPLC, Menarini Diagnostici, Firenze, Italy; normal range 3.5–5.5%) and lipid profile were measured at the beginning of the study.

Quality of life assessment was performed using three different questionnaires: the Diabetes Quality-of-Life (DoQL) questionnaire (higher scores relate to deterioration in quality of life); the SF-12 health survey questionnaire, and an additional questionnaire assessing lifestyle and manageability of the disease and the acceptability of the treatment types [13–16]. This last questionnaire included four items concerning eating habits and three items on lifestyle flexibility and sleep patterns.

All the subjects included in our study received our specific therapeutic education programme (TEP) for patients beginning CSII. The TEP lasted 3–4 months and included: (i) initial group session; (ii) individual patient/family assessment; (iii) initiation of CSII therapy; and (iv) follow-up and discharge from the programme. Participants were prescribed a diet adjusted to their age and BMI, and insulin doses were adjusted to maintain fasting and preprandial glucose between 3.9 and 7.0 mmol/l, postprandial between 8 and 10 mmol/l (1 h) and at bedtime between 6.0 and 10.0 mmol/l, based on 4–6 daily capillary blood determinations. The same team saw patients as required during TEP and every 2–3 months thereafter, until 24 months of follow-up. Patients were reminded about glucose goals and self monitoring glucose control when necessary. All patients used pumps with pre-programmable variable basal rates. Twenty-seven subjects used the MiniMed 507C pump (MiniMed Technologies, Northridge, CA, USA), 12 used the Minimed 508 pump (MiniMed Technologies), 98 used the Htronic V-100 pump (Disetronic Medical Systems, AG, Burgdorf, Switzerland) and 18 subjects used the Animas 1000 pump (Animas Corporation, West Chester, PA, USA).

After 24 months of follow-up, the items measured before the initiation of CSII were remeasured in all subjects. In addition to any serious adverse events, including severe hypoglycaemia and DKA, any sign of discomfort at the injection or infusion site was recorded.

Statistical analysis

Results are presented as mean ± SD. Comparisons between the whole group at the end vs. baseline data were performed using a paired Student *t*-test. The differences in outcomes between subgroups were compared using an unpaired *t*-test or ANOVA for

Table 1 Baseline characteristics of the study group

Number of subjects	153
Age (year)	34.7 ± 10.7
Gender (M/F)	45/108
Duration of diabetes (years)	18.5 ± 9.5
BMI (kg/m ²)	24.0 ± 3.1
On MDI treatment (%)	100
Insulin dose (U/kg)	0.70 ± 0.20
HbA _{1c} (%)	7.9 ± 1.3

Mean ± SD.

BMI, body mass index; MDI, multiple daily injections of insulin; M/F, male/female; SD, standard deviation.

repeated measurements. Comparisons between proportions were made with a χ^2 -test. A P -value < 0.05 was considered statistically significant. All statistical calculations were performed with the Statistical Package for Social Science (SPSS, version 10.0; SAS Institute, Cary, NC, USA) for personal computers.

Results

Clinical characteristics and glycaemic control at baseline

The clinical and metabolic characteristics of the study subjects at baseline are shown in Table 1. In 96% of the subjects, the indication for CSII was inability to obtain optimal glycaemic control using MDI: 89.5% had extreme difficulties in achieving nocturnal glycaemic control; 85% reported recurrent severe hypoglycaemic episodes and/or hypoglycaemic unawareness; 73.2% had particular difficulties with their lifestyle timetable; 31.4% had rapidly progressing, early microvascular complications; preconception and pregnancy planning was the indication in 19.0%; and 9.8% had insulin allergy or severe lipodystrophy. Three or more indications were present in 77.9% of the subjects.

Insulin lispro (Humalog; Eli Lilly, Indianapolis, IN, USA) was used by 117 participants, 16 used insulin aspart (Novorapid; Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) and 20 used regular insulin [either regular Humulin (Eli Lilly) or Actrapid (Novo Nordisk)]. Pumps, infusion sets, insulin, finger test strips and capillary glucose meters were provided to all the patients and were funded by the Catalan National Health Service.

Eleven subjects (7%) withdrew from the study during follow-up (eight women/three men). In all but one (who withdrew after pregnancy), the main reasons for withdrawal were the inability of CSII to achieve any improvement in glycaemic control, and refusal to maintain the new modality of treatment. There were no differences in terms of the type of indication, the basal clinical and metabolic characteristics of the subjects who withdrew compared with those who completed the follow-up, apart from the lifestyle and manageability of the disease questionnaire score which was significantly higher in the former group (23.4 ± 6.9 vs. 19.8 ± 4.0, $P < 0.01$).

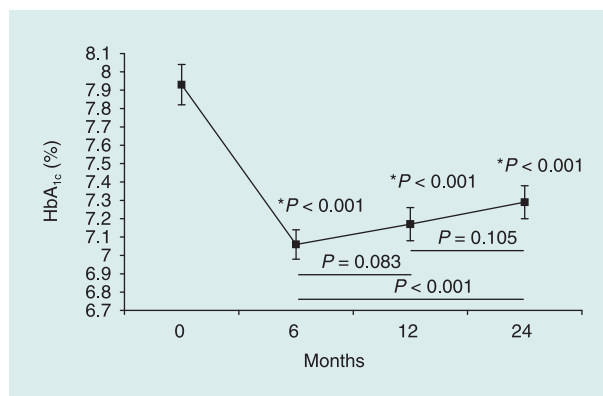


FIGURE 1 Glycated haemoglobin (HbA_{1c}; mean ± SD) during follow-up. Values are expressed as mean ± SEM. *In comparison with baseline.

Clinical and glycaemic parameters after 2 years of treatment with CSII

HbA_{1c} fell from 7.9 ± 1.3 at baseline to 7.3 ± 1.1% ($P \leq 0.001$) after 24 months of CSII (Fig. 1). The differences with respect to initial values were significant at all time points. After 6 months, HbA_{1c} gradually rose, so that the 2-year value was significantly higher than the 6-month value, although remaining significantly lower than at baseline. The fall in HbA_{1c} was positively related to the initial HbA_{1c} and inversely to the number of severe hypoglycaemic episodes during the year before CSII initiation ($R^2 = 0.43$). When considered separately, the change in HbA_{1c} was 7.9 ± 1.2 to 7.3 ± 1.0% in those subjects with and 8.2 ± 1.2 to 7.1 ± 1.2 without hypoglycaemia as an indication for CSII, respectively ($P < 0.001$ for both comparisons). Insulin requirements were significantly lower at the end of the follow-up (0.55 ± 0.21 U/kg body weight) in comparison with before using CSII (0.70 ± 0.20, $P < 0.001$). Total cholesterol and triglyceride values did not change throughout the study. There was an increase in BMI from 24.0 ± 3.1 kg/m² at baseline to 24.4 ± 3.2 after 24 months of CSII treatment ($P < 0.025$).

The number of episodes of DKA and the percentage of patients who experienced DKA before CSII were 10 and 6.5%, respectively (0.07 ± 0.25 events per patient year). During the last year of follow-up, these figures did not change: 9 episodes in 6.3% of subjects (0.06 ± 0.24 events per patient year). Overall, the frequency of mild episodes of hypoglycaemia were significantly reduced, with an increase in patients with < 3 episodes/week (42 to 84; $P < 0.001$) and reductions in both 3–5 episodes/week (30 to 15; NS) and > 5 episodes/week (67 to 8; $P < 0.001$). CSII usage also resulted in a significant reduction in severe hypoglycaemia events per subject year, from 0.31 ± 0.46 to 0.07 ± 0.25 ($P < 0.001$). The percentage of subjects with severe hypoglycaemic episodes reduced from 31 to 5%.

Quality of life outcomes are reflected in Table 2. The overall DQoL scores significantly improved after 24 months of using

Table 2 Quality-of-life outcomes after 24 months of using CSII

	Baseline	24 months	P
DQoL satisfaction	38.1 ± 8.8	30.2 ± 5.7	0.001
DQoL impact of treatment	44.8 ± 9.5	39.5 ± 7.4	0.001
DQoL social/vocational worrying	14.4 ± 4.2	12.7 ± 4.0	0.004
DQoL diabetes-related issues worrying	9.6 ± 3.1	8.3 ± 2.2	0.002
SF-12 health survey questionnaire	32.9 ± 4.8	34.3 ± 5.3	0.124
Lifestyle and manageability of the disease questionnaire	20.2 ± 4.5	25.7 ± 5.9	0.001

Scores at baseline and after 24 months.

CSII, continuous subcutaneous insulin infusion; DQoL, Diabetes Quality of Life.

CSII in all the aspects assessed by the questionnaire: satisfaction with treatment, impact of treatment, worries about social and vocational issues and worries about diabetes-related issues. This was not the case for the SF-12 questionnaire, in which we could not observe any difference in the perception of physical and mental health after 24 months of follow-up. The analysis of the lifestyle and manageability questionnaire also showed a significant and positive change with the use of CSII.

Infection and skin reaction at the infusion site were monitored during the entire follow-up period. There were inflammatory reactions at 23 sites during the 24 months of CSII use, with replacement of the infusion set resolving all of the cases. We observed only eight minor local infections at the infusion site, with none requiring antibiotic treatment.

In all the items assessed in our study, we did not observe any differences in the benefits obtained with CSII when a subgroup analysis was performed dividing the whole group into those subjects with HbA_{1c} ≤ > 7.0% at baseline. With the exception of the benefits observed in hypoglycaemic episodes, differences were also not observed when comparing subjects in whom hypoglycaemia was an indication for CSII with those in whom this indication was not present.

Discussion

Our study confirms and documents the long-term efficacy and safety of CSII following on from previous conventional intensified insulin therapy in subjects with current established criteria for funding of a National Health Service. In addition to a reduction in HbA_{1c} and in the incidence of all types of hypoglycaemic episodes, CSII significantly improved quality of life outcomes.

The present study confirms previous reports indicating that CSII can be an effective and safe alternative to conventional therapy using MDI in T1D. This type of therapy achieves a lower HbA_{1c} with fewer episodes of hypoglycaemia [14,17–20]. However, although observational, to our knowledge this study has included one of the highest numbers of subjects treated with CSII and followed throughout one of the longest periods to confirm such results. In addition to this, CSII was started in all the subjects following the current criteria and

indications for reimbursement of this type of insulin treatment within the framework of a National Health Service-funded programme. This allowed us to determine the superiority of CSII over conventional therapy in the real-life setting of our community. The maximum improvement in HbA_{1c} was observed at the end of TEP, and when patients were discharged to continue their usual follow-up there was a non-significant trend to a progressive increase in HbA_{1c}, as expected. This suggests the importance of specific TEP in the follow-up of such a group of patients to maximize beneficial effects, although HbA_{1c} could be maintained well below the initial values after 24 months of routine follow-up using CSII.

We are aware that the main limitation of our study is that it was not controlled. Therefore, the benefits observed could be as a result of the optimized follow-up care of our cohort in comparison with the usual care provided in conventional intensified insulin therapy using multiple insulin doses. However, all the subjects included in our study had been previously included in our individual intensive educational control programme for T1D subjects with poor glycaemic control, without successful results [21].

The improvement in HbA_{1c} observed in our study is within the order of magnitude of the changes observed in previous trials [18,19]. Likewise, the improvement achieved was maintained after a long-term follow-up. In addition, CSII produced a reduction in all types of hypoglycaemic episodes over the previous conventional treatment, thereby possibly underestimating the net effect of CSII on HbA_{1c}. However, in order to optimize the use of this costly treatment, the continuing increase in HbA_{1c} over time points to the importance of defining subgroups of patients most likely to benefit.

Our study also confirms that, even in the long term, CSII had a very positive impact on all measured quality-of-life outcomes, with the exception of the SF-12 health survey questionnaire [13,14]. In particular, CSII use achieved better scores in treatment satisfaction and treatment impact. It is of interest to note that, when basal differences of subjects who withdrew were compared with those who did not, the lifestyle and manageability of the disease questionnaire score was the only parameter that distinguished the groups; better scores being achieved by those who withdrew during the follow-up. This

means that a high score in this test predisposed a subject to abandon CSII treatment during the follow-up.

All the benefits of CSII therapy mentioned were unaffected by the basal value of HbA_{1c} (≤ 7.0 or $> 7.0\%$) or whether hypoglycaemia was included as an indication for initiating this type of treatment.

Finally, adverse events of CSII therapy should also be considered. We did not observe any difference in the rate of episodes of DKA. The episodes of local infection and skin reactions observed could be considered very minor and of a very low incidence. Nevertheless, as they could be potentially dangerous, prevention and management of these specific complications should be addressed and reinforced during education programmes.

In conclusion, under the criteria for financial support from National Health Service guidelines, the use of CSII improves glycaemic control and quality-of-life outcomes with fewer episodes of hypoglycaemia in T1D subjects previously conventionally treated with multiple doses of insulin.

Competing interests

IC and IL have received speaker's fees from Medtronic within the past 5 years.

Acknowledgements

We are indebted to all of those involved at any time in the specific therapeutic education programme (TEP) for patients beginning CSII at the Endocrinology and Diabetes Unit of the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona (colloquially called 'Programa Bombas'). MG is the recipient of a grant from the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona. This work was supported in part by a grant (PI060250) from the 'Ministerio de Sanidad y Consumo' of Spain.

References

- 1 The DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; **329**: 977–986.
- 2 American Diabetes Association. Implications of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2003; **26**: S25–S27.
- 3 Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ *et al*. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005; **353**: 2643–2653.
- 4 Cefalu WT. Glycemic control and cardiovascular disease—should we reassess clinical goals? *N Engl J Med* 2005; **353**: 2707–2709.
- 5 Adverse events and their association with treatment regimens in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 1995; **18**: 1415–1427.
- 6 Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; **25**: 593–598.
- 7 Pickup JC. Are insulin pumps underutilized in type 1 diabetes? Yes. *Diabetes Care* 2006; **29**: 1449–1452.
- 8 Pickup J, Mattock M, Kerry S. Glycaemic control with continuous subcutaneous insulin infusion compared with intensive insulin injections in patients with type 1 diabetes: meta-analysis of randomised controlled trials. *Br Med J* 2002; **324**: 705.
- 9 Weissberg-Benchell J, Antisdel-Lomaglio J, Seshadri R. Insulin pump therapy: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2003; **26**: 1079–1087.
- 10 Roze S, Valentine WJ, Zakrzewska KE, Palmer AJ. Health-economic comparison of continuous subcutaneous insulin infusion with multiple daily injection for the treatment of Type 1 diabetes in the UK. *Diabet Med* 2005; **22**: 1239–1245.
- 11 Colquitt JL, Green C, Sidhu MK, Hartwell D, Waugh N. Clinical and cost-effectiveness of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes. *Health Technol Assess* 2004; **8**: 1–171.
- 12 Scuffham P, Carr L. The cost-effectiveness of continuous subcutaneous insulin infusion compared with multiple daily injections for the management of diabetes. *Diabet Med* 2003; **20**: 586–593.
- 13 Hoogma RP, Spijker AJ, Doorn-Scheele M, van Doorn TT, Michels RP, van Doorn RG *et al*. Quality of life and metabolic control in patients with diabetes mellitus type 1 treated by continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injections. *Neth J Med* 2004; **62**: 383–387.
- 14 Hoogma RP, Hammond PJ, Gomis R, Kerr O, Bruttomeso D, Bouter KP *et al*. Comparison of the effects of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) and NPH-based multiple daily insulin injections (MDI) on glycaemic control and quality of life: results of the 5-nations trial. *Diabet Med* 2006; **23**: 141–147.
- 15 The DCCT Research Group. Reliability and validity of a diabetes quality-of-life measure for the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 1988; **11**: 725–732.
- 16 Jenkinson C, Layte R. Development and testing of the UK SF-12 (short form health survey). *J Health Serv Res Policy* 1997; **2**: 14–18.
- 17 Chantelau E, Spraul M, Muhlhäuser I, Gause R, Berger M. Long-term safety, efficacy and side-effects of continuous subcutaneous insulin infusion treatment for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a one-centre experience. *Diabetologia* 1989; **32**: 421–426.
- 18 Rodrigues IA, Reid HA, Ismail K, Amiel SA. Indications and efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy in Type 1 diabetes mellitus: a clinical audit in a specialist service. *Diabet Med* 2005; **22**: 842–849.
- 19 Linkeschova R, Raoul M, Bott U, Berger M, Spraul M. Less severe hypoglycaemia, better metabolic control, and improved quality of life in Type 1 diabetes mellitus with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy; an observational study of 100 consecutive patients followed for a mean of 2 years. *Diabet Med* 2002; **19**: 746–751.
- 20 Bode BW, Steed RD, Davidson PC. Reduction in severe hypoglycemia with long-term continuous subcutaneous insulin infusion in type I diabetes. *Diabetes Care* 1996; **19**: 324–327.
- 21 Conget I, Jansa M, Vidal M, Vidal J, Manzanares JM, Gomis R. Effects of an individual intensive educational control program for insulin-dependent diabetic subjects with poor metabolic control. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; **27**: 189–192.

OBJETIVO 2:

Caracterizar a un grupo de pacientes con DM1 y mal control metabólico asociado a hipoglucemias de repetición. Evaluar la relación existente entre la clínica, los resultados de la monitorización continua de la glucosa y de la prueba de provocación de hipoglucemia.

OBJETIVO 2

1. Justificación del objetivo

Como se ha comentado previamente, el tratamiento intensificado con insulina es el estándar de tratamiento para todos los pacientes con DM1 desde el debut de la enfermedad. Sin embargo, se asocia indefectiblemente con un incremento en la aparición de episodios de HG e hipoglucemia no grave (HNG) que a menudo condicionan su implementación.

La utilización de SMCG y la evaluación de la percepción ante los episodios de hipoglucemia podrían contribuir a identificar mejor a los sujetos con DM1 más vulnerables a las HG por presentar hipoglucemia desapercibida y así poder decidir, posteriormente, el tratamiento más seguro y la mejor manera para optimizar el control metabólico en este grupo de pacientes.

En este contexto, dentro del **Objetivo 2** se planteó en primer lugar caracterizar a un grupo de pacientes con DM1 que presentaban HG e HNG de repetición. Para ello se evaluó la frecuencia y la percepción ante los episodios de HG e HNG así como las características del perfil glucémico continuo de este grupo de pacientes. En segundo lugar, se evaluó la relación existente entre la clínica, el perfil glucémico continuo y una prueba de provocación de hipoglucemia controlada para valorar qué herramientas podrían ser más precisas de cara a identificar sujetos con hipoglucemia desapercibida.

Publicación surgida de este objetivo (📖):

Glycemic profile characteristics and frequency of impaired awareness of hypoglycaemia in subjects with T1D and repeated hypoglycaemic events

Marga Giménez, Mercè Lara, Amanda Jiménez, Ignacio Conget

Acta Diabetologica 2009; 46(4): 291-293.

Otras publicaciones surgidas de este objetivo:

- **Monitorización continua ambulatoria de la glucosa. Diferencias en los perfiles glucémicos de pacientes con Diabetes de tipo 1 con y sin episodios repetidos de hipoglucemia.**

Marga Giménez, Mercè Lara, Mercè Vidal, Marga Jansà, Ignacio Conget
Infusistems Latina 2008; Vol. 4 (3):17-20.

Comunicaciones surgidas de este objetivo (9):

- *Glycaemic profile characteristics and frequency of impaired awareness of hypoglycaemia in subjects with T1D and repeated non-severe and severe hypoglycaemic episodes.*
Marga Giménez, Mercè Lara, Joana Nicolau, Ignacio Conget. 43rd EASD Annual meeting 2007. Amsterdam, September 2007.
- *Características del perfil glicémico y frecuencia de hipoglicemia desapercibida en pacientes con Diabetes de tipo 1 e hipoglicemias de repetición.*
Ignacio Conget, Mercè Lara, Joana Nicolau, Amanda Jiménez, Marga Giménez. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Sevilla, Febrero de 2008.
- *Ambulatory continuous glucose monitoring in T1D. Differences in glucose profile in subjects with and without repeated hypoglycaemic episodes.*
Marga Giménez, Mercè Lara, Ignacio Conget. 1st International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes taking place in Prague, Czech Republic, February 27 – March 1, 2008.
- *Hipoglucemia desapercibida en pacientes jóvenes con DT1 trasladados desde un centro pediátrico especializado a un centro de adultos.*
Mercè Vidal, Marga Jansà, Marga Giménez, Ana Gómez, Marisa Torres, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Barcelona, Abril de 2010.
- *Validación en lengua castellana de dos cuestionarios: “Hypoglycemia awareness: Clarke’s test” y “Sef-Care inventory revised version SCI-R”: Ayuda a la investigación en educación diabetológica. Associació Catalana de Diabetis (ACD) 2008.*
Marga Jansà, Marga Giménez, Mercè Vidal, Mercedes Galindo, Cristina Colungo, Daria Roca, Ignacio Conget, Enric Esmatjes, Manel Salamero. XII

Congreso nacional de la Sociedad Española de Diabetes 2011, Málaga, Abril de 2011.

- *“Validation of two questionnaires in Spanish: Self Care Inventory-Revised version.SCI- R and Hypoglycaemia Clarke´s Test. Grant for Therapeutic Patient Education. Associació Catalana de Diabetes (ACD) 2008.*

Marga Jansà, Marga Giménez, Mercè Vidal, Cristina Colungo, Ignacio Conget, Mercedes Galindo, Daria Roca, Isaac Levy, Enric Esmatjes, Manel Salamero, Josep Vidal. World Diabetes Congress. International Diabetes Federation (IDF) Congress 2011. Dubay, December 2011.

- *Characterizing glycemic variability in subjects with type 1 diabetes with repeated non-severe and severe hypoglycemic events.*

Verónica Perea, Marga Giménez, Gloria Aranda, Antonio J. Amor, Ignacio Conget. 5th International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes taking place in Barcelona, Spain. February 2012.

- *Caracterización de la variabilidad glucémica en pacientes con Diabetes tipo 1 e hipoglucemias de repetición.*

Verónica Perea, Marga Giménez, Gloria Aranda, Antonio J. Amor, Ignacio Conget. XIII Congreso nacional de la Sociedad Española de Diabetes 2012, Vigo, Abril de 2012.

2. Material y Métodos

El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de hipoglucemia desapercibida y analizar las características del perfil glucémico continuo en un grupo de sujetos con DM1 con episodios de hipoglucemia de repetición e HG.

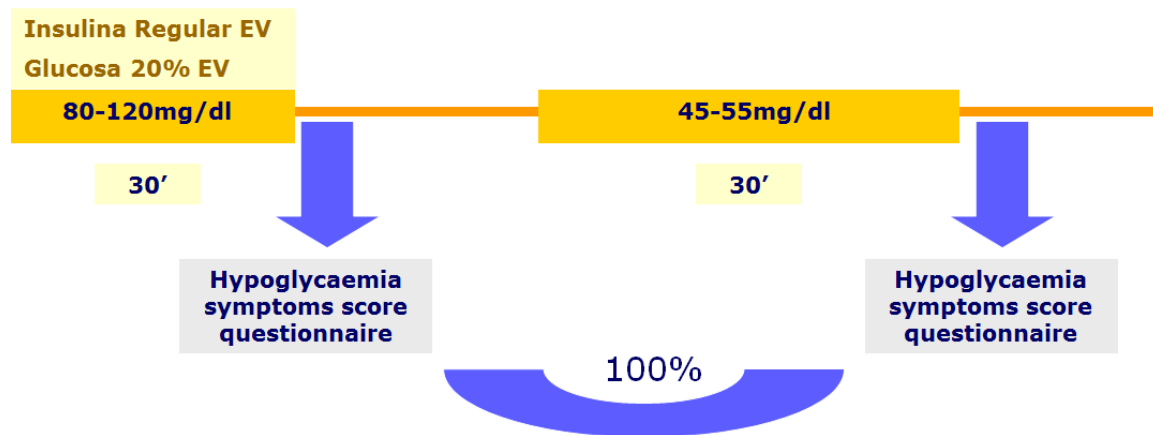
Para ello se incluyeron pacientes con DM1 con las siguientes características: > 18 años de edad, > 5 años de duración de la DM1, en tratamiento intensificado con MDI y que presentaran, al menos, > 4 episodios de HNG por semana (durante las 8 semanas previas) y > 2 episodios de HG durante los 3 años previos a la realización del estudio. Los episodios de HG y de HNG se definieron siguiendo los criterios de *la American Diabetes Association (ADA)*. Se midió el valor de HbA_{1c} (Menarini Diagnostici, Firenze, Italy, rango normal 3,5 - 5,5 %) al inicio del estudio. El proyecto se aprobó por el Comité Ético del Hospital Clínic i Universitari de Barcelona y se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los pacientes incluidos en el mismo. El estudio se realizó de acuerdo con los estándares éticos de la Declaración de Helsinki.

Dos cuestionarios diferentes (Test de Clarke y Test de Gold) se utilizaron para valorar la percepción de los pacientes ante los episodios de hipoglucemia.

Para valorar los signos y síntomas de los pacientes ante una hipoglucemia inducida estándar, se programó un test de hipoglucemia provocada con insulina regular endovenosa (EV) en todos los pacientes. Asimismo, los pacientes respondieron el cuestionario de síntomas de hipoglucemia ("*Edinburgh's scale score questionnaire*") tras permanecer 30 minutos en euglucemia en primer lugar (80 - 120 mg/dl) y tras permanecer 30 minutos en hipoglucemia posteriormente (45 - 55 mg/dl). Se compararon las puntuaciones obtenidas en el cuestionario entre ambas situaciones y se consideró de forma arbitraria que un incremento en la puntuación superior al 100 % en hipoglucemia respecto a la puntuación obtenida en euglucemia, se consideraría como una respuesta sintomática ante la hipoglucemia provocada "*normal*".

Finalmente, todos los pacientes se sometieron a un SMCG durante 72 horas mediante el sistema CGMS Gold de Medtronic Minimed (Northridge, CA, USA) y los datos se registraron con el objetivo de analizar el perfil glucémico continuo durante ese periodo de tiempo.

Figura 13. Test de hipoglucemia inducida en el Objetivo 2. *Protocolo adaptado de Diabetic Medicine 1992; 9: 522-527.*



Protocolo de hipoglucemia inducida con insulina regular ev incluido en el Objetivo 2. Se calcula la insulina necesaria mediante un cálculo de la superficie corporal (fórmula de Mosteller). Inicialmente se mantiene al paciente en euglucemia durante 30 min y finalizado este período el paciente responde al cuestionario de síntomas (Edinburg's scale score) en euglucemia. Posteriormente se induce la hipoglucemia parando la perfusión de glucosa ev para conseguir alcanzar un valor en hipoglucemia entre 45 - 55 mg/dl durante 30 min. Finalizado este periodo el sujeto vuelve a responder al cuestionario. Se consideró de forma arbitraria que un incremento en el 100 % de la puntuación entre las situaciones de euglucemia e hipoglucemia se consideraría una respuesta de percepción ante las hipoglucemias normal.

a. **Análisis estadístico**

Los resultados se presentan como media \pm DE o como porcentaje. Se utilizó una correlación de Pearson o un test de T de Student para datos no apareados en función del análisis requerido. Se calculó el índice de concordancia kappa entre las diferentes pruebas. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Para todo el análisis estadístico se utilizó el paquete informático SPSS v.12.0 para Windows.

3. **Resultados**

Glycaemic profile characteristics and frequency of impaired awareness of hypoglycaemia in subjects with T1D and repeated hypoglycaemic events

Marga Giménez · Mercè Lara · Amanda Jiménez · Ignacio Conget

Received: 11 July 2008 / Accepted: 23 November 2008
© Springer-Verlag 2008

Abstract The aim of our study was to evaluate the frequency of hypoglycaemia unawareness and the continuous glucose profile in a group of subjects with Type 1 diabetes (T1D) with repeated non-severe/severe hypoglycaemia. Twenty patients (aged 35.2 ± 7.6 years, duration of disease 16.4 ± 6.4 years) were included. Hypoglycaemia awareness was evaluated using questionnaires and after an acute-induced hypoglycaemia. Glucose profile was studied using 72-h continuous glucose monitoring (CGM). All subjects were classified as having hypoglycaemia unawareness by questionnaires. Four patients displayed a “normal” signs/symptoms response to hypoglycaemia. The CGM revealed 18% of the measurements <70 mg/dl and this percentage was correlated with questionnaire score ($r = 0.55$, $P < 0.035$) and with the increase in the percentage of signs/symptoms during the induced hypoglycaemia ($r = -0.57$, $P < 0.015$). In patients exhibiting an “abnormal” response during hypoglycaemia, CGM values <70 mg/dl was higher ($22.6 \pm 8.4\%$) than in those with a “normal” response ($10.2 \pm 9.0\%$; $P < 0.028$). Summarising, in subjects with T1D and repeated hypoglycaemia the frequency of impaired awareness is substantially common. Its presence is related to a high proportion of ambulatory glycaemic profile below the desirable range.

Keywords Hypoglycaemia unawareness · Type 1 diabetes · CSII treatment

Introduction

Intensive insulin therapy significantly reduces the risk of complications in subjects with Type 1 diabetes (T1D) and represents the standard treatment from the onset of the disease. However, this therapy is unfailingly associated with a higher risk of non-severe (NS) and severe hypoglycaemic episodes (SH), precluding this type of treatment in some cases [1–3].

The use of continuous glucose monitoring (CGM) systems and the evaluation of hypoglycaemia awareness could help us identify these subjects and to decide on a safe approach to optimising the metabolic control for them.

The aim of our study was to evaluate the frequency of hypoglycaemia unawareness and the continuous glucose profile characteristics in a group of T1D subjects with repeated NS and SH.

Patients and methods

Patients were included if they fulfilled the following criteria: age >18 years, T1D duration >5 years, on conventional insulin treatment using multiple doses of insulin and presenting >4 NS/week (for 8 weeks) and >2 SH (for 3 years). NS and SH were defined following the ADA criteria [4]. HbA_{1c} (Menarini Diagnostici, Firenze, Italy, normal range 3.5–5.5%) was measured. The study was approved by the Hospital Clínic i Universitari Ethics Committee and informed consent was obtained from all the patients. The study has been performed in accordance with the ethical standards laid down in an appropriate version of the Declaration of Helsinki.

Two different questionnaires (Clarke’s and Gold’s test) were used to evaluate hypoglycaemia awareness [5, 6].

M. Giménez · M. Lara · A. Jiménez · I. Conget (✉)
Endocrinology and Diabetes Unit, IDIBAPS (Institut d’Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Hospital Clínic i Universitari, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain
e-mail: iconget@clinic.ub.es

To assess signs and symptoms response to a standardised situation of hypoglycaemia, an acute-induction of hypoglycaemia with IV regular insulin was performed. Patients answered the hypoglycaemia symptoms score questionnaire after 30 min of euglycaemia first (80–120 mg/dl) and after 30 min being in hypoglycaemia (45–55 mg/dl), afterwards [7]. The tests scores between the two states were compared and we arbitrarily considered a “normal” symptoms and signs response when the score in the symptoms questionnaire rose more than 100% between the two situations.

Finally, a CGM for 72 h using the Gold system of Medtronic Minimed (Northridge, CA, USA) was registered in order to describe the glucose profile.

Results are presented as mean \pm SD or percentage. Pearson’s correlations and unpaired Student’s *t* test data were used as required. Concordance kappa index was calculated. A *P* value <0.05 was considered statistically significant. The SPSS v.12.0 for personal computers performed all statistical calculations.

Results

A total of 20 patients (9 women) with T1D aged 35.2 ± 7.6 years and with duration of disease of 16.4 ± 6.4 years were included in the study. The mean value of HbA_{1c} was $6.9 \pm 1.0\%$ (Table 1).

All subjects were classified as having hypoglycaemia unawareness by Gold’s test; whereas 19 were classified by Clarke’s test. Four patients displayed a “normal” signs and symptoms response in relation to hypoglycaemia as already defined. The Clarke’s test score was negatively correlated with HbA_{1c} values (-0.566 , $P < 0.01$).

The percentage of the increase in symptoms during the induction of hypoglycaemia was considered the “comparing method” to assess hypoglycaemia unawareness in our study. When the Clarke’s questionnaire was tested with respect to this percentage, sensitivity of 100%, specificity 25% and PPV 84.5% was found. A Kappa index of 0.35 between both methods of evaluation was also detected.

Table 1 Baseline characteristics of the study group

Number of subjects	20
Age (year)	35.2 ± 7.6
Gender (M/W)	11/9
Duration of diabetes (years)	16.4 ± 6.4
Insulin dose (UI/kg)	0.68 ± 0.24
On MDI treatment (%)	100
HbA _{1c} (%)	6.9 ± 1.0

Mean \pm SD

MDI multiple doses of insulin

The CGM from the whole group revealed an 18% of the measurements <70 mg/dl and this percentage was correlated with the Clarke’s test score ($r = 0.55$, $P < 0.035$) and with the increase in the percentage of signs and symptoms during the induced hypoglycaemia ($r = -0.57$, $P < 0.015$) (see Fig. 1). In patients exhibiting an “abnormal” response of symptoms during hypoglycaemia, CGM percentage of values <70 mg/dl was higher ($22.6 \pm 8.4\%$) than in those classified as having a “normal” response ($10.2 \pm 9.0\%$; $P < 0.028$).

Discussion

Our results suggest that, as expected, hypoglycaemia unawareness is a main contributor in T1D subjects with repeated hypoglycaemia. This condition is reflected in ambulatory glucose profiles and could be detected using specific questionnaires.

When Clarke’s test was compared to the percentage of increase in symptoms score between euglycaemia and hypoglycaemia, the questionnaire resulted in sensitivity of 100% but specificity of 25% with the considered “comparing” method of evaluation. These results suggest that Clarke’s questionnaire could be used to identify patients with T1D who have an impaired awareness of hypoglycaemia [8, 9]. However, the low specificity shows that the test overestimates the frequency with which this unawareness occurs with respect to the evaluation of symptoms in a standardised situation like an acute induction of hypoglycaemia. While it offers an oversimplified approach to the problem, the overestimation can be resolved later through routine care where patients once classified as unaware could be reconsidered as having intact awareness. Thus, the overestimation could be considered a conservative and safe approach to this problem.

Even though our study is not the first to demonstrate a higher detection of hypoglycaemic events using CGM [10], we found having worse scores in the specific tests were positively correlated with the higher percentages of values <70 mg/dl in the CGM. Moreover, as we expected, this percentage was negatively correlated with the increase in symptoms during hypoglycaemia. Furthermore, the four patients considered having a normal symptoms response during hypoglycaemia, were those exhibiting significantly lower percentages of values below 70 mg/dl in the CGM. One of the limitations of our findings is the imperfect accuracy of current CGM devices in hypoglycaemia and this probably does not warrant enough specificity in the hypoglycaemic range to match glucose concentrations with symptoms scores.

There are some published studies that show that impaired awareness of hypoglycaemia predisposes to a sixfold

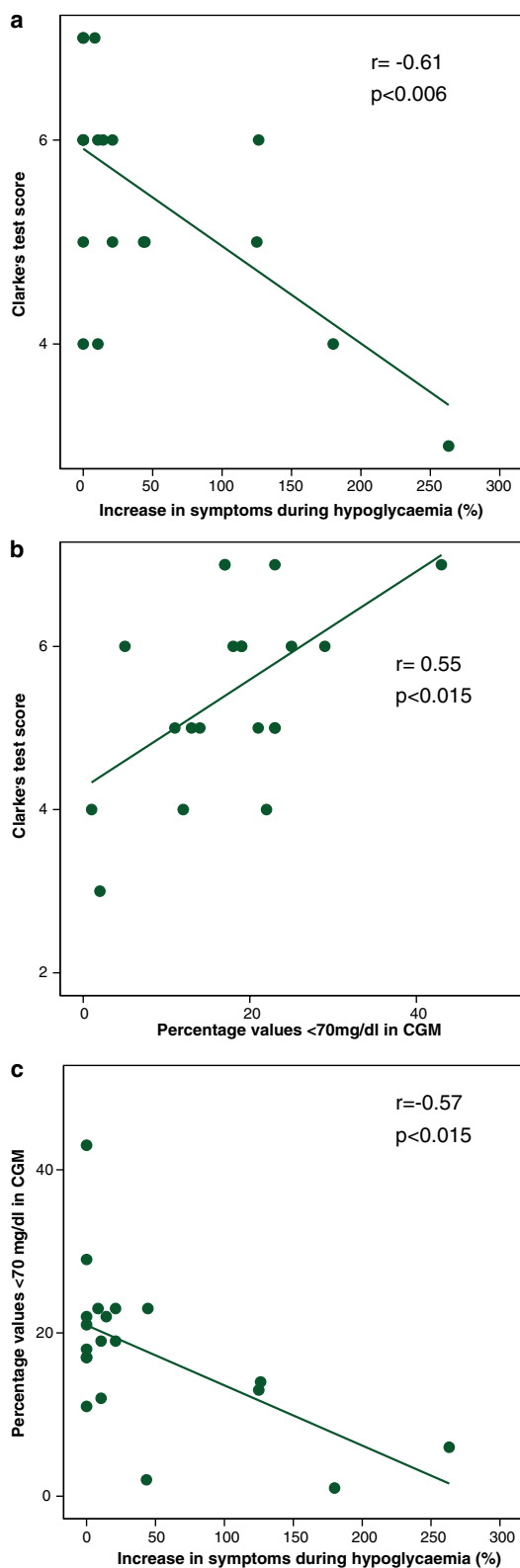


Fig. 1 Relationship between Clarke's test score and the percentage of increase in symptoms during hypoglycaemia (a), Clarke's test score and the percentage of values <70 mg/dl in CGM (b) and relationship between the percentage of values <70 mg/dl in CGM and the percentage of increase in symptoms during hypoglycaemia (c)

increase in the frequency of severe hypoglycaemia in which some of these episodes occurred at home during waking hours [6]. This situation could leave the patient in a condition where intensified insulin therapy to achieve HbA_{1c} values as normal as possible is not indicated. Therefore, the patient will not be favourable in terms of reducing the risk of complications associated with their diabetes. In spite of the fact that we are aware the modest sample size of our study limits the strength of the results, we propose the systematic use of specific questionnaires and, if necessary, CGM in order to identify these patients earlier.

In conclusion, in subjects with T1D and repeated NS and SH, the frequency of impaired awareness is substantially common. Its presence is related to a high proportion of ambulatory glycaemic profile below the desirable range. The detection of this alteration has to be considered for a safe approach to optimising the metabolic control in these subjects.

Acknowledgments M.G. is the recipient of a grant from the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona. This work was supported in part by a grant (PI060250) from the "Ministerio de Sanidad y Consumo" of Spain. Medtronic Ibérica sponsored this work, in part.

References

1. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial (1997) The Diabetes Control and Complications Trial Research Group *Diabetes* 46(2):271–286
2. MacLeod KM, Hepburn DA, Frier BM (1993) Frequency and morbidity of severe hypoglycaemia in insulin-treated diabetic patients. *Diabet Med* 10(3):238–245
3. Cryer PE (2005) Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure and its component syndromes in diabetes. *Diabetes* 54(12):3592–3601
4. Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia *Diabetes Care* (2005) 28(5):1245–1249
5. Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA et al (1995) Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 18(4):517–522
6. Gold AE, MacLeod KM, Frier BM (1994) Frequency of severe hypoglycemia in patients with type I diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care* 17(7):697–703
7. McAulay V, Deary IJ, Frier BM (2001) Symptoms of hypoglycaemia in people with diabetes. *Diabet Med* 18(9):690–705
8. Geddes J, Wright RJ, Zammitt NN, Deary IJ, Frier BM (2007) An evaluation of methods of assessing impaired awareness of hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 30(7):1868–1870
9. Pedersen-Bjergaard U, Hoi-Hansen T, Thorsteinsson B (2007) An evaluation of methods of assessing impaired awareness of hypoglycemia in type 1 diabetes: response to Geddes et al. *Diabetes Care* 30(11):e112
10. Chico A, Vidal-Rios P, Subira M, Novials A (2003) The continuous glucose monitoring system is useful for detecting unrecognized hypoglycemia in patients with type 1 and type 2 diabetes but is not better than frequent capillary glucose measurements for improving metabolic control. *Diabetes Care* 26(4):1153–1157

OBJETIVO 3:

Valoración de la aterosclerosis preclínica en pacientes con DM1:
Estudiar el grosor de la íntima-media carotídea de un grupo de pacientes con DM1 de nuestras consultas externas. Compararlo con su grupo etario en la población de referencia de nuestro entorno.


OBJETIVO 3

1. Justificación del objetivo

La ECV representa la mayor causa de morbimortalidad en los pacientes con DM1 y con DM2. Sin embargo, la mayoría de información de la que disponemos proviene de estudios epidemiológicos, fisiopatológicos y clínicos realizados principalmente en población con DM2. La DM1 es, en comparación, mucho menos frecuente que la DM2 y habitualmente afecta a población más joven. A pesar de que la mayoría de los FRCV reconocidos en la DM2 no están presentes en los pacientes con DM1, el riesgo relativo ajustado por edad para ECV de los sujetos con DM1 es inclusive mayor que en la DM2.

La utilización de técnicas ecográficas no invasivas ha sido extendida en los últimos años con el objetivo de detectar anomalías vasculares precoces que precedan la aterosclerosis clínica. El grosor del complejo íntima-media carotídeo, c-IMT, es un marcador precoz de este proceso reconocido y que presenta una correlación con la incidencia de ECV.

En este contexto, dentro del **Objetivo 3** se planteó valorar la presencia de aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes con DM1 sin otros FRCV adicionales de un área Mediterránea. Para ello se evaluó el c-IMT y la presencia de placas de aterosclerosis en el territorio carotídeo mediante ecografía en modo B y posteriormente se compararon estos resultados con los obtenidos en una población de referencia estudiada en el mismo centro y bajo la misma técnica ecográfica.

Publicación surgida de este objetivo (

**Aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes jóvenes con Diabetes de tipo
1 de un área Mediterránea**

Marga Giménez, Rosa Gilabert, Ignacio Conget
Medicina Clínica (Barc) 2009; 132:740-742

Otras publicaciones surgidas de este objetivo (

- **Preclinical atherosclerosis in a group of young adult subjects with T1D without additional cardiovascular risk factors and microvascular complications.**

Marga Giménez, Rosa Gilabert, Mercè Lara, Ignacio Conget

Diab Vasc Dis Res. 2011, Jan; 8 (1):5-11.

Comunicaciones surgidas de este objetivo (9):

- *Aterosclerosis preclínica en pacientes con Diabetes de tipo 1 de un área mediterránea.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Mireia Mora, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Sevilla, Febrero de 2008.

- *Aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes jóvenes con Diabetes de tipo 1 de un área mediterránea.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Cardiología 2008. Bilbao, Octubre de 2008.

- *Accelerated preclinical carotid/femoral atherosclerosis in a group of young subjects with type 1 Diabetes from a Mediterranean area.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Ignacio Conget. 2nd World Congress on Controversies to Consensus in Diabetes, Obesity and Hypertension (CODHy Congress). Barcelona, Spain, 30 October-1 November 2008.

- *Aterosclerosi preclínica en un grup de pacients adults joves amb Diabetis tipus 1.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Jesús Blanco, Gonzalo Díaz, Carles Paré, Ignacio Conget. 10è Congrés de l'Associació Catalana de Diabetis. Barcelona, 26-27 de Març de 2009.

- *Insuficiència cronotrópica i marcadors d'aterosclerosi preclínica en pacients adults joves amb Diabetis de tipus 1.*
Amanda Jiménez, Marga Giménez, Rosa Gilabert, Mireia Mora, Carles Paré, Ignacio Conget. Congrés de l'Associació Catalana de Diabetis. Barcelona, 26-27 de Març de 2009.

- *Insuficiencia cronotrópica y marcadores de aterosclerosis preclínica en pacientes adultos jóvenes con Diabetes de tipo 1.*
Amanda Jiménez, Marga Giménez, Rosa Gilabert, Mireia Mora, Carles Paré, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Tenerife, Abril de 2009.

- *Estudio de aterosclerosis preclínica en jóvenes con Diabetes de tipo 1.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Carles Paré, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Tenerife, Abril de 2009.

- *Glucose variability and signs of preclinical atherosclerosis in patients with type 1 Diabetes.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Carles Paré, Ignacio Conget. 2nd CIBERDEM Annual Meeting, Arnés, Spain. October 2009.

- *Glucose variability and premature arterial disease in type 1 diabetes without other major cardiovascular risk factors or macro-microvascular disease.*
Marga Giménez, Mercè Lara, Ignacio Conget. 3rd International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes taking place in Basel, Switzerland. February 2010.

- *Signos de aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes jóvenes con Diabetes de tipo 1.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Carles Paré, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Barcelona, Abril de 2010.

2. Material y Métodos

Se incluyeron pacientes con DM1 que cumplían los siguientes criterios: > 18 años, > 5 años de duración de la DM1, en tratamiento convencional intensificado utilizando MDI y con ausencia de otros FRCV (sin historia previa o actual de tabaquismo, sin antecedentes de HTA, dislipemia o ECV clínica previa). Los valores de HbA_{1c} (Menarini Diagnostici, Firenze, Italy, rango normalidad 3,5 - 5,5 %) y el perfil lipídico se evaluaron al inicio del estudio. La población de referencia se caracterizaba por 250 sujetos (125 mujeres) con una edad media de 49 años (rango 20 - 81), normolipémicos y sin historia de obesidad, HTA grave, DM ni ECV previa. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínic i Universitari y se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes.

Para la evaluación de c-IMT y la presencia de placas de aterosclerosis se utilizó ecografía en modo B siguiendo la misma metodología mediante la cual se había estudiado previamente la población de referencia Catalana. Posteriormente se compararon los resultados entre ambos grupos. La exploración ecográfica se realizó con equipos Duplex-Doppler color (ACUSON Sequoia, Mountain View, CA, USA) equipados con transductores lineares de alta resolución de 8 - 10 MHz de frecuencia.

Se definió c-IMT como la distancia entre la interfaz luz carotídea-íntima y la interfaz media-adventicia de la pared distal determinada en la carótida primitiva prebifurcación explorada en sección longitudinal. Se cuantificaron manualmente 6 medidas a intervalos regulares en la pared posterior, 1 cm pre bifurcación. Dado que las mediciones en la carótida común izquierda y derecha proporcionaron valores similares, los resultados se expresan como la media de 12 determinaciones, 6 en cada lado, y como max-cIMT el valor máximo en cualquier lado. Las placas ateroscleróticas se evaluaron utilizando ecografía en modo B y Doppler color en todos los segmentos carotídeos bilateralmente y en ambas secciones, tanto longitudinal como transversal para evitar errores causados por asimetría circunferencial. Las placas de ateroma se definieron como engrosamientos focales de c-IMT con una altura > 50 % del c-IMT adyacente o c-IMT difusos con un grosor > 1,2 mm.

En nuestro protocolo se examinaron 3 segmentos predeterminados a ambos lados en territorio carotídeo: carótida primitiva (c-IMT, 1 cm proximal al bulbo carotídeo), bifurcación/bulbo (1 - 2 cm) y carótida interna (1 cm distal a la bifurcación). La exploración se realizó con rotación de la cabeza 45° hacia el lado contralateral al

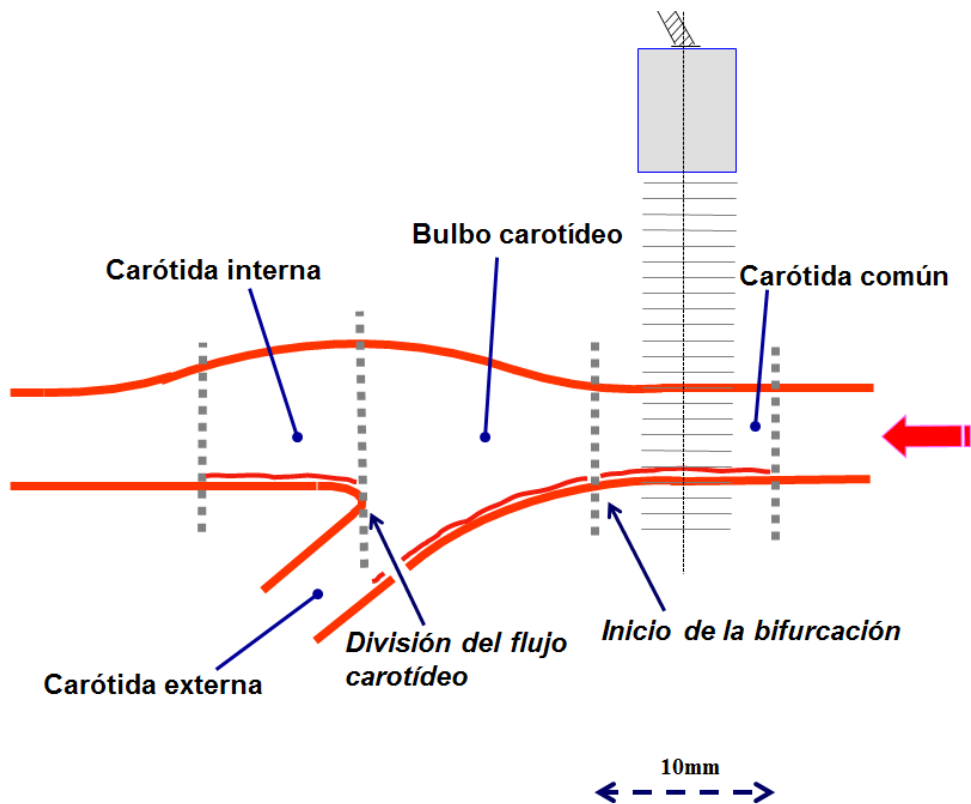
explorado y con el cuello en dirección anteroposterior. En cada estudio se evaluaron c-IMT, max-cIMT y la presencia de placas de ateroma.

En un estudio previo con medidas repetidas en 15 individuos para evaluar la variabilidad de la técnica, se encontraron coeficientes de correlación intraclase entre 2 observadores de 0,91 y 0,89 para el max-cIMT.

a. Análisis estadístico

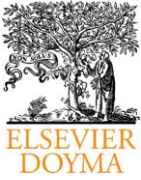
Los resultados se expresan como media (DE) o como porcentaje. Las comparaciones con la población de referencia se realizaron mediante una t de Student o un test de Fisher, según se requirió. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS v.12.0 para Windows.

Figura 14. Protocolo de estudio del territorio carotídeo durante el Objetivo 3.



En nuestro protocolo de valoración del grosor de la íntima-media arterial (IMT) en territorio carotídeo se estudiaron los valores medios y máximos de IMT en la pared posterior del vaso en tres puntos diferentes: la carótida común (1 cm prebifurcación), bulbo carotídeo y carótida interna (1 cm tras la bifurcación arterial).

3. Resultados



Original breve

Aterosclerosis preclínica en un grupo de pacientes jóvenes con diabetes de tipo 1 de un área mediterránea

Marga Giménez^a, Rosa Gilabert^b e Ignacio Conget^{a,*}

^a Servicio de Endocrinología y Diabetes, IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Hospital Clínic i Universitari, Barcelona, España

^b Servicio de Radiodiagnóstico, IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Hospital Clínic i Universitari, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de julio de 2008

Aceptado el 5 de noviembre de 2008

On-line el 22 de abril de 2009

Palabras clave:

Aterosclerosis

Grosor íntima-media

Diabetes mellitus de tipo 1

RESUMEN

Fundamento y objetivo: El grosor del complejo íntima-media carotídeo (cIMT) y la presencia de placas de ateroma se evaluaron mediante un estudio transversal en un grupo de sujetos con diabetes mellitus de tipo 1 (DM1) de un área mediterránea que no presentaban otros factores de riesgo cardiovascular (FRCV). Estos resultados se compararon con los obtenidos en una población de referencia.

Pacientes y método: Se incluyeron 22 pacientes con DM1 (media de edad de 34,6 años [desviación estándar DE de 7,9] y una media de 15,3 años [DE de 5,9] de evolución de diabetes). Para evaluar el cIMT y el grosor máximo del complejo íntima-media carotídeo (máx-cIMT) o placas se utilizó ecografía en modo B.

Resultados: Los valores del cIMT y del máx-cIMT fueron significativamente mayores en los pacientes con DM1 en comparación con la franja etaria correspondiente de la población de referencia (cIMT: 0,52 mm [DE de 0,08] frente a 0,46 mm [DE de 0,09]; $p < 0,001$ y máx-cIMT: 0,63 mm [DE de 0,13] frente a 0,55 mm [DE de 0,12]; $p < 0,007$). La proporción de pacientes que presentaban placas de aterosclerosis fue equivalente a la del grupo etario de 46 a 55 años de referencia.

Conclusiones: En ausencia de otros FRCV, los pacientes con DM1 de un área geográfica considerada de baja prevalencia para enfermedad cardiovascular presentan signos de aceleración de aterosclerosis preclínica.

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Preclinical atherosclerosis in a group of young subjects with type 1 diabetes from a Mediterranean area

ABSTRACT

Background and objective: Carotid intima-media thickness (cIMT) and presence of atherosclerotic plaques were evaluated in a cross-sectional study performed in a group of type 1 diabetes mellitus (T1D) subjects from a Mediterranean area without additional cardiovascular risk factors. These results were compared to those obtained from a reference population.

Patients and methods: Twenty-two patients with T1D (age 34.6 (7.9) years) and a disease duration of 15.3 (5.9) years were included. B-mode IMT measurements were used to evaluate cIMT and the presence of plaques.

Results: A significantly higher cIMT and max-cIMT were found in patients with T1D in comparison with the age-reference population (0.52 (0.08) vs. 0.46 (0.09) mm; $p < 0.001$ and 0.63 (0.13) vs. 0.55 (0.12); $p < 0.007$ for cIMT and max-cIMT, respectively). The proportion of subjects affected by plaques within the group of T1D subjects was equivalent to the value observed in the 46-55 year-old reference group.

Conclusion: Even in the absence of major cardiovascular risk factors, subjects with T1D from a low prevalence CVD risk area display signs of an increased and accelerated preclinical atherosclerotic process.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Atherosclerosis

Intima-media thickness

Diabetes mellitus type 1

Introducción

La enfermedad cardiovascular (ECV) representa la mayor causa de morbimortalidad en los pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 (DM1) y con diabetes mellitus de tipo 2 (DM2)^{1,2}. Sin embargo,

la mayoría de la información de la que se dispone proviene de estudios epidemiológicos, estudios fisiopatológicos y estudios clínicos realizados principalmente en poblaciones con DM2. La DM1 es, en comparación, mucho menos frecuente que la DM2 y habitualmente afecta a la población más joven. A pesar de que la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) reconocidos en la DM2 no están presentes en los pacientes con DM1, el riesgo relativo ajustado por edad para la ECV de los sujetos con DM1 es inclusive mayor que en la DM2³.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: iconget@clinic.ub.es (I. Conget).

La utilización de técnicas ecográficas no invasivas se ha extendido en los últimos años con el objetivo de detectar anomalías vasculares precoces que precedan la aterosclerosis clínica. El grosor del complejo íntima-media carotídeo (cIMT) es un marcador precoz de este proceso reconocido y que presenta una correlación con la incidencia de la ECV⁴.

El objetivo de este estudio fue evaluar el cIMT y la presencia de placas de aterosclerosis en el territorio carotídeo en un grupo de pacientes con DM1 de un área mediterránea sin otros FRCV adicionales y comparar estos resultados con los resultados obtenidos en una población de referencia.

Pacientes y métodos

Se incluyeron pacientes con DM1 que cumplían los siguientes criterios: mayores de 18 años, más de 5 años de duración de DM1, en tratamiento convencional intensificado utilizando múltiples dosis de insulina y con ausencia de otros FRCV (sin historia previa o actual de tabaquismo, sin antecedentes de hipertensión arterial [HTA], dislipemia o ECV clínica previa). Los valores de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) (Menarini Diagnostici, Firenze, Italia, con un rango de normalidad del 3,5 al 5,5%) y el perfil lipídico se evaluaron al inicio del estudio. La población de referencia se caracterizaba por 250 sujetos (125 mujeres) con una edad media de 49 años (extremos 20 a 81), normolipémicos y sin historia de obesidad, HTA grave, diabetes ni ECV previa⁵. El Comité Ético del Hospital Clínic i Universitari aprobó el estudio y se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes.

Para la evaluación del cIMT y la presencia de placas de aterosclerosis se utilizó ecografía en modo B siguiendo la misma metodología mediante la que se había estudiado previamente la población de referencia catalana⁵. Posteriormente se compararon los resultados entre ambos grupos. La exploración ecográfica se realizó con equipos Duplex-Doppler color (ACUSON Sequoia, Mountain View, CA, EE. UU.) equipados con transductores lineales de alta resolución de 8 a 10 MHz de frecuencia.

Se definió el cIMT como la distancia entre la interfaz de luz carotídea-íntima y la interfaz media-adventicia de la pared distal o posterior de la carótida primitiva explorada longitudinalmente en la zona prebifurcación. Se cuantificaron manualmente 6 medidas a intervalos regulares en dicha pared posterior a 1 cm prebifurcación. Dado que las mediciones en la carótida común izquierda y en la carótida común derecha proporcionaron valores similares, los resultados se expresan como la media de 12 determinaciones, 6 en cada lado, y como grosor máximo del complejo íntima-media carotídeo (máx-cIMT) el valor máximo en cualquier lado. Las placas ateroscleróticas se evaluaron utilizando ecografía en modo B y Doppler color en todos los segmentos carotídeos bilateralmente y en ambas secciones, tanto longitudinal como transversal, para evitar errores causados por una asimetría circunferencial. Las placas de ateroma se definieron como engrosamientos focales del cIMT con una altura superior al 50% del cIMT adyacente o de los cIMT difusos con un grosor superior a 1,2 mm⁵.

En este protocolo se examinaron 3 segmentos predeterminados a ambos lados en territorio carotídeo: carótida primitiva (1 cm proximal al bulbo carotídeo), bifurcación y bulbo (1 a 2 cm) y carótida interna (1 cm distal a la bifurcación). La exploración se realizó con rotación de la cabeza a 45° hacia el lado contralateral al explorado y con el cuello en dirección anteroposterior. En cada estudio se evaluaron el cIMT, el máx-cIMT y las placas de ateroma.

En un estudio previo con medidas repetidas en 15 individuos para evaluar la variabilidad de la técnica se encontraron coeficientes de correlación intraclase entre 2 observadores de 0,91 y 0,89 para el máx-cIMT.

Los resultados se expresan como media (desviación estándar [DE]) o como porcentaje. Las comparaciones con la población de referencia se realizaron mediante un test de la t de Student o un test de Fisher, según se requirió. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizaron mediante el programa SPSS v.12.0.

Resultados

Se incluyeron 22 pacientes (13 mujeres) con DM1 (edad media de 34,6 años [DE de 7,9]; duración media de la DM1 de 15,3 años [DE de 5,9]) evaluados consecutivamente en la Unidad de Endocrinología. Los valores medios del índice de masa corporal (IMC), de presión arterial (PA) sistólica y de PA diastólica fueron, respectivamente, 24,1 kg/m² (DE de 3,2), 108 mmHg (DE de 12) y 72 mmHg (DE de 9). Los promedios de la HbA_{1c}, colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL), triglicéridos y excreción urinaria de albúmina fueron, respectivamente, 6,7% (DE de 1,1), 103 mg/dl (DE de 2), 49 mg/dl (DE de 8), 52 mg/dl (DE de 2) y 7,2 µg/min (DE de 3,5).

En la tabla 1 se muestran los valores del cIMT y del máx-cIMT expresados como media \pm DE del grupo de pacientes con DM1 y de la población de referencia. Los valores del cIMT y del máx-cIMT fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con DM1 en comparación con el grupo etario correspondiente en la población control (0,52 mm [DE de 0,08] frente a 0,46 mm [DE de 0,09], $p < 0,001$ y 0,63 mm [DE de 0,13] frente a 0,55 mm [DE de 0,12], $p < 0,007$ para cIMT y máx-cIMT, respectivamente). Éste no fue el resultado observado cuando la comparación se realizó con el grupo etario de 36 a 45 años (0,52 mm [DE de 0,12] y 0,60 mm [DE de 0,14] para el cIMT y máx-cIMT; $p =$ no significativo). Los resultados no se modificaron al analizar separadamente ambas medidas en varones y mujeres. En ambos casos, el cIMT y el máx-cIMT correspondían al percentil 75 del grupo etario de menos de 35 años en la población de referencia. Sin embargo, para evitar sobreestimar en una muestra tan pequeña donde a 6 de los 22 sujetos les correspondía un grupo de edad superior a 35 años, se decidió comparar a cada paciente individualmente respecto al grupo que le correspondía por edad y sexo. De esta manera, en los varones se observó que un 44% de los 9 sujetos presentaban un cIMT superior a la media del grupo que les correspondía individualmente por edad y sexo, el 22% era superior a la media (DE de 2) y el 23% se encontraba por encima del percentil 75 del grupo que les correspondía a cada uno de éstos por edad y sexo en la población de referencia. En las mujeres, el 85% de las pacientes presentaban un cIMT superior a la media de su grupo de edad, el 7,7% estaba por encima de la media (DE de 2) y el 23% era superior al percentil 75. Respecto a la presencia de placas de aterosclerosis en el estudio ecográfico, la proporción de sujetos afectados en el grupo de pacientes con DM1 resultó equivalente al valor obtenido en el grupo etario de 46 a 55 años en la población control (tabla 1).

Discusión

Los resultados apuntan hacia la presencia de un proceso de aterosclerosis acelerada en los sujetos jóvenes con DM1 de un área mediterránea a pesar de la ausencia de otros FRCV.

Este trabajo no es el primero que demuestra un mayor valor medio del cIMT en sujetos con DM1 comparados con una población control⁶⁻⁸. Sin embargo, la relevancia de estos resultados se basa en que derivan de un grupo de pacientes jóvenes con DM1 con una duración significativa de la enfermedad y que no

Tabla 1
Grosor del complejo íntima-media carotídeo, grosor máximo del complejo íntima-media carotídeo y presencia de placas de aterosclerosis en el grupo de pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 y en la población de referencia*

	DT1 n = 22; 34,6 años (7,9)	Población de referencia menores de 35 años (n = 68)	Población de referencia 36 a 45 años (n = 48)	Población de referencia 46 a 55 años (n = 52)	Población de referencia 56 a 65 años (n = 42)	Población de referencia mayores de 65 años (n = 40)
cIMT (mm)	0,52 (0,08)	0,46 (0,09) (p<0,001)	0,52 (0,12) (NS)	0,60 (0,13) (p<0,001)	0,63 (0,12) (p<0,001)	0,70 (0,12) (p<0,001)
Máx-cIMT (mm)	0,63 (0,13)	0,55 (0,12) (p<0,001)	0,60 (0,14) (NS)	0,72 (0,19) (p<0,05)	0,74 (0,15) (p<0,05)	0,86 (0,12) (p<0,001)
Placas (% sujetos)	46	1,5 (p<0,001)	10,5 (p<0,002)	33 (NS)	45 (NS)	67,5 (NS)

cIMT: grosor del complejo íntima-media carotídeo; DT1: diabetes mellitus de tipo 1; Máx-cIMT: grosor máximo del complejo íntima-media carotídeo; NS: no significativo.

* Valores expresados como media (desviación estándar).

presentaban complicaciones microvasculares ni otros FRCV concomitantes. Asimismo, debe señalarse que este estudio se realizó en la población mediterránea, y es bien conocido que España presenta una baja prevalencia de ECV en comparación con otras áreas geográficas⁹, aunque podría darse el caso de que esta muestra tan reducida no fuera representativa de esta población. Además, el protocolo incluyó no solamente las medidas del cIMT en el segmento de la carótida primitiva, sino que también se incorporaron las medidas del grosor de las placas en el territorio de la bifurcación y en la carótida interna. Esto ofrece una evaluación más pormenorizada sobre el daño que la aterosclerosis puede producir en estos pacientes con DM1. Además, la inclusión de una población de referencia que proviene de la misma área geográfica permite evaluar hasta qué punto está acelerado el proceso de aterosclerosis evaluado por las mismas técnicas en este grupo de sujetos⁵. En el caso del valor del cIMT, se observó que el valor promedio obtenido en este grupo correspondía al percentil 75 del mismo grupo etario en la población control. En el caso de la detección de placas de aterosclerosis, las diferencias fueron aún mayores que en la evaluación del cIMT. El porcentaje de los pacientes que presentaban placas fue similar al obtenido en el grupo de edades de 46 a 55 años de edad en la población de referencia, y en los grupos de edad superiores. Esta gran diferencia indica que, cuando la ecografía en modo B en territorio carotídeo se utiliza para identificar estadios preclínicos de aterosclerosis o como marcador precoz de ECV en la DM1, sería aconsejable la inclusión de la evaluación de las placas de aterosclerosis a lo largo de los diferentes segmentos arteriales.

Dos principales factores limitan los hallazgos de este estudio: el modesto tamaño muestral y el diseño transversal del estudio. Sin embargo, en conjunto y dadas las referencias de estudios previos de las que se dispone, estos resultados apuntan hacia la relevancia de implementar estrategias de prevención de ECV de

poblaciones de alto riesgo en los pacientes con DM1 además del manejo intensificado del control glucémico con el objetivo de reducir el grado de progresión de aterosclerosis¹⁰.

En resumen, incluso ante la ausencia de FRCV, los sujetos con DM1 de un área geográfica considerada de bajo riesgo cardiovascular presentan signos de aterosclerosis preclínica.

Bibliografía

- Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Speizer FE, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Arch Intern Med.* 2001;161:1717-23.
- Lotufo PA, Gaziano JM, Chae CU, Ajani UA, Moreno-John G, Buring JE, et al. Diabetes and all-cause and coronary heart disease mortality among US male physicians. *Arch Intern Med.* 2001;161:242-7.
- Orchard TJ, Kretowsky A, Costacou T, Nesto RW. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care.* 2006;29:2528-38.
- De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109(suppl III):III-33-III-38.
- Junyent M, Gilibert R, Nuñez I, Corbella E, Vela M, Zambon D, et al. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clin (Barc).* 2005;125:770-4.
- Nathan DM, Lachin J, Cleary P, Orchard T, Brillon DJ, Backlund JY, et al. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2003;348:2294-303.
- Rabago R, Gómez RA, Tanus J, Avelar FJ, Ramírez E, Nishimura E, et al. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30:2599-602.
- Giannattasio C, Failla M, Grappiolo A, Gamba PL, Paleari F, Mancía G. Progression of large artery structural and functional alterations in type 1 diabetes. *Diabetología.* 2001;44:203-8.
- Masiá R, Pena A, Marrugat J, Sala J, Vila J, Pavesa M, et al. High prevalence of cardiovascular risk factors in Gerona, Spain, a province with low myocardial infarction incidence. *J Epidemiol Community Health.* 1998;52:707-15.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2005;353:2643-53.

OBJETIVO 4:

Evaluar si el perfil de aterosclerosis preclínica de los pacientes con DM1 de difícil control o “lábil” con hipoglucemias de repetición e hipoglucemias graves es más desfavorable que el de aquellos sujetos con DM1 que no presentan esta condición.


OBJETIVO 4

1. Justificación del objetivo

Como hemos comentado anteriormente, el riesgo relativo ajustado por edad para ECV de los sujetos con DM1 es inclusive mayor que en la DM2. Además, en los últimos años, numerosos trabajos han demostrado más aterosclerosis en forma de mayor IMT en los pacientes con DM1 en comparación con aquellos sujetos sin DM.

Por otro lado, desde el DCCT no hay duda de que el tratamiento intensivo con insulina influye de forma positiva en la incidencia de complicaciones micro y macrovasculares asociadas a la DM. Sin embargo, éste se asocia a un incremento en la incidencia de hipoglucemia en los sujetos con DM1. Hemos comentado la asociación entre hipoglucemia de repetición y la aparición de hipoglucemia desapercibida. Sin embargo, existen varios trabajos que asocian la presencia de hipoglucemia aguda con alteraciones del ritmo cardíaco e inclusive con alteraciones proinflamatorias y protrombóticas.

En este contexto, dentro del **Objetivo 4** se planteó valorar si la hipoglucemia de repetición representa un factor agravante de enfermedad macrovascular en los sujetos con DM1. Para ello se evaluó la presencia de aterosclerosis precoz en un grupo de pacientes con DM1 con hipoglucemias de repetición y se comparó con un grupo control de sujetos con DM1 sin esta condición y con un grupo control sano. Se utilizaron principalmente técnicas ecográficas como la medida del IMT en territorio femoral y carotídeo así como la valoración de función endotelial mediante la técnica de FMD en la arteria braquial. Asimismo se valoraron marcadores plasmáticos de inflamación y de función endotelial.

Publicación surgida de este objetivo (

Repeated episodes of hypoglycaemia as a potential aggravating factor for preclinical atherosclerosis in subjects with type 1 Diabetes

Marga Giménez, Rosa Gilabert, Joan Monteagudo, Anna Alonso, Roser Casamitjana,

Carles Paré, Ignacio Conget

Diabetes Care 2011; 34:198-203

Otras publicaciones surgidas de este objetivo:

- **Glucose control and cardiovascular disease. Is it important? NO.** ()

Ignacio Conget, Marga Giménez

Diabetes Care 2009; 32 (2):S334-S336.

- **Blood pressure and heart rate response to hypoglycaemia in subjects with type 1 Diabetes. Results from simultaneous continuous monitoring of ambulatory blood pressure and glucose levels.**

Marga Giménez, Enric Esmatjes, Mercè Lara, Ignacio Conget

Infusystems international 2010; 9 (2):14-16.

- **Hypoglycemia, Diabetes and Atherosclerosis: Is there a link?**

Ignacio Conget, Marga Giménez

Diabetes Management 2011; 1 (3):291-297.

- **Hypoglycemia and cardiovascular disease in Type 1 Diabetes. Results from the Catalan National Public Health registry on insulin pump therapy.**

()

Marga Giménez, Juan José López, Conxa Castell, Ignacio Conget

Diabetes Res Clin Pract. 2012 May; 96(2):e23-25.

Comunicaciones surgidas de este objetivo (9):

- *Blood pressure and heart rate response to hypoglycaemia in type 1 Diabetes in simultaneous glucose and blood pressure monitoring.*
Marga Giménez, Enric Esmatjes, Mercè Lara, Ignacio Conget. 3rd International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes 2010. Basel, Switzerland, February 2010.
- *Repeated episodes of hypoglycaemia aggravate preclinical atherosclerosis in a group of young adult subjects with Type 1 diabetes.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Joan Monteagudo, Anna Alonso, Carles Paré, Ignacio Conget. 46th Annual Meeting EASD European Association for the Study of Diabetes 2010. Stockholm, September 2010.
- *Repeated episodes of hypoglycaemia aggravate preclinical atherosclerosis in a group of young adult subjects with Type 1 diabetes.*
Marga Giménez, Rosa Gilabert, Joan Monteagudo, Anna Alonso, Carles Paré, Ignacio Conget. 3th CIBERDEM Annual Meeting, Prullans, Spain. October 2010.
- *Hipoglucemia grave y enfermedad cardiovascular. Resultados a partir de un registro de pacientes a los que se solicita tratamiento con infusor subcutáneo continuo de insulina.*
Juan José Gómez, Marga Giménez, Conxa Castell, Ignacio Conget. XII Congreso nacional de la Sociedad Española de Diabetes 2011, Málaga, Abril de 2011.
- *Hypoglycemia and cardiovascular disease. Results from the Catalan National Health Service registry on insulin pump therapy.*
Marga Giménez, Juan José Gómez, Conxa Castell, Ignacio Conget. 47th Annual Meeting EASD European Association for the Study of Diabetes 2011. Lisbon, September 2011.

2. Material y Métodos

Se incluyeron un total de 45 pacientes con DM1 entre los años 2007 y 2009 que cumplían los siguientes criterios: > 18 años, > 5 años de duración de la DM1, c-péptido libre basal < 0,1 ng/ml, en tratamiento convencional intensificado utilizando MDI con un esquema bolus-basal y con ausencia de otros FRCV (sin historia previa o actual de tabaquismo, sin antecedentes de HTA, dislipemia o ECV clínica previa), complicaciones micro o macrovasculares asociadas (retinografía digital normal, ausencia de microalbuminuria, no neuropatía periférica por exploración física, índice tobillo-brazo normal y ecocardiografía de ejercicio sin alteraciones) o disfunción autonómica (comprobada mediante Test del autónomo realizado con el sistema Cardionomic; Medimatica, Milan, Italia). Los pacientes no recibían ninguna otra medicación de forma crónica (incluyendo estatinas, tratamiento antihipertensivo o fármacos antiinflamatorios) salvo la insulina.

De los 45 pacientes incluidos en el estudio, 25 se seleccionaron como grupo con hipoglucemias de repetición (H-Group), presentando, además de los mencionados criterios de inclusión al menos > 4 episodios de HNG por semana (al menos durante las 8 semanas previas) y > 2 episodios de HG en los 2 años previos. Todas las determinaciones de glucemia capilar < 70 mg/dl se consideraron como HNG y se obtuvieron a partir de las libretas auto reportadas de los pacientes que incluían al menos 4 - 6 controles de glucemia capilar diarios. Los episodios de HG se definieron como aquellos episodios de hipoglucemia asociados a suficiente neuroglucopenia para que el paciente haya requerido la ayuda de una tercera persona para resolver el episodio. Del global de 45 pacientes incluidos en el estudio, los restantes 20 pacientes con DM1 constituyeron el grupo control (C-Group) y fueron seleccionados por estar apareados por edad y sexo con los pacientes problema y por presentar, además de los mencionados criterios de inclusión, < 2 episodios de HNG/semana (en las previas 8 semanas) y sin presentar antecedentes de HG. Al inicio del estudio se recogieron datos antropométricos, parámetros bioquímicos generales, valor de HbA_{1c} (Menarini Diagnostici, Firenze, Italy, rango normalidad 3,5 - 5,5 %) y perfil lipídico.

Asimismo, se seleccionaron 22 sujetos sanos apareados por edad y sexo con los pacientes con DM1 para constituir un grupo comparativo sano en las exploraciones ecográficas. Estos sujetos tenían las siguientes características: ausencia de hábito tabáquico, glucemia basal y perfil lipídico normales, sin HTA, DM ni dislipemia y sin presentar antecedentes familiares de ECV o DM.

El protocolo de investigación consistió en la evaluación de la frecuencia/percepción ante los episodios de hipoglucemia, la valoración del perfil glucémico continuo/variabilidad glucémica obtenida a partir del mismo, una valoración de la función endotelial (FMD) y el estudio de c-IMT y del IMT en territorio femoral (f-IMT). Se evaluaron, asimismo, marcadores inflamatorios y de función endotelial plasmáticos.

El protocolo se diseñó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínic i Universitari. Se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes y controles incluidos en el estudio.

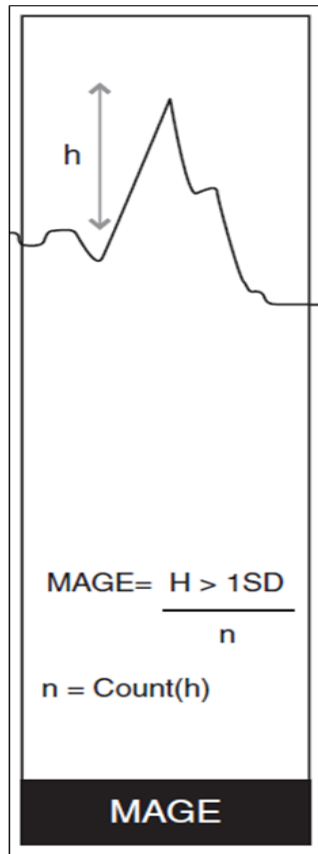
a. Evaluación de la percepción ante los episodios de hipoglucemia

Se utilizaron dos cuestionarios específicos para valorar la percepción de los sujetos ante los episodios de hipoglucemia (cuestionario de Clarke y cuestionario de Gold). Para valorar los signos y síntomas ante un episodio estandarizado de hipoglucemia, se realizó un test de hipoglucemia aguda inducida mediante la infusión de insulina EV. Los sujetos con DM1 respondieron al cuestionario de signos y síntomas de hipoglucemia tras permanecer 30 min en euglucemia en primer lugar (80 - 120 mg/dl) y tras permanecer 30 min en hipoglucemia posteriormente (45 - 55 mg/dl). Se comparó la puntuación entre los cuestionarios en ambas situaciones y los resultados se expresaron como porcentaje de incremento de la puntuación respecto a la obtenida en euglucemia.

b. Perfil glucémico y variabilidad glucémica

Inmediatamente antes de la realización de los estudios vasculares, cada sujeto con DM1 llevó un SMCG “ciego” durante 72 h (sistema Gold de Medtronic, Minimed). Se evaluó la variabilidad glucémica mediante el cálculo del “*mean amplitude glucose excursions*” (MAGE) a partir de las lecturas continuas obtenidas a partir del sensor de glucosa. El MAGE obtenido a lo largo de 24 h es la media de las diferencias absolutas entre el pico y el nadir de glucosa de todas las excursiones que excedan al menos 1 DE de la media de glucosa.

Figura 15. Valoración del MAGE para el cálculo de la variabilidad glucémica en el Objetivo 4. *Adaptado de Diabetes Technol and Ther 2011 Sept; 13(9): 921-928.*



$$\text{MAGE} = \sum_x \lambda \text{ if } \lambda > v$$

Evaluación de la variabilidad glucémica mediante el cálculo de MAGE a partir de las medidas obtenidas por un registro continuo de glucosa intersticial. Se incluyen en el cálculo todas aquellas fluctuaciones que son superiores a 1 DE.

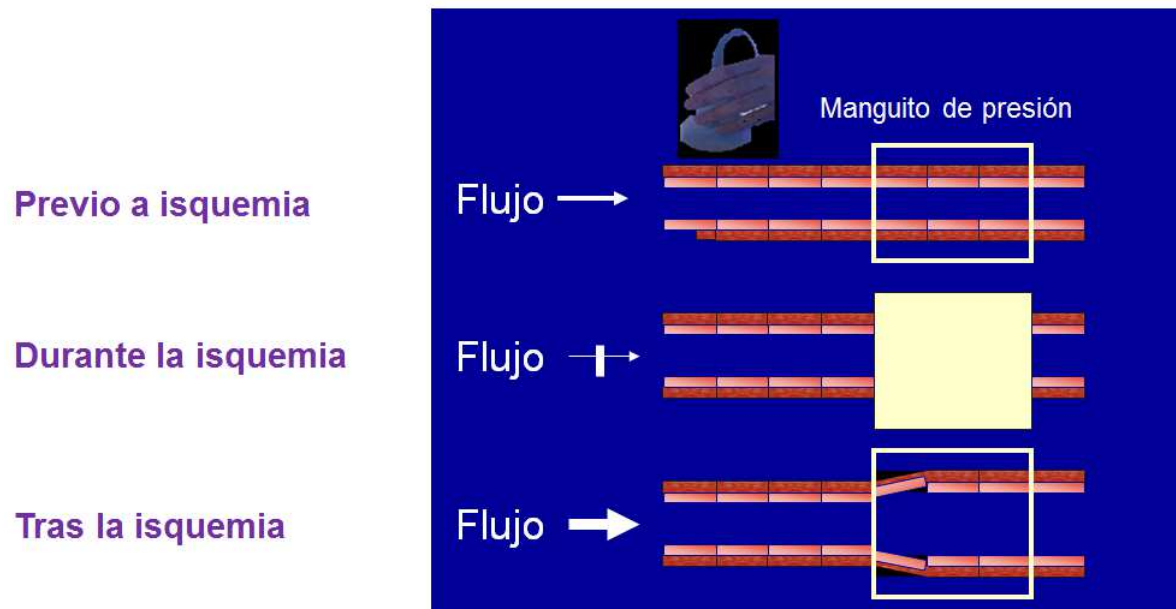
c. Valoración ecográfica

Los estudios ecográficos del territorio carotídeo, femoral y braquial se realizaron mediante un sistema Accuson Sequoia (Accuson Corporation, Mountain View, CA) equipado con un transductor lineal de 8 MHz. Los estudios de FMD los realizó M.G., un endocrinólogo adiestrado y con experiencia en la realización de más de 150 estudios de FMD. Los estudios de c-IMT y de f-IMT los realizó R.G., un radiólogo con más de 15 años de experiencia. M.G. y R.G. realizaron los estudios y las mediciones de forma “ciega”.

- FMD

Todos los pacientes y los sujetos del grupo control sano se evaluaron tras 6 h de abstinencia de comida y bebidas cafeinadas. A las mujeres se las examinó en fase folicular del ciclo menstrual. Los valores de glucemia capilar requeridos para el estudio estaban entre el intervalo 80 - 120 mg/dl. La arteria braquial se localizó de forma longitudinal entre 5 - 10 cm por encima de la fosa antecubital. Las imágenes basales se recogieron de forma continua durante 1 min. Posteriormente, y tras colocar un manguito de presión unos 4 cm por debajo del codo, éste se infló hasta conseguir presiones de 250 mmHg durante 5 min. Por último, tras la deflación del manguito de presión, se continuó midiendo de forma continua el diámetro de la arteria braquial en sección longitudinal durante 4 min más para determinar la máxima dilatación endotelio-dependiente. Las imágenes se analizaron utilizando un software específico (Brachial Analyzer; Medical Imaging Applications, Iowa City, IA). La dilatación se calculó como el máximo diámetro luminal tras la isquemia menos el diámetro luminal basal dividido por el diámetro luminal basal. Los resultados se expresaron como un porcentaje.

Figura 16. Protocolo de estudio de la función endotelial mediante ecografía en modo B en el Objetivo 4.



Protocolo de evaluación de la función endotelial mediante la medida del porcentaje de dilatación de la arteria braquial en respuesta a isquemia. Se mide de forma continua el diámetro arterial durante 1 min en la fase basal previa a la isquemia. Posteriormente se infla un manguito de presión durante 5 min y finalmente tras la deflación del manguito de presión se continúa midiendo de forma continua durante 4 min más en espera de la máxima dilatación en respuesta a la isquemia. El resultado de la FMD se expresa como porcentaje de dilatación y se considera como normal la dilatación entre un 5 y un 15 %.

- **c-IMT**

La pared anterior y posterior de los segmentos arteriales de carótida común, bulbo carotídeo y carótida interna se analizaron bilateralmente en todos los sujetos. El valor de IMT se definió como la distancia entre la interfase lumen-íntima y la interfase media-adventicia. Las mediciones se realizaron a posteriori y de forma manual, y consistieron en la realización de 6 medidas manuales equidistantes a lo largo de 1 cm en la pared posterior de la arteria carótida común (1 cm pre-bifurcación), bulbo carotídeo y carótida interna (1 cm post bifurcación). La media de las 36 medidas de ambos territorios carotídeos izquierdo y derecho se consideró como medida “*composite*” (cIMTcomp). Las placas de ateroma (intrusiones focales en el lumen con una altura superior al 50 % del IMT adyacente o grosor difuso de IMT superior a 1,2 mm) se describieron utilizando la ecografía en modo B y el Doppler color en todos los segmentos carotídeos.

- **f-IMT**

Se midió el valor de f-IMT a lo largo de 1 cm de la pared posterior de la arteria femoral común previa a la bifurcación. Se realizaron 6 medidas manuales equidistantes en el segmento seleccionado bilateralmente. f-IMT se expresó como la media de los 12 valores realizados.

La variabilidad intraobservador se evaluó comparando los resultados de medidas repetidas en 15 sujetos en 2 días tras una semana de diferencia. Los coeficientes de correlación para c-IMT, f-IMT y el porcentaje de FMD fueron 0,91, 0,93 y 0,74, respectivamente. El coeficiente de correlación entre dos lectores diferentes fue de 0,91 para c-IMT.

d. Marcadores plasmáticos de inflamación y función endotelial

Tras permanecer 30 min en euglucemia, se midieron en todos los pacientes con DM1 los siguientes marcadores inflamatorios y parámetros de función endotelial: PCRus (Behring Nephelometer analyzer; Dade Behring, Marburg, Germany), factor de Von Willebrand (vWF) (kit comercial ELISA; DG-EIA vWF; Diagnostic Grifols, Parets del Vallès, Spain), fibrinógeno (Thromborel S; Dade-Behring), molécula de adhesión

intercelular soluble-1 (sICAM-1) (kit comercial ELISA; BKL Diagnostics, Barcelona, Spain), E-selectina soluble (E-Selectina) (kit comercial ELISA; BKL Diagnostics, Barcelona, Spain) y interleukina 1- β (1 β -IL) (kit comercial ELISA; BioSource Europe, Nivelles, Belgium). Asimismo, todos estos parámetros se midieron nuevamente tras permanecer 30 min en hipoglucemia durante el test de hipoglucemia inducida.

e. Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media (DE) o como porcentaje. Se comprobó la normalidad de todas las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Las comparaciones entre ambos grupos se realizaron mediante una t de Student para datos no apareados en las variables con distribución normal o bien utilizando un test U de Mann-Whitney para las variables con distribución no normal. Las proporciones se compararon mediante un test de Fisher. Se utilizó un análisis de regresión lineal múltiple para testar si la presencia de hipoglucemia de repetición se asociaba de forma independiente a las medidas de cIMTcomp. En el análisis de regresión lineal múltiple se incluyeron como covariables la edad, género, la presencia de comorbilidades (tensión arterial sistólica: TAs, IMC y colesterol LDL: cLDL) así como también los factores relacionados con la DM y el control glucémico (duración de la DM1, HbA_{1c} y MAGE). Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS v.14.0 para Windows.

f. Cálculo de muestra

Se planteó un estudio de respuesta continua variable analizando un grupo control independiente de sujetos (C-Group) y un grupo de sujetos experimental (H-Group). Si consideramos una diferencia real de 0,045 mm en el valor de c-IMT, se necesita estudiar al menos 20 sujetos experimentales y 20 sujetos controles para ser capaz de rechazar la hipótesis nula que significaría que ambas poblaciones experimental y control son iguales con una probabilidad (poder) de 0,80. El error tipo 1 (β) asociado con este test para esta hipótesis nula es de 0,05.

3. Resultados

A continuación, se describen en la Tabla 2 los resultados más relevantes desde el punto de vista ecográfico entre ambos grupos de pacientes con Diabetes: el grupo principal de estudio, los pacientes con DM1 con antecedentes de HG de repetición y los pacientes con DM1 controles por no presentar antecedentes de HG.

Tabla 2. Resultados respecto a marcadores funcionales y estructurales de daño vascular precoz entre pacientes con DM1 con hipoglucemias de repetición y pacientes con DM1 controles (Objetivo 4).

	Grupo DM1 con HIPOGLUCEMIAS	Grupo DM1 CONTROL	Valor p
	N=25	N=20	
Medidas en la arteria braquial			
Diámetro arterial braquial basal (mm)	4,13±0,76	3,80±0,74	N.S.
FMD máximo (%)	6,52±2,92	8,62±3,13	<0,05
Medidas en la arteria carótida			
Media en carótida común (cIMT, mm)	0,53±0,09	0,47±0,08	<0,05
Media en bifurcación carotídea (mm)	0,67±0,18	0,50±0,07	<0,02
Media en carótida interna (mm)	0,58±0,20	0,45±0,09	<0,02
Media de todo territorio carotídeo (cIMTcomp, mm)	0,59±0,13	0,47±0,07	<0,01
Sujetos con placas carotídeas (%)	8/25	0	
Medidas en la arteria femoral			
Media en femoral común (fIMT, mm)	0,51±0,17	0,39±0,09	<0,05
Sujetos con placas femorales (%)	5/25	0	
Sujetos con placas en área carotídea o femoral	10/25	0	

Comparación entre ambos grupos de pacientes con DM1 estudiados en el Objetivo 4. Se valora la función endotelial mediante FMD y las alteraciones estructurales vasculares mediante la medida de IMT en territorio carotídeo y femoral. Resultados del grupo de pacientes con DM1 con hipoglucemias de repetición respecto al grupo control de pacientes con DM1 sin hipoglucemias.

Repeated Episodes of Hypoglycemia as a Potential Aggravating Factor for Preclinical Atherosclerosis in Subjects With Type 1 Diabetes

MARGA GIMÉNEZ, MD^{1,2}
 ROSA GILABERT, MD, PHD³
 JOAN MONTEAGUDO, MD, PHD⁴
 ANNA ALONSO, BN¹

ROSER CASAMITJANA, MD, PHD⁵
 CARLES PARÉ, MD, PHD⁶
 IGNACIO CONGET, MD, PHD^{1,2}

OBJECTIVE — To evaluate through early preclinical atherosclerosis assessment whether repeated episodes of hypoglycemia represent an aggravating factor for macrovascular disease in type 1 diabetes.

RESEARCH DESIGN AND METHODS — After sample-size calculation, a case-control study of 25 patients with type 1 diabetes and repeated severe/nonsevere hypoglycemia (H-group) compared with 20 age- and sex-matched type 1 diabetes control subjects (C-group) was designed. Assessment of preclinical atherosclerosis consisted of flow-mediated brachial dilatation (FMD) and carotid and femoral intima-media thickness (IMT) studies. To consider hypoglycemia awareness, two different questionnaires and symptomatic response to an acute induction to hypoglycemia were used. Evaluation of the glycemic profile was obtained from continuous glucose monitoring. Endothelial function/inflammation markers were measured in euglycemia/hypoglycemia. A multivariate linear regression analysis was performed to test whether repeated hypoglycemia was independently associated with atherosclerosis.

RESULTS — H-group subjects displayed hypoglycemia unawareness and presented a higher percentage of continuous glucose values and area under the curve <70 mg/dl compared with the C-group (14.2 ± 8.9 vs. 6.3 ± 7.1%, $P < 0.02$ and 2.4 ± 1.8 vs. 0.6 ± 1.0 mg/dl/day, $P < 0.01$). The percentage of maximal FMD was lower in the H-group than in the C-group (6.52 ± 2.92 vs. 8.62 ± 3.13%, $P < 0.05$). A significantly higher IMT was observed at both carotid and femoral sites in the H-group (carotid 0.53 ± 0.09 vs. 0.47 ± 0.08 mm, $P < 0.05$ and femoral 0.51 ± 0.17 vs. 0.39 ± 0.09 mm, $P < 0.05$). Baseline inflammation and endothelial function markers were higher in the H-group (leukocytes 7.0 ± 1.8 vs. 5.6 ± 1.4 × 10³/ml, von Willebrand factor 119 ± 29 vs. 93 ± 26%, fibrinogen 2.82 ± 0.64 vs. 2.29 ± 0.44g/l, and soluble intercellular adhesion molecule-1 408 ± 224 vs. 296 ± 95 ng/ml; $P < 0.05$ for all).

CONCLUSIONS — In addition to the induction of hypoglycemia unawareness and an increased risk for severe hypoglycemia, repeated hypoglycemia could be related to and considered an aggravating factor for preclinical atherosclerosis in type 1 diabetes. The precise mechanisms explaining this association remain to be clarified.

Diabetes Care 34:198–203, 2011

Even though many of the cardiovascular disease (CVD) risk factors recognized in type 2 diabetes are not present in type 1 diabetic subjects, the age-adjusted relative risk for CVD in type 1 diabetes is even higher than that in type 2 diabetes (1). Since the availability of data from Diabetes Control and Complications

Trial (DCCT)/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) studies, there is no doubt that intensive therapy positively affects the long-term incidence of micro- and macrovascular disease in subjects with type 1 diabetes (2,3). However, because the association between glycemic control and macrovascular disease is mainly obtained from epidemiological data, the role of glycemic control in macrovascular disease is still controversial. In contrast, intensive glucose control invariably increases the risk of hypoglycemia.

Iatrogenic hypoglycemia causes recurrent morbidity in most people with type 1 diabetes. Frequent and repeated episodes of hypoglycemia almost unfailingly result in a reduced ability or failure to recognize hypoglycemia symptoms and signs. This syndrome of hypoglycemia unawareness frequently occurs in type 1 diabetes, and patients without warning symptoms are then at a high risk for severe hypoglycemia (4). In addition, hypoglycemia is a major barrier to achieving normoglycemia over a lifetime of using intensive insulin therapy and thus precludes the long-term benefits of euglycemia (4). More recently, Gill et al. (5) reported QT prolongation and cardiac and rhythm disturbances in response to nocturnal hypoglycemia in ambulatory patients with type 1 diabetes, which may support the idea of an arrhythmic basis for “death in bed syndrome.”

Carotid intima-media thickness (cIMT) and the assessment of endothelial function have been shown to be markers of preclinical atherosclerosis and correlate with prevalent and incident cardiovascular disease (6). In the DCCT/EDIC, the progression of cIMT in the population of type 1 diabetic subjects was used as a measure of atherosclerosis (7).

It has also been reported that patients with type 1 diabetes presented higher cIMT and lower percentages of flow-mediated dilatation (FMD) with respect to healthy control subjects (8). Although hyperglycemia has been proven to increase the stiffness of intermediate-sized

From the ¹Endocrinology and Diabetes Unit, Hospital Clinic, Barcelona, Spain; the ²CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, Barcelona, Spain; the ³Radiology Unit, Hospital Clinic, Barcelona, Spain; the ⁴Hemostasia Unit, Hospital Clinic, Barcelona, Spain; the ⁵Hormonal Unit, Hospital Clinic, Barcelona, Spain; and the ⁶Cardiology Unit, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

Corresponding author: Ignacio Conget, iconget@clinic.ub.es.

Received 16 July 2010 and accepted 28 September 2010. Published ahead of print at <http://care.diabetesjournals.org> on 7 October 2010. DOI: 10.2337/dc10-1371.

© 2011 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.

arteries and resistance of arteries, the analysis of discontinuous glucose profile datasets from the DCCT failed to find an association between glucose variability and the development of microvascular complications (9). Moreover, various measures for the assessment of glycemic variability have shown that there is no relationship between oxidative stress and glucose fluctuations in type 1 diabetes even though glucose variability was much higher than that in type 2 diabetes (10).

Acute hypoglycemia induces a rapid proinflammatory, platelet aggregatory, antifibrinolytic, and prothrombotic response (11,12). Recurrent hypoglycemic episodes may provoke changes in hemostatic factors and viscosity, which may reduce perfusion in diabetic microangiopathy (11,12). Rodrigues et al. (13) have recently reported that higher fibrinogen levels predict progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes. The SEARCH study has also described elevated inflammatory markers even in youth with type 1 diabetes and good metabolic control compared with control subjects, suggesting an explanation for accelerated atherosclerosis in type 1 diabetes (14). In addition, Feldman-Billard et al. (15) described hypoglycemia-induced hypertension in a group of diabetic patients. If hypoglycemia acutely provokes intense changes in hemodynamics and several hemorheological parameters, it could play a different role in atherosclerosis when chronically repeated.

Therefore, the aim of our study was to evaluate whether repeated episodes of hypoglycemia represent an aggravating factor for macrovascular disease in subjects with type 1 diabetes through early atherosclerosis-vascular assessment.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

A total of 45 patients with type 1 diabetes were recruited for the study from 2007 to 2009. Subjects were invited to participate in the protocol if they fulfilled the following criteria: aged >18 years, type 1 diabetes duration >5 years, basal C-peptide <0.1 ng/ml, use of multiple doses of insulin in a basal-bolus schedule, and an absence of other major CVD risk factors, micro- or macrovascular complications (normal digital retinal photography results, absence of microalbuminuria, no neuropathy by clinical examination, normal ankle-brachial index, and normal stress echocardiography results), and no autonomic dysfunction

(Cardionomic system; Medimatica, Milan, Italy). Patients were not taking medication chronically (including statins, antihypertensive drugs, or anti-inflammatory drugs) except insulin.

Of the 45 type 1 diabetic patients, 25 were selected as a hypoglycemic group (H-group) presenting >4 nonsevere hypoglycemia episodes per week (last 8 weeks) and >2 severe hypoglycemia episodes in the past 2 years. All episodes of capillary glycemia <70 mg/dl were considered nonsevere hypoglycemia episodes based on four to six daily capillary blood determinations. Severe hypoglycemia events were defined as those associated with neuroglycopenia severe enough to require treatment from a third party. Of the 45 type 1 diabetic patients, 20 were chosen as age- and sex-matched diabetic control subjects (C-group) presenting <2 nonsevere hypoglycemia episodes per week (last 8 weeks) and with no previous episodes of severe hypoglycemia. Anthropometric measures, general biochemical parameters, A1C values (normal range 3.5–5.5%; Menarini Diagnostici, Firenze, Italy), and lipid profile were measured at the beginning of the study.

In addition, an age- and sex-matched healthy control group (22 subjects) was selected as a comparative group for ultrasound analysis. They satisfied the criteria of being nonsmokers, having a normal fasting glycemia and lipid profile, not having hypertension, diabetes, or dyslipidemia, and not having a family history of CVD or diabetes.

The protocol included an evaluation of the frequency/awareness of hypoglycemia, an assessment of glycemic profile/glucose variability, an evaluation of endothelial function (FMD), and a carotid and femoral IMT assessment. Inflammation and endothelial function markers were evaluated.

The study protocol, conducted according to the Declaration of Helsinki, was approved by the Hospital Clínic i Universitari Ethics Committee. Informed consent was obtained from all the patients and control subjects.

Evaluation of hypoglycemia awareness

Two different questionnaires (Clarke and Gold tests [16,17]) were used to evaluate hypoglycemia awareness. To assess signs and symptoms response to a standardized situation of hypoglycemia, an acute induction to hypoglycemia with intravenous insulin was performed (18).

Subjects with type 1 diabetes answered the Hypoglycemia symptoms score questionnaire (Edinburgh scale [19]) after 30 min of euglycemia first (80–120 mg/dl) and after 30 min of hypoglycemia (45–55 mg/dl) afterward. The tests scores for the two states were compared, and the results are expressed as a percentage of increase from the baseline.

Glycemic profile and glucose variability

Immediately before vascular studies, each patient with type 1 diabetes underwent continuous glucose monitoring (CGM) for 72 h using the Medtronic Gold system. Glucose variability was evaluated by calculating mean amplitude of glucose excursions (MAGE) from continuous sensor readings. MAGE over 24 h is the mean of the absolute differences between glucose peak and nadir values in excess of at least 1 SD of the mean glucose.

Ultrasound imaging

The carotid, femoral, and brachial artery ultrasound studies were performed with an Acuson Sequoia system (Acuson Corporation, Mountain View, CA), equipped with an 8-MHz linear array transducer. The FMD studies were performed by M.G., a trained endocrinologist with experience in >150 FMD studies. The cIMT and femoral IMT (fIMT) studies were done by R.G., a radiologist with >15 years of experience. M.G. and R.G. were masked to the patient groups when they performed the FMD and IMT studies.

FMD. All patients and healthy control subjects were evaluated after 6 h of abstinence from food and caffeinated drinks. Women were examined in the follicular phase of the menstrual cycle. Capillary glycemia was always between 80 and 120 mg/dl. The brachial artery was imaged longitudinally 5–10 cm above the antecubital fossa. Baseline images were recorded continuously for 1 min. Subsequently, a blood pressure cuff positioned 4 cm below the elbow was inflated up to 250 mmHg for 5 min. The artery was continuously imaged for 4 min during the hyperemia after release of the cuff pressure to determine endothelium-dependent vasodilatation. All images were analyzed using proprietary software (Brachial Analyzer; Medical Imaging Applications, Iowa City, IA). Dilatation was calculated as maximal lumen diameter after ischemia minus lumen diameter at baseline divided by lumen diameter at baseline. Results are expressed as a percentage.

cIMT. The common carotid artery, the carotid artery bulb, and the internal carotid artery near and far wall segments were scanned bilaterally. IMT was defined as the distance between the lumen-intima and the media-adventitia interfaces. Measurements were performed offline and consisted of six manual measurements at equal distances along 1 cm on the far wall of the common carotid artery (1 cm before the bifurcation), bulb, and internal carotid artery (1 cm after the bifurcation). The mean of the 36 values for right and left sides was considered a composite measurement (cIMTcomp). Atheroma plaques (focal intrusions into the lumen with a height >50% of the nearest IMT or diffuse IMT thickening >1.2 mm) were sought by using B-mode and color Doppler imaging in all the carotid segments.

fIMT. Mean fIMT was measured in the far arterial wall along the distal 1 cm before the bifurcation. Six measurements were done manually on each side. fIMT was expressed as the mean of the 12 values.

Intraobserver variability was evaluated by comparing results from repeated examinations of 15 subjects on 2 days a week apart. The correlation coefficients for cIMT, fIMT, and percent FMD were 0.91, 0.93, and 0.74, respectively. The correlation coefficient between two different readers was 0.91 for cIMT.

Inflammation and endothelial marker evaluation

After type 1 diabetic patients had rested 30 min in euglycemia, leukocytes, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) (Behring Nephelometer analyzer; Dade Behring, Marburg, Germany), von Willebrand factor (vWF) (ELISA-based commercial kit, DG-EIA vWF; Diagnostic Grifols, Parets del Valles, Spain), fibrinogen (Thromborel S; Dade-Behring), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) (ELISA-based commercial kit; BKL Diagnostics, Barcelona, Spain), soluble E-selectin (ELISA-based commercial kit; BKL Diagnostics), and interleukin-1 β (1 β -IL) (ELISA-based commercial kit; BioSource Europe, Nivelles, Belgium) were measured to assess inflammation and endothelial function. All of these parameters were also measured after 30 min in hypoglycemia.

Statistical analysis

Results are presented as means \pm SD or percentages. Normal distribution was tested for each variable using the Kolmog-

orov-Smirnov test. The comparisons between groups were performed using a Student's *t* test for unpaired data for normally distributed variables or using a Mann-Whitney *U* test for nonnormally distributed variables. Proportions were compared with the use of a Fisher exact test. A multivariate linear regression analysis was performed to test whether repeated hypoglycemia was independently associated with cIMTcomp measurements. Covariates included age, sex, comorbidities (systolic blood pressure, BMI, and LDL cholesterol) and factors related to diabetes and glucose control (type 1 diabetes duration, A1C, and MAGE). *P* < 0.05 was considered statistically significant. All statistical calculations were performed with SPSS (version 14.0 for personal computers).

Sample size calculation

We planned a study of a continuous response variable from independent control subjects (C-group) and experimental subjects (H-group). Considering a true difference in the experimental and control means of 0.045 mm in cIMT, we needed to study at least 20 experimental subjects and 20 control subjects to be able to reject the null hypothesis that the population means of the experimental and control were equal with probability (power) 0.80. The type I error probability associated with this test of this null hypothesis was 0.05 (α).

RESULTS— The baseline characteristics of the H-group and C-group are shown in Table 1. There were no major differences in the whole set of clinical and laboratory parameters between type 1 di-

abetic subjects and healthy control subjects.

Hypoglycemia awareness and number of hypoglycemic episodes

As expected, H-group subjects had a significantly higher number of nonsevere hypoglycemia episodes per week and more severe hypoglycemia episodes than type 1 diabetic subjects in the C-group (nonsevere hypoglycemia: 5.22 ± 1.98 vs. 0.25 ± 0.50 episodes/week/subject during the previous 2 weeks, *P* < 0.01; severe hypoglycemia for 2 years before: 1.28 ± 0.45 vs. 0 episodes/patient/year).

Hypoglycemia awareness was evaluated using two different specific questionnaires. The Gold questionnaire classified 25 of 25 subjects in the H-group as having hypoglycemia unawareness but none in the C-group. On the other hand, the Clarke test classified 24 of 25 H-group subjects as having hypoglycemic unawareness and 1 of 25 as inconclusive. Again, all of the type 1 diabetic subjects from the C-group were classified as having normal awareness using the second test.

The mean score for the Edinburgh scale in euglycemia was not different between the groups (21.1 ± 2.7 vs. 20.5 ± 1.9 for the H-group and C-group, respectively). With respect to the signs/symptoms response during the acute induction of hypoglycemia, type 1 diabetic subjects in the H-group increased on average 46% on the Edinburgh scale between euglycemia and hypoglycemia, whereas those in the C-group increased 163% between both situations.

Table 1—Characteristics of study subjects

	H-group	C-group	<i>P</i> value
<i>n</i>	25	20	
Sex (male/female)	11/14	11/9	NS
Age (years)	34.6 ± 7.8	33.5 ± 8.7	NS
Type 1 diabetes duration (years)	16.1 ± 6.3	14.0 ± 6.5	NS
A1C (%)	6.6 ± 1.0	6.7 ± 0.7	NS
Total cholesterol (mg/dl)	171 ± 30	167 ± 34	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	107 ± 26	101 ± 24	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	52 ± 12	55 ± 11	NS
Triglycerides (mg/dl)	54 ± 26	47 ± 20	NS
Systolic blood pressure (mmHg)	107 ± 12	108 ± 13	NS
Diastolic blood pressure (mmHg)	71 ± 9	73 ± 10	NS
BMI (kg/m ²)	23.1 ± 2.9	23.5 ± 2.3	NS
Smokers (%)	0	0	NS

Data are means \pm SD.

Glycemic profile and glucose variability

With respect to the results obtained from the blinded CGM system data in type 1 diabetic patients, it was not surprising that the H-group subjects presented higher percentages of values and area under the curve <70 mg/dl with respect to the C-group (14.2 ± 8.9 vs. $6.3 \pm 7.0\%$ of values <70 mg/dl, $P < 0.02$ and 2.4 ± 1.8 vs. 0.6 ± 1.0 mg/dl area under the curve for low values, $P < 0.01$ for the H-group and C-group, respectively). Regarding glucose variability, MAGE was significantly higher in the H-group than in the C-group (136 ± 29 vs. 101 ± 28 mg/dl, $P < 0.01$).

FMD

Subjects from the H-group displayed lower percentages of FMD response to ischemia with respect to type 1 diabetic patients from the C-group (6.52 ± 2.92 vs. $8.62 \pm 3.13\%$, $P < 0.05$) (Table 2). Both type 1 diabetic groups were compared with the Healthy-Control Group (22 subjects, 12 women, aged 32.7 ± 6.8 years), and lower percentages of dilatation in the FMD test were found when compared with those obtained in the comparative group ($9.41 \pm 2.20\%$ for the Healthy-Control Group).

cIMT and fIMT

As shown in Table 2, all of the measures performed in carotid and femoral sites were higher in the H-group than in the C-group. With respect to carotid arteries, both cIMT and cIMTcomp were higher in the H-group than in the C-group (cIMT 0.53 ± 0.09 vs. 0.47 ± 0.08 mm; $P < 0.05$; cIMTcomp 0.59 ± 0.13 vs. 0.47 ± 0.07 mm, $P < 0.02$). In addition, fIMT was also lower in the C-group (0.51 ± 0.17 vs. 0.39 ± 0.09 mm, $P < 0.05$). Whereas atherosclerotic plaques were detected in either the carotid or femoral area in 10 of 25 subjects from the H-group, none were detected in the C-group.

As expected, the H-group also had thicker cIMT and fIMT with respect to the healthy control group, but there were no differences between the C-group and the healthy control group (cIMT 0.47 ± 0.05 mm and fIMT 0.39 ± 0.05 mm for the healthy control group) (Table 2).

Inflammation and endothelial function markers

vWF, fibrinogen, leukocytes, and sICAM-1 were significantly higher in the H-group. In contrast, no differences between the groups

Table 2—Mean values of carotid, femoral, and brachial ultrasound measures: FMD and IMT results and comparisons between groups

	H-group	C-group	P value
<i>n</i>	25	20	
Brachial artery measures			
Baseline brachial diameter (mm)	4.13 ± 0.76	3.80 ± 0.74	NS
Maximal FMD (%)	6.52 ± 2.92	8.62 ± 3.13	<0.05
Carotid artery measures			
Mean common carotid (cIMT, mm)	0.53 ± 0.09	0.47 ± 0.08	<0.05
Mean carotid bifurcation (mm)	0.67 ± 0.18	0.50 ± 0.07	<0.02
Mean internal carotid (mm)	0.58 ± 0.20	0.45 ± 0.09	<0.02
Mean carotid composite (cIMTcomp, mm)	0.59 ± 0.13	0.47 ± 0.07	<0.01
Subjects with carotid plaques	8/25	0	
Femoral artery measures			
Mean common femoral (fIMT, mm)	0.51 ± 0.17	0.39 ± 0.09	<0.05
Subjects with femoral plaques (%)	5/25	0	
Subjects with plaques in any carotid/femoral areas	10/25	0	

Data are means \pm SD.

were observed with respect to the basal determination of hs-CRP, soluble E-selectin, and 1β -IL (Table 3).

All previously mentioned parameters were also measured in the H-group and C-group after 30 min of hypoglycemia (nadir glucose concentrations: 39 ± 5 vs. 40 ± 4 mg/dl, NS for the H-group and C-group, respectively). There were no significant differences between the groups in changes evoked by hypoglycemia (Table 3).

In the multiple linear regression analysis, the allocation in the H-group determined cIMTcomp (β 0.082, $P < 0.02$) independently from the other covariates: age (β 0.008, $P < 0.001$), sex, disease

duration, BMI, systolic blood pressure, A1C, MAGE, and LDL cholesterol (β 0.001, $P < 0.03$). The complete model explained $\sim 73\%$ of cIMTcomp.

CONCLUSIONS— Our findings suggest that repeated hypoglycemic episodes in type 1 diabetic subjects are associated with a worse prognosis in terms of preclinical atherosclerosis profile represented not only by abnormalities in endothelial function but also by an increase in IMT in both carotid and femoral sites.

Type 1 diabetes is associated with premature arterial disease. There are some studies that have previously demonstrated endothelial dysfunction using

Table 3—Endothelial function and inflammation biochemical markers measured in both groups in euglycemia and hypoglycemia

	H-group	C-group	P value
<i>n</i>	25	20	
Euglycemia			
vWF euglycemia (%)	119 ± 29	93 ± 26	<0.02
Fibrinogen euglycemia (g/l)	2.82 ± 0.64	2.29 ± 0.44	<0.02
Leukocytes ($10^3/\mu$ l)	7.0 ± 1.8	5.6 ± 1.4	<0.05
sICAM-1 euglycemia (ng/ml)	408 ± 224	296 ± 95	<0.05
hs-CRP euglycemia (mg/dl)	0.23 ± 0.30	0.15 ± 0.17	NS
E-selectin euglycemia (ng/ml)	44 ± 21	49 ± 25	NS
1β -IL euglycemia (pg/ml)	2.92 ± 6.15	1.30 ± 2.65	NS
% increase in hypoglycemia*			
vWF	3.24 ± 12.85	16.97 ± 31.91	NS
Fibrinogen	2.84 ± 12.55	10.45 ± 23.27	NS
sICAM-1	4.15 ± 11.76	6.12 ± 13.31	NS
hs-CRP	-2.35 ± 9.02	20.35 ± 61.25	NS
Soluble E-selectin	4.74 ± 10.79	0.47 ± 11.30	NS
1β -IL	41.55 ± 143.30	33.30 ± 152.75	NS

Data are means \pm SD. *Expressed as percentage increased in each variable with respect to the baseline result.

FMD evaluation in type 1 diabetes (20). In addition, our article is not the first to demonstrate a higher mean cIMT in subjects with type 1 diabetes compared with a control group. In our study, the FMD response to ischemia was lower in subjects with type 1 diabetes compared with healthy control subjects, demonstrating early alteration of vascular function. In addition, in patients with repeated episodes of hypoglycemia, IMT (carotid and femoral) was higher than in the healthy control group. Hypertension, dyslipidemia, smoking, and urinary albumin excretion have been related to cIMT and atherosclerosis in type 1 diabetes (7). In our study, including patients with type 1 diabetes without CVD risk factors and microvascular and macrovascular complications, LDL cholesterol was also associated with the variation in cIMT.

The EDIC study showed that intensive insulin therapy slowed the increment of cIMT in type 1 diabetes (7). It has been found that acute hyperglycemia induces vascular changes and inflammatory response and alters myocardial ventricular repolarization in type 1 diabetes (21,22). Despite the assumption that glucose variability is greater than that in type 2 diabetes, data concerning whether glucose fluctuations are an independent risk factor for complications in type 1 diabetes are still controversial (23). However, it has been suggested that a high mean daily blood glucose, but not glucose variability, is related to arterial stiffness in patients with type 1 diabetes using CGM and a hyperglycemic clamp (24). In addition, Wentholt et al. (10) failed to demonstrate a relation between high glucose variability and elevated levels of a surrogate marker of vascular damage. In our study and considering all patients with type 1 diabetes as a whole, MAGE was not independently associated with cIMT.

Hypoglycemia is the most common and the most feared side effect of intensive insulin therapy and frequently is the major barrier to achieving glucose control as normal as possible (4). In the short term, the acute hemodynamic changes induced by hypoglycemia may precipitate and aggravate a vascular event during an acute episode (25). In the long term, especially if hypoglycemia is repeated, the abnormalities in coagulation, fibrinolysis, and inflammation associated with it could be related to the induction and progression of atherosclerosis. In our study, in addition to the induction of hypoglycemia unawareness, repeated episodes of

hypoglycemia were related to a worse prognosis in terms of preclinical atherosclerosis. Considering endothelial function, FMD was significantly reduced in type 1 diabetic subjects with repeated episodes of hypoglycemia compared with that in those patients without these episodes. Accordingly, coagulation markers of endothelial damage and acute-phase inflammation markers were significantly higher in the former group.

For structural changes, a comprehensive evaluation of carotid arteries gave significant higher values of IMT in subjects having repeated episodes of hypoglycemia. The multivariate regression analysis confirmed the association of repeated episodes of hypoglycemia and cIMTcomp independently of the other CVD risk factors considered. Likewise, data on IMT from femoral arteries confirmed that preclinical atherosclerosis was aggravated by repeated episodes of hypoglycemia not only in the carotid artery but also in peripheral vascular sites. It is noteworthy that in contrast to the findings with FMD, for IMT, differences with respect to the healthy control group were only significant in patients with type 1 diabetes and repeated episodes of hypoglycemia. This observation suggests that in addition to alterations in endothelial function that occur early in type 1 diabetes, recurring episodes of hypoglycemia could be considered an aggravating or accelerating factor. There is neither complete information concerning type 1 diabetes-specific determinants of vascular damage and their interrelationships nor the minimal time of exposure required for a preclinical cardiovascular alteration. Our results point to repeated episodes of hypoglycemia being considered as a new potential risk factor. The exposure to risk factor levels throughout the life span in young people promotes the accumulation of subclinical atherosclerosis, which will be transformed into CVD events, but typically not until much later in life.

As mentioned previously, there are recent studies specifically designed to address the effects of acute hypoglycemia, confirming its proinflammatory and prothrombotic effects (11,12). For some of the inflammatory markers (leukocytes and sICAM-1), we detected significantly higher values at baseline in subjects with repeated hypoglycemia. In both group of subjects with type 1 diabetes, insulin-induced hypoglycemia elicited a heterogeneous nonsignificant rise in endothelial and inflammatory markers without any

difference in the response observed with respect to the presence or absence of frequent hypoglycemia. This lack of response to provoked hypoglycemia in comparison with previous studies could be related, at least in part, to limitations of the experimental conditions of our protocol. In fact, the study of acute effects of hypoglycemia was not considered the main objective of our study, and the protocol was not designed to accurately assess mechanistic roles. As examples, we included a shorter period of hypoglycemia (30 min) before extraction and we did not control for insulin levels and the potential effect on vascular function. Moreover, and in contrast with some previous studies, we did not exclude those subjects with hypoglycemia unawareness because this clinical condition was seen in patients fulfilling our inclusion criteria. Further research is required to fully understand the link between repeated episodes of hypoglycemia and a worse prognosis in terms of preclinical atherosclerosis in type 1 diabetes. However, the putative role for endothelial and inflammatory factors in the mediation of hypoglycemia-induced vascular damage has to be taken into consideration.

In summary, in addition to the induction of hypoglycemia unawareness and an increased risk for severe hypoglycemia, repeated episodes of hypoglycemia could be related to and considered an aggravating factor for the preclinical atherosclerosis profile of type 1 diabetes.

Acknowledgments—This work was supported in part by a grant (PI060250) from the “Ministerio de Sanidad y Consumo” of Spain. M.G. is the recipient of a grant from the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona (“Ajut a la recerca Josep Font 2006–2009”).

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

M.G. researched data, contributed to discussion, wrote the manuscript, and reviewed/edited the manuscript. R.G., J.M., and R.C. researched data and reviewed/edited the manuscript. A.A. and C.P. researched data. I.C. researched data, contributed to discussion, wrote the manuscript, and reviewed/edited the manuscript.

Parts of this study were presented in abstract form at the 46th annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Stockholm, Sweden, 20–24 September 2010.

We thank Mercè Lara of the Endocrinology and Diabetes Unit from Hospital Clínic i Universitari (Barcelona, Spain) for her technical support during the hypoglycemia test.

References

- Orchard TJ, Costacou T, Kretowski A, Nesto RW. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care* 2006;29:2528–2538
- 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;329:977–986
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, Raskin P, Zinman B, 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* 2005;353:2643–2653
- Bolli GB. Hypoglycaemia unawareness. *Diabetes Metab* 1997;23(Suppl. 3):29–35
- Gill GV, Woodward A, Casson IF, Weston PJ. Cardiac arrhythmia and nocturnal hypoglycaemia in type 1 diabetes—the ‘dead in bed’ syndrome revisited. *Diabetologia* 2009;52:42–45
- Kastelein JJ, de Groot E. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur Heart J* 2008;29:849–858
- Nathan DM, Lachin J, Cleary P, Orchard T, Brillon DJ, Backlund JY, O’Leary DH, Genuth S, Diabetes Control and Complications Trial, Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2003;348:2294–2303
- Shivalkar B, Dhondt D, Goovaerts I, Van Gaal L, Bartunek J, Van Crombrugge P, Vrints C. Flow mediated dilatation and cardiac function in type 1 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2006;97:77–82
- Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. The effect of glucose variability on the risk of microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:1486–1490
- Wentholt IM, Kulik W, Michels RP, Hoekstra JB, DeVries JH. Glucose fluctuations and activation of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2008;51:183–190
- Gogitidze Joy N, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals. *Diabetes Care* 2010;33:1529–1535
- Wright RJ, Newby DE, Stirling D, Ludlam CA, Macdonald IA, Frier BM. Effects of acute insulin-induced hypoglycemia on indices of inflammation: putative mechanism for aggravating vascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:1591–1597
- Rodrigues TC, Snell-Bergeon JK, Maahs DM, Kinney GL, Rewers M. Higher fibrinogen levels predict progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes. *Atherosclerosis* 2010;210:671–673
- Snell-Bergeon JK, West NA, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Marcovina SM, D’Agostino RB, Jr, Hamman RF, Dabelea D. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2868–2876
- Feldman-Billard S, Massin P, Meas T, Guillausseau PJ, Héron E. Hypoglycemia-induced blood pressure elevation in patients with diabetes. *Arch Intern Med* 2010;170:829–831
- Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Julian D, Schlundt D, Polonsky W. Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 1995;18:517–522
- Gold AE, MacLeod KM, Frier BM. Frequency of severe hypoglycemia in patients with type 1 diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care* 1994;17:697–703
- Ferrer JP, Esmatjes E, González-Clemente JM, Goday A, Conget I, Jiménez W, Gomis R, Rivera F, Vilardell E. Symptomatic and hormonal hypoglycaemic responses to human and porcine insulin in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 1992;9:522–527
- McAulay V, Deary IJ, Frier BM. Symptoms of hypoglycaemia in people with diabetes. *Diabet Med* 2001;18:690–705
- Järvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S, Lehtimäki T, Rönnemaa T, Viikari J, Raitakari OT. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation* 2004;109:1750–1755
- Gordin D, Forsblom C, Rönneback M, Parkkonen M, Wadén J, Hietala K, Groop PH. Acute hyperglycaemia induces an inflammatory response in young patients with type 1 diabetes. *Ann Med* 2008;40:627–633
- Gordin D, Forsblom C, Rönneback M, Groop PH. Acute hyperglycaemia disturbs cardiac repolarization in type 1 diabetes. *Diabet Med* 2008;25:101–105
- Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Mean blood glucose compared with HbA1c in the prediction of cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2008;51:365–371
- Gordin D, Rönneback M, Forsblom C, Mäkinen V, Saraheimo M, Groop PH. Glucose variability, blood pressure and arterial stiffness in type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:e4–e7
- Desouza C, Salazar H, Cheong B, Murgo J, Fonseca V. Association of hypoglycemia and cardiac ischemia: a study based on continuous monitoring. *Diabetes Care* 2003;26:1485–1489

OBJETIVO 5:

Evaluar si la utilización de sistemas de tipo ISCI mejora el perfil glucémico, incluyendo la disminución de hipoglucemias de repetición, la percepción de las mismas y los episodios de hipoglucemia grave en aquellos pacientes con DM1 con control lábil por hipoglucemias graves de repetición.

OBJETIVO 5

1. Justificación del objetivo

Como hemos descrito anteriormente, desde el estudio DCCT no existe ninguna duda de que el tratamiento intensivo con insulina es el estándar de tratamiento para los pacientes con DM1 puesto que se asocia con una reducción en la aparición/progresión de complicaciones asociadas a la DM. Sin embargo, esta modalidad de tratamiento se asocia a un incremento en la incidencia de hipoglucemia. Tal y como hemos comentado previamente, la hipoglucemia iatrogénica causa elevada morbilidad en los pacientes con DM1, convirtiéndose a menudo en un obstáculo para mantener la euglucemia a lo largo del tiempo y, por tanto, para conseguir los beneficios que ésta supone en cuanto a complicaciones asociadas a la DM. Además, existe una relación clara entre la hipoglucemia de repetición y la reducción de los síntomas asociados a hipoglucemia, de tal forma que la aparición de hipoglucemia desapercibida incrementa el riesgo de aparición de HG en estos pacientes. De la misma manera que la hipoglucemia de repetición se asocia a hipoglucemia desapercibida, una prevención meticulosa puede recuperar nuevamente los signos y síntomas ante las mismas. A menudo, estos sujetos son candidatos a iniciar tratamiento intensificado con sistemas de tipo ISCI para conseguir mejorar el grado de control metabólico y reducir los episodios de hipoglucemia. A día de hoy no existen trabajos que analicen el impacto del tratamiento con ISCI de forma específica en la frecuencia y percepción de los episodios de hipoglucemia.

En este contexto, dentro del **Objetivo 5** se planteó si la utilización de sistemas de tipo ISCI podría mejorar el perfil glucémico, incluyendo la disminución de hipoglucemias de repetición, la mejoría de la percepción de las mismas y la reducción de episodios de HG en aquellos pacientes con DM1 con control metabólico lábil por HG de repetición.

Publicación surgida de este objetivo (📖):

Sustained efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in T1D subjects with recurrent non-severe and severe hypoglycaemia and hypoglycaemia unawareness. A Pilot Study

Marga Giménez, Mercè Lara, Ignacio Conget

Diabetes Technol Ther. 2010; 12 (7):517-521

Otras publicaciones surgidas de este objetivo:

- **Differences in Quality of life outcomes in subjects with type 1 Diabetes with and without repeated hypoglycaemia. Short-term results of CSII treatment.**

Marga Giménez, Mercè Lara, Marga Jansà, Mercè Vidal, Isaac Levy, Ignacio Conget

Av Diabetol 2009; 25; 205-208.

Comunicaciones surgidas de este objetivo (9):

- *Differences in Quality-of-life outcomes in subjects with type 1 Diabetes with and without repeated hypoglycaemia. Short-term results of CSII treatment.*
Mercè Vidal, Marga Giménez, Mercè Lara, Marga Jansà, Isaac Levy, Ignacio Conget. 2nd Therapeutic Patient Education Congress 2008. Budapest, October 2008.
- *Improvement in hypoglycaemia unawareness and amelioration of glycaemic profile using CSII in T1D subjects with repeated severe hypoglycaemia.*
Marga Giménez, Gonzalo Díaz, Mercè Lara, Mercè Vidal, Marga Jansà, Isaac Levy, Ignacio Conget. 2nd International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes taking place in Athens, Greece, February 2009.
- *Milloria en la percepció d'hipoglicèmies i en el perfil glicèmic mitjançant ISCI en pacients amb diabetes tipus 1 i hipoglicèmies greus de repetició.*
Gonzalo Díaz, Marga Giménez, Mercè Lara, Mercè Vidal, Marga Jansà, Isaac Levy, Ignacio Conget. 10è Congrés de l'Associació Catalana de Diabetis. Barcelona, 26-27 de Març de 2009.
- *Qualitat de vida en persones amb Diabetes tipus 1 amb o sense hipoglicèmies de repetició com indicació per a iniciar teràpia amb infussor subcutani continu d'insulina.*
Marga Jansà, Marga Giménez, Mercè Vidal, Mercè Lara, Isaac Levy, Ignacio Conget. 10è Congrés de l'Associació Catalana de Diabetis. Barcelona, 26-27 de Març de 2009.
- *Diferencias en la calidad de vida de los pacientes con Diabetes tipo 1 con y sin hipoglicemias repetidas. Resultados a corto plazo de la terapia con infusión continua de insulina subcutánea.*
Mercè Vidal, Marga Giménez, Mercè Lara, Marga Jansà, Isaac Levy, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Tenerife, Abril de 2009.

- *Mejoría en la percepción de las hipoglicemias y en el perfil glicémico mediante ISCI en pacientes con Diabetes de tipo 1 e hipoglicemias desapercibidas.*
Gonzalo Díaz, Marga Giménez, Mercè Lara, Mercè Vidal, Marga Jansà, Isaac Levy, Ignacio Conget. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Tenerife, Abril de 2009.
- *Improvement in hypoglycaemia awareness and amelioration of glycaemic profile using CSII in T1D subjects with repeated severe hypoglycaemia.*
Ignacio Conget, Mercè Lara, Mireia Mora, Marga Giménez. 45th EASD Annual meeting 2009. Vienna, September 2009.
- *Improvement in hypoglycaemia awareness and in glycaemic variability after 2-yr using CSII in type 1 diabetes with repeated severe hypoglycaemia.*
Ignacio Conget, Mercè Lara, Marga Giménez. 3rd International Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes taking place in Basel, Switzerland. February 2010.
- *Eficacia sostenida de la infusión subcutánea continua de insulina en pacientes con diabetes de tipo 1 con hipoglucemias recurrentes graves/no graves e hipoglucemia desapercibida.*
Ignacio Conget, Mercè Lara, Marga Giménez. Congreso de la Sociedad Española de Diabetes. Barcelona, Abril de 2010.

2. Material y Métodos

Se realizó un estudio prospectivo que incluía pacientes con las siguientes características: (1) > 18 años de edad, (2) duración de la DM > 5 años, (3) en tratamiento intensificado convencional con MDI incluyendo análogos de insulina de acción rápida (lispro o aspart) como insulinas prandiales y glargina como insulina basal y (4) ausencia de complicaciones micro y macrovasculares asociadas a la DM. Los sujetos se caracterizaban, además, por presentar más de 4 episodios de HNG por semana (durante las 8 semanas previas) y un mínimo de dos episodios de HG en los últimos dos años. La ausencia de microalbuminuria se valoró mediante la medición de la tasa de excreción de albumina en orina de 24 h (últimas 3 muestras con medidas < 20 ug/min). La presencia de ECV se evaluó teniendo en cuenta los siguientes factores: no presentar historia de eventos cardiovasculares, no presentar alteraciones electrocardiográficas y presentar un índice tobillo-brazo (ITB) > 0,9. Se propuso a todos los pacientes el inicio de tratamiento con ISCI siguiendo las indicaciones y los criterios de reembolso del *Sistema Catalán de Salud*. Se comprobó que no existiera ninguna contraindicación para el inicio de la terapia ISCI en todos los sujetos, descartando para ello la inhabilidad para el autocontrol de la DM en un programa intensivo, la evidencia de mala adherencia al tratamiento o a las visitas con el equipo médico, y la evidencia de un trastorno psiquiátrico que contraindique esta terapia. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínic y Universitari (Barcelona, España) y se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes. El estudio se realizó de acuerdo a los estándares éticos dispuestos en la apropiada versión de la Declaración de Helsinki.

Durante el mes previo al inicio del tratamiento, se recogieron los datos de cada uno de los pacientes correspondientes a edad, género, IMC, función renal y HbA_{1c} (Menarini Diagnostici, Florencia, Italia) (rango de normalidad 3,5 - 5,5 %; donde 3,5 % = 20,2 mmol/mol de la International Federation of Clinical Chemistry = 4,0 % DCCT y 5,5 % = 42,1 mmol/mol International Federation of Clinical Chemistry = 6,0 % DCCT). Se contabilizaron el número de hipoglucemias de cada paciente. Se definieron los episodios de HG y de HNG siguiendo los criterios de la ADA. Los episodios de HG se definieron como aquellos con suficiente neuroglucopenia que requieren tratamiento por una tercera persona para resolver la situación. El cuestionario de Clarke se utilizó para valorar la percepción ante los episodios de hipoglucemia. Para describir el perfil glucémico continuo, cada paciente llevó durante 72 h un SMCG (sistema CGMS Gold, Medtronic Minimed, Northridge, CA, USA) en las dos semanas previas al inicio del

tratamiento con ISCI. La variabilidad glucémica se evaluó midiendo el MAGE según la técnica descrita por Service et al(62). El valor de MAGE en 24 h se describió como la media de las diferencias absolutas entre valores pico y nadir de glucosa que excedieran al menos el valor de 1 DE de la media de glucosa obtenida por SMCG.

Antes de iniciar el tratamiento con ISCI, todos los pacientes se sometieron a un test de hipoglucemia inducida según describimos en un estudio previo. Los pacientes respondieron al cuestionario de síntomas ante la hipoglucemia (Hypoglycemia Symptoms Score questionnaire) en primer lugar tras permanecer 30 min en euglucemia (80 - 120 mg/dl) y, en segundo lugar, tras permanecer 30 min en hipoglucemia (45 - 55 mg/dl). Se comparó la puntuación obtenida en el test en ambas situaciones y la variación entre ambos se expresó como porcentaje de cambio en la puntuación respecto a la obtenida en euglucemia. El mismo protocolo experimental se llevó a cabo en 20 sujetos con DM1 y similares características (edad, género, tiempo de evolución de la enfermedad, tratamiento y ausencia de complicaciones micro y macrovasculares asociadas a la DM) pero que se caracterizaban por presentar menos de 4 episodios de HNG/semana (las 8 semanas previas) y sin antecedentes de HG.

Se evaluó la percepción de calidad de vida mediante la utilización de dos cuestionarios específicos: el cuestionario DQoL en el que a mayor puntuación mayor deterioro en la percepción de calidad de vida y el cuestionario SF-12 que es un cuestionario de percepción de salud general.

Todos los sujetos de nuestro estudio se incluyeron en nuestro programa de educación específico para pacientes que inician tratamiento con ISCI. Recibieron un programa dietético adaptado a su edad e IMC, y se ajustaron las dosis de insulina con el objetivo de obtener valores de glucemia en ayunas y preprandiales entre 90 - 130 mg/dl, valores postprandiales inferiores a 180 mg/dl, así como valores al acostarse entre 100 y 180 mg/dl todo ello a partir de la información obtenida a partir de la realización de 4 - 6 medidas de glucemia capilar al día. Los objetivos de glucemia capilar y el número de determinaciones de la misma fueron similares a los que recomendamos a los pacientes en tratamiento con MDI. A los pacientes también se les recomendó evitar aquellos valores de glucemia capilar < 70 mg/dl. El mismo equipo médico visitó a los pacientes durante el programa educativo las veces requeridas y las establecidas por protocolo que habitualmente son cada 2 - 3 meses hasta los 24 meses de seguimiento. Se instruyó a los pacientes en los objetivos glucémicos propuestos y en la realización de controles de glucemia capilar cuando fuese necesario. Todos los

pacientes iniciaron tratamiento ISCI con sistemas pre programados que permitían definir diferentes tasas de LB. Tras 6, 12 y 24 meses de seguimiento, todos los pacientes fueron evaluados nuevamente para analizar el número de episodios de HNG/semana y el número de episodios de HG así como se reevaluó la percepción ante la hipoglucemia mediante el cuestionario de Clarke. Al finalizar el estudio se repitió la MCG durante 72 h y el test de hipoglucemia inducida para comparar los síntomas de hipoglucemia en una situación estándar. También se volvió a evaluar la percepción de calidad de vida mediante los cuestionarios DQoL y el SF-12.

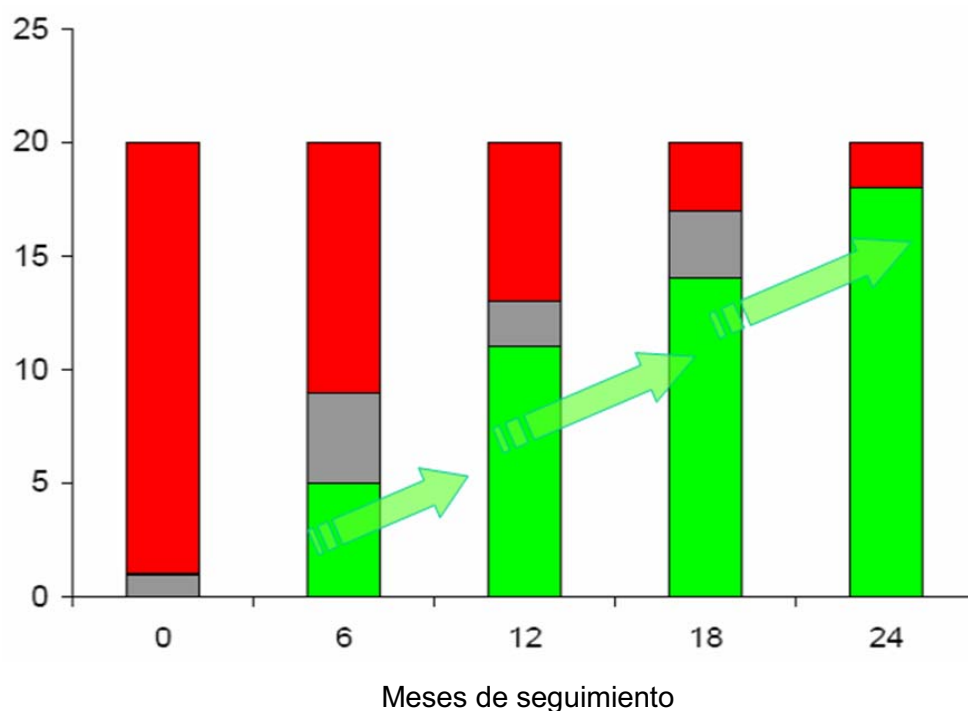
Los resultados se presentan como media \pm DE. Las comparaciones se realizaron mediante un test de Student o un análisis de la varianza para las variables repetidas. Las comparaciones entre proporciones se realizaron mediante un test de X^2 . Un valor de $p < 0,05$ se consideró como estadísticamente significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizaron mediante el Statistical Package for Social Science para Windows (versión 14.0, SPSS, Inc., Chicago, IL).

3. Resultados

Se adjunta en la siguiente página la figura con los resultados principales respecto a la evolución de la percepción ante la hipoglucemia medida como categorías en el Test de Clarke.

Figura 17. Número de sujetos en cada una de las categorías establecidas por el Test de Clarke a lo largo del seguimiento prospectivo del Objetivo 5.

Número de sujetos en cada categoría



Según la clasificación en el Test de Clarke, agrupamos a los pacientes en tres categorías en función de la puntuación obtenida en el cuestionario: en rojo, los sujetos clasificados como con hipoglucemia desapercibida (puntuación del test con $R > 3$, patológica), en gris los sujetos con percepción indeterminada (puntuación con $R = 3$) y, finalmente en verde los pacientes con percepción conservada ante las hipoglucemias según el Test de Clarke ($R < 3$, normal). Se observa cómo los pacientes van mejorando progresivamente la percepción a lo largo del seguimiento, De esta manera, a los 24 meses del inicio de la ISCI, sólo 3/20 sujetos presentaban hipoglucemia desapercibida.

Sustained Efficacy of Continuous Subcutaneous Insulin Infusion in Type 1 Diabetes Subjects with Recurrent Non-Severe and Severe Hypoglycemia and Hypoglycemia Unawareness: A Pilot Study

Marga Giménez, M.D., Mercè Lara, B.N., and Ignacio Conget, M.D., Ph.D.

Abstract

Background: This study evaluated the effect of CSII on hypoglycemia awareness and on glucose profile in type 1 diabetes (T1D) subjects with repeated non-severe or severe hypoglycemia (NS or SH, respectively).

Methods: We included subjects (1) older than 18 years, (2) with T1D duration of >5 years, (3) on multiple doses of insulin, and (4) without micro- or macrovascular complications and more than four NS events per week (in the last 8 weeks) and more than two SH events (in the last 2 years). NS/SH episodes and hypoglycemia awareness were evaluated. A 72-h continuous glucose monitoring (CGM) was performed before continuous subcutaneous insulin infusion (CSII). A hypoglycemia-induced test was used to evaluate each patient's symptoms in euglycemia/hypoglycemia. Quality of life (QoL) was also evaluated. After 6, 12, and 24 months, all the subjects were reevaluated.

Results: Twenty subjects were included (34.0 ± 7.5 years old, 12 women, A1c $6.7 \pm 1.1\%$, 16.2 ± 6.6 years of diabetes' duration). At baseline, 19 out of 20 subjects displayed hypoglycemia unawareness, which diminished significantly during the follow-up (3 out of 20). NH episodes per week diminished from 5.40 ± 2.09 at baseline to 2.75 ± 1.74 at the end of the follow-up ($P < 0.001$). SH episodes fell from 1.25 ± 0.44 per subject-year to 0.05 ± 0.22 after 24 months ($P < 0.001$). Hemoglobin A1c remained unaltered. With CGM, the percentage of values within 70–180 mg/dL increased ($53.2 \pm 11.0\%$ to $60.3 \pm 17.1\%$, $P = 0.13$), and the percentage of values <70 mg/dL decreased ($13.7 \pm 9.4\%$ to $9.1 \pm 5.2\%$, $P = 0.07$), after 24 months. Mean amplitude of glycemic excursions diminished after 24 months of CSII (136 ± 28 mg/dL to 115 ± 19 mg/dL; $P < 0.02$). An improvement in all the aspects of QoL was observed. The basal alteration in symptom response to an induced hypoglycemia improved after 24 months of initiating CSII leading to a response indistinguishable from that observed in a control group of subjects with T1D without repeated NH and SH.

Conclusions: CSII prevents hypoglycemic episodes, improves hypoglycemia awareness, and ameliorates glycemic profile in T1D subjects with repeated NS/SH. Its use is also associated with an improvement in diabetes QoL.

Introduction

INTENSIVE INSULIN THERAPY significantly reduces the risk of complications in subjects with type 1 diabetes (T1D) and represents the standard treatment from the onset of the disease.¹ However, this therapy is unfailingly associated with a higher risk of non-severe and severe hypoglycemia (NS and SH, respectively) episodes.² Iatrogenic hypoglycemia causes recurrent morbidity in most people with T1D. Likewise, it is an obstacle to the maintenance of euglycemia over a lifetime

using intensive insulin therapy and thus precludes euglycemia's long-term benefits.^{3,4}

Frequent and repeated episodes of hypoglycemia in subjects with T1D almost invariably result in a reduced ability/failure to recognize hypoglycemia symptoms and signs at the physiological normal threshold (~55 mg/dL). This syndrome of hypoglycemia unawareness frequently occurs in T1D, and the lack of warning symptoms puts patients at a high risk for SH because they are unable to take measures to prevent it.⁵

In the same way a history of hypoglycemia induces unawareness, meticulous prevention of it can reverse hypoglycemia unawareness. Thus, it is essential that intensive insulin therapy for T1D is designed not only to maintain near-normoglycemia, but also to prevent and minimize the burden of hypoglycemia.⁶⁻⁹ Although such a goal is feasible, and even including a proper blood glucose monitoring, the use of individualized blood glucose targets, and the implementation of specific education programs, there is no consensus on which is the best rational plan of insulin therapy.¹⁰⁻¹² A very recent meta-analysis including recent randomized clinical trials found that the use of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) is not associated with a significant difference in hypoglycemia risk.¹³

In this context, the use of continuous glucose monitoring (CGM) systems and the evaluation of hypoglycemia awareness could help us to identify these subjects and to decide on a safe approach to optimize the metabolic control for them.¹⁴

The aim of our study was to evaluate the effect of CSII on the frequency of hypoglycemia, hypoglycemia unawareness, and continuous glucose profile characteristics in a group of T1D subjects with repeated NS and SH.

Patients and Methods

We conducted a prospective study including patients consecutively with the following criteria: (1) >18 years old, (2) T1D duration >5 years, (3) on conventional insulin treatment using multiple doses of insulin (MDI) including rapid-acting analogs (lispro or aspart) as prandial insulins and glargine as basal insulin, and (4) with an absence of micro- or macrovascular complications and presenting more than four NS events per week (in the last 8 weeks) and more than two SH events (in the last 2 years). Absence of microalbuminuria was assured by measuring the 24-h urinary albumin excretion rate (last three samples <20 $\mu\text{g}/\text{min}$). The presence of cardiovascular disease was ruled out considering the following: no history of cardiovascular disease events, no electrocardiogram alterations, normal stress echocardiography, and an ankle-brachial index >0.9. The initiation of CSII treatment was proposed to all subjects following the indications and criteria of reimbursement from the Catalan National Health Service authorities. Contraindications for CSII were ruled out in all subjects, mainly including inability to perform self-management of an intensive insulin therapy program, evidence of poor treatment compliance and failure to attend outpatient clinics, and evidence of a disabling psychiatric disorder.¹⁵ The study was approved by the Hospital Clínic i Universitari (Barcelona, Spain) Ethics Committee, and informed consent was obtained from all the patients. The study has been performed in accordance with the ethical standards laid out in an appropriate version of the Declaration of Helsinki.

Within 1 month before initiation of CSII, data on age, gender, duration of the disease, body mass index, renal function, and hemoglobin A1c (HbA_{1c}) (Menarini Diagnostici, Florence, Italy) (normal range, 3.5–5.5%; where 3.5% = 20.2 mmol/mol International Federation of Clinical Chemistry = 4.0% Diabetes Control and Complications Trial and 5.5% = 42.1 mmol/mol International Federation of Clinical Chemistry = 6.0% Diabetes Control and Complications Trial) were recorded. Patients were questioned regarding the

number of hypoglycemic episodes they presented. NS and SH were defined following the American Diabetes Association criteria.¹⁶ SH events were defined as those associated with neuroglycopenia severe enough to require treatment from a third party. The questionnaire of Clarke et al.¹⁷ was used to evaluate hypoglycemia awareness. CGM for 72 h using the CGMS[®] System Gold[™] from Medtronic Minimed (Northridge, CA, USA) was recorded within 2 weeks before initiation of CSII in order to describe the glucose profile. Glucose variability was evaluated calculating mean amplitude of glucose excursions (MAGE) designed by Service et al.¹⁸ from continuous sensor readings. MAGE over 24 h is the mean of the absolute differences between glucose peak and nadir values in excess of at least 1 SD of the mean glucose.

Before initiation of CSII a hypoglycemia-induced test was performed as described previously.¹⁹ Patients answered the Hypoglycemia Symptoms Score Questionnaire first after 30 min of euglycemia (80–120 mg/dL) and then after 30 min of being in hypoglycemia (45–55 mg/dL).²⁰ The test scores between the two states were compared, and the variation was expressed in a percentage. The same experimental protocol was performed in a control group of 20 subjects with T1D and similar characteristics (age, gender, disease duration, treatment, and absence of micro- or macrovascular complications) but with fewer than four NS events per week (in the last 8 weeks) and no SH episodes in order to compare the response to hypoglycemia.

Quality of life (QoL) assessment was performed using two different questionnaires: the Diabetes Quality-of-Life (DQoL) questionnaire, in which higher scores relate to deterioration in QoL, and the SF-12 health survey questionnaire.

All the subjects included in our study received our specific therapeutic education program for patients beginning CSII. They received a diet adjusted to their age and body mass index, and insulin doses were adjusted to maintain fasting and preprandial glucose levels between 90 and 130 mg/dL, postprandial below 180 mg/dL, and at bedtime between 100 and 180 mg/dL, based on four to six daily capillary blood determinations. Glucose targets and capillary glucose determinations were comparable to those used with MDI. Patients were encouraged to avoid values <70 mg/dL. The same team saw patients as required during the therapeutic education program and every 2–3 months thereafter until 24 months of follow-up. Patients were instructed on glucose goals and self-monitoring glucose control when necessary. All patients were using pumps with preprogrammable variable basal rates. After 6, 12, and 24 months of follow-up, all the subjects were evaluated for the number of hypoglycemic episodes (NS and SH) and with the questionnaire of Clarke et al.¹⁷ At the end of the study, results obtained after 72 h of CGM, the Hypoglycemia Symptoms Score questionnaire during the hypoglycemia-induced test, and results of the DQoL and SF-12 questionnaires were again obtained.

Results are presented as mean \pm SD values. Comparisons were performed using a paired Student's *t* test or an analysis of variance for repeated measurements. Comparisons between proportions were made with a χ^2 test. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. All statistical calculations were performed by the Statistical Package for Social Science (version 14.0) for personal computers (SPSS, Inc., Chicago, IL).

TABLE 1. BASELINE CHARACTERISTICS OF THE STUDY GROUP

Characteristic	Value
Number of subjects	20
Age (year)	34.0 ± 7.5
Gender (M/W)	8/12
Duration of diabetes (years)	16.2 ± 6.6
BMI (kg/m ²)	24.3 ± 3.1
On MDI treatment (%)	100
HbA _{1c} (%)	6.7 ± 1.1
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.1
UAE (μg/24 h)	6.5 ± 2.5

Data are mean ± SD values. BMI, body mass index; HbA_{1c}, hemoglobin A_{1c}; MDI, multiple daily injections; M/W, men/women; UAE, urinary albumin excretion.

Results

A total of 20 subjects with NS and SH were included in the study, and their clinical and metabolic characteristics at baseline are shown in Table 1.

At the time of the inclusion in the study, 19 subjects (one was non-classified) were shown to have hypoglycemia unawareness according to the Clarke test (score: ≥4 = unawareness, 3 = non-classified, ≤2 = awareness), scoring on average 5.45 ± 1.19. Progressively, we observed a decrease in the Clarke test score: 3.70 ± 1.65, 2.74 ± 1.06, and 1.6 ± 2.03 after 6, 12, and 24 months of follow-up, indicating an improvement in the hypoglycemia unawareness towards normal awareness ($P < 0.001$ for baseline vs. 24 months). At the end of the follow-up, only three of the 20 subjects were classified as having hypoglycemia unawareness. In absolute terms, the evolution of hypoglycemia awareness categories is shown in Figure 1.

The mean number of episodes of NH per week progressively diminished from 5.40 ± 2.09 at baseline to 4.60 ± 2.33, 3.07 ± 1.39, and 2.75 ± 1.74 after 6, 12, and 24 months, respectively ($P < 0.001$ for baseline vs. 24 months). When the number of SH episodes were analyzed, they fell from

1.25 ± 0.44 per subject year at baseline to 0.05 ± 0.22 at the end of the follow-up ($P < 0.001$). Additionally, HbA_{1c} remained unaltered during the follow-up: 6.6 ± 1.0%, 6.7 ± 0.9%, 6.7 ± 0.8%, and 6.3 ± 0.9% for baseline, 6, 12 and 24 months, respectively.

Considering data obtained from the CGMS, after the 24-month follow-up, the percentage of values within target levels (70–180 mg/dL) increased (53.2 ± 11.0% to 60.3 ± 17.1%, $P = 0.13$), and the percentage of values below 70 mg/dL decreased (13.7 ± 9.4% to 9.1 ± 5.2%, $P = 0.07$); however, these tendencies did not reach statistical significance. MAGE diminished after 24 months of CSII from 136 ± 28 to 115 ± 19 mg/dL at 24 months of follow-up ($P < 0.02$).

At baseline, subjects with NS and SH scored 31.6 ± 16.4 on the Hypoglycemia Symptoms Score Questionnaire during hypoglycemia, representing a rise of 52% in comparison to euglycemia (21.0 ± 3.15). At 24 months after initiating CSII, the score was 62.3 ± 23.6 ($P < 0.001$, in comparison to baseline), an increase of 196% ($P < 0.001$, in comparison to baseline) with respect to euglycemia (21.05 ± 3.15). These results were compared with those obtained in the control group (33.5 ± 8.7 years old; 12 women; 14.0 ± 6.5 years of duration of the disease; all of them on MDI; HbA_{1c} = 6.7 ± 0.7%; difference not significant) under the same conditions of glycemia levels in the euglycemia and hypoglycemia periods. The score on the Hypoglycemia Symptoms Score questionnaire was 54.56 ± 18.4 during hypoglycemia, representing a rise of 163% in comparison to euglycemia (20.5 ± 1.9). This response was not different from that observed in T1D subjects with NS and SH after 24 months of treatment with CSII.

Regarding QoL outcomes, a significant improvement in all the aspects evaluated by DQoL test was observed. This was also the case for the results obtained by the SF-12 health survey questionnaire (Table 2).

Discussion

Our study shows that the use of CSII in T1D subjects with a history of recurrent hypoglycemia and SH leads to a persistent

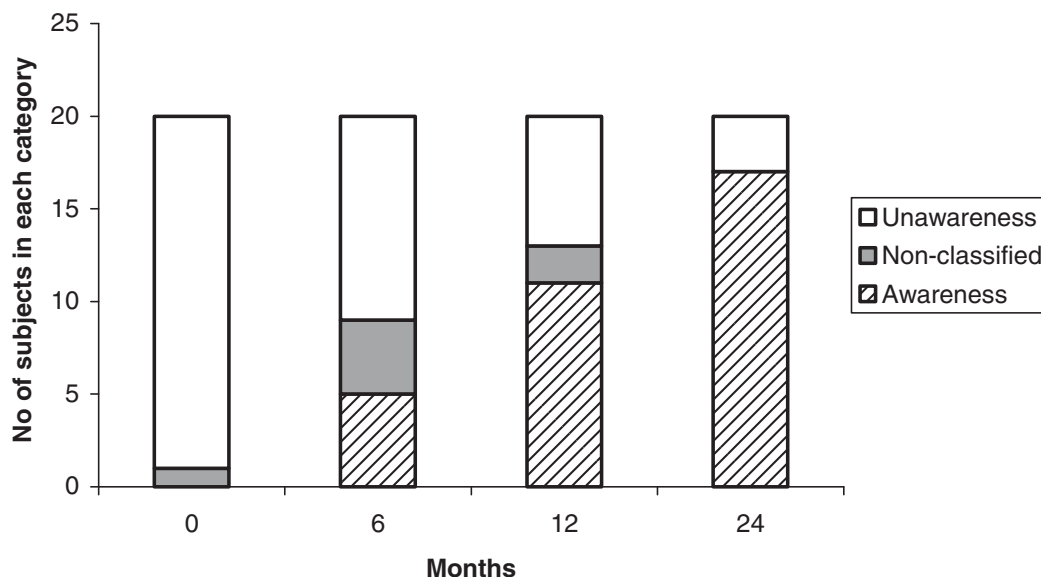


FIG. 1. Number of subjects in each category of the Clarke test during the follow-up.

TABLE 2. QUALITY OF LIFE OUTCOMES AFTER 24 MONTHS OF USING CONTINUOUS SUBCUTANEOUS INSULIN INFUSION: SCORES AT BASELINE AND AFTER 24 MONTHS OF FOLLOW-UP

	Baseline	24 months	P
DQoL questionnaire			
Satisfaction	36.0 ± 6.4	28.8 ± 5.5	<0.001
Impact of treatment	33.6 ± 7.5	27.4 ± 6.0	<0.002
Social/vocational worrying	13.3 ± 4.1	11.5 ± 3.8	<0.05
Diabetes-related issues worrying	10.1 ± 2.6	8.0 ± 1.9	<0.01
SF-12 health survey questionnaire	34.1 ± 3.9	37.0 ± 2.9	<0.01

DQoL, Diabetes Quality of Life.

diminution in number of hypoglycemic episodes, as well as to a sustained improvement in hypoglycemia awareness, even though there were no change in HbA_{1c} and the percentage of glycemic values within target levels and below 70 mg/dL remained without significant change.

Hypoglycemia in T1D is the consequence of the non-physiological replacement of insulin even when using the theoretically physiological basal-bolus approach. Since the Diabetes Control and Complications Trial results, there is no doubt that intensive insulin therapy effectively delays the onset and slows the progression of diabetic retinopathy, nephropathy, and neuropathy in patients with T1D.^{1,2} However, the price to pay is an increase in NH and SH episodes (two- to threefold). Mild hypoglycemia, if recurrent, induces unawareness of hypoglycemia, which impairs glucose counter-regulation and predisposes to SH. A very recent survey of a large hospital-based population confirmed that there is still a significant proportion of people with T1D (around 20%) who suffer from hypoglycemia unawareness.²¹ Thus, despite modern patient education and improvements in the strengthening of insulin therapy, hypoglycemia and hypoglycemia unawareness are still far from solved in T1D.

In patients with repeated hypoglycemia and hypoglycemia unawareness, the meticulous prevention of hypoglycemic episodes can reverse the physiological abnormalities associated with this condition.²²⁻²⁴ In order to create more successful clinical management of T1D, the implementation of a more physiological pattern of insulin replacement therapy, including the use of real-time CGM, as has been demonstrated in some long-term studies, is necessary.²⁵⁻³⁰ However, there is no consensus on which, if any, should be the preferable, suitable, and efficient approach.

In our study, probably by effectively diminishing the number of hypoglycemic episodes, the use of CSII was associated with a shift from abnormal perception of hypoglycemia to a normal awareness. This is true, not only in experimental conditions of a controlled-induced hypoglycemia but also in clinical assessment using specific tools. It should be underlined that these results were obtained without a deterioration of glycemic control in terms of HbA_{1c}. Furthermore, the results provided from CGM are in agreement with these findings showing a tendency to a diminishing of values of glycemia <70 mg/dL, an increase in the percentage of values within target levels, and a significant improvement in the variability in glucose profile. In addition to this, it should be noted that all these beneficial effects of CSII come not with a

detrimental effect but with an improvement in all aspects of quality of life.

Fatourechhi et al.¹³ in a very recent systematic review and meta-analysis commissioned by the Hypoglycemia Task Force of The Endocrine Society examined the best available evidence about the use of CSII and MDI as intensive insulin replacement therapies and the risk of hypoglycemia. Including 15 recent randomized control trials the authors concluded that CSII was associated with a slightly lower HbA_{1c} without a significant difference in terms of hypoglycemia. Nevertheless, the investigators recognized that these results came from patients at a low risk of hypoglycemia and that therefore they cannot be fully extrapolated in patients with recurrent SH or hypoglycemia unawareness.

In absolute terms, and acknowledging the differences between both studies, the magnitude of restoration of hypoglycemia awareness achieved in our study using CSII is quite similar to that observed by Leitão et al.³¹ using islet transplantation. However, it does not seem clear to us if the improvement observed in hypoglycemia awareness in that study is really due to a diminishing of number of hypoglycemic episodes as data on that subject are not described in their article.

We are well aware of the limitations of our study. Mainly, there is no control group, and it includes a relatively small number of high-risk subjects for hypoglycemia in whom the beneficial effect of CSII option could be exacerbated. However, prior to the initiation of CSII, all of our patients had been included in our specific diabetes education program for patients receiving conventional intensive insulin treatment and poor metabolic control with no benefit with regard to hypoglycemia. Considering the very disabling and labile profile of our patients and in light of the indications and criteria from the Catalan National Health Service authorities and guidelines, we did not consider maintaining MDI therapy to any further extent. In this topic, very recently the new guidance from the National Institute for Health and Clinical Excellence on CSII for the treatment of diabetes mellitus recommended this type of therapy as a treatment option in T1D subjects who attempt to achieve target HbA_{1c} values with intensive insulin therapy but experience repeated and unpredictable occurrences of hypoglycemia (www.nice.org/uk/TA57).

In summary, CSII may persistently prevent hypoglycemic episodes, improve hypoglycemia awareness, and ameliorate the glycemic profile in T1D subjects with repeated SH. Moreover, its use is associated with an improvement in diabetes QoL aspects.

Acknowledgments

We are indebted to all of those involved at any time in the specific therapeutic education program for patients beginning CSII at the Endocrinology and Diabetes Unit of the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona (colloquially called "Programa Bombas"). M.G. is the recipient of a grant from the Hospital Clínic i Universitari of Barcelona. This work was supported in part by a grant (PI060250) from the "Ministerio de Sanidad y Consumo" of Spain. Medtronic Ibérica sponsored this work, in part.

Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

References

- Nathan DM: Management of diabetes mellitus after the DCCT—what's next? *West J Med* 1995;162:469–470.
- Epidemiology of severe hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. The DCCT Research Group. *Am J Med* 1991;90:450–459.
- Cryer PE: Hypoglycaemia: the limiting factor in the glycaemic management of Type I and Type II diabetes. *Diabetologia* 2002;45:937–948.
- Cryer PE, Davis SN, Shamon H: Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:1902–1912.
- Bolli GB: Hypoglycaemia unawareness. *Diabetes Metab* 1997;23(Suppl 3):29–35.
- Bolli GB: Treatment and prevention of hypoglycemia and its unawareness in type 1 diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord* 2003;4:335–341.
- Cryer PE: Hypoglycemia risk reduction in type 1 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109(Suppl 2):S412–S423.
- Fritsche A, Stumvoll M, Haring HU, Gerich JE: Reversal of hypoglycemia unawareness in a long-term type 1 diabetic patient by improvement of beta-adrenergic sensitivity after prevention of hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:523–525.
- Linkeschova R, Raoul M, Bott U, Berger M, Spraul M: Less severe hypoglycaemia, better metabolic control, and improved quality of life in Type 1 diabetes mellitus with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy; an observational study of 100 consecutive patients followed for a mean of 2 years. *Diabet Med* 2002;19:746–751.
- Bolli GB, Pampanelli S, Porcellati F, Fanelli CG: Recovery and prevention of hypoglycaemia unawareness in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Nutr Metab* 2002;15:402–409.
- Cox DJ, Kovatchev B, Koev D, Koeva L, Dachev S, Tcharaktchiev D, Protopopova A, Gonder-Frederick L, Clarke W: Hypoglycemia anticipation, awareness and treatment training (HAATT) reduces occurrence of severe hypoglycemia among adults with type 1 diabetes mellitus. *Int J Behav Med* 2004;11:212–218.
- Cox DJ, Gonder-Frederick L, Polonsky W, Schlundt D, Kovatchev B, Clarke W: Blood glucose awareness training (BGAT-2): long-term benefits. *Diabetes Care* 2001;24:637–642.
- Fatourechi MM, Kudva YC, Murad MH, Elamin MB, Tabini CC, Montori VM: Clinical review: Hypoglycemia with intensive insulin therapy: a systematic review and meta-analyses of randomized trials of continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:729–740.
- Streja D: Can continuous glucose monitoring provide objective documentation of hypoglycemia unawareness? *Endocr Pract* 2005;11:83–90.
- Gimenez M, Conget I, Jansa M, Vidal M, Chiganer G, Levy I: Efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion in Type 1 diabetes: a 2-year perspective using the established criteria for funding from a National Health Service. *Diabet Med* 2007;24:1419–1423.
- Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes Care* 2005;28:1245–1249.
- Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Julian D, Schlundt D, Polonsky W: Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 1995;18:517–522.
- Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW, Ackerman E, Gatewood LC, Taylor WF: Mean amplitude of glycaemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes* 1970;19:644–655.
- Ferrer JP, Esmatjes E, Gonzalez-Clemente JM, Goday A, Conget I, Jimenez W, et al.: Symptomatic and hormonal hypoglycaemic responses to human and porcine insulin in patients with type I diabetes mellitus. *Diabet Med* 1992;9:522–527.
- McAulay V, Deary IJ, Frier BM: Symptoms of hypoglycaemia in people with diabetes. *Diabet Med* 2001;18:690–705.
- Geddes J, Schopman JE, Zammitt NN, Frier BM: Prevalence of impaired awareness of hypoglycaemia in adults with Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2008;25:501–504.
- Fanelli CG, Porcellati F, Pampanelli S, Bolli GB: Insulin therapy and hypoglycaemia: the size of the problem. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20(Suppl 2):S32–S42.
- Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F, Lepore M, Annibale B, Ciofetta M, Bottini P: Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycaemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes* 1993;42:1683–1689.
- Hermanns N, Kulzer B, Kubiak T, Krichbaum M, Haak T: The effect of an education programme (HyPOS) to treat hypoglycaemia problems in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2007;23:528–538.
- Pampanelli S, Fanelli C, Lalli C, Ciofetta M, Sindaco PD, Lepore M, Modarelli F, Rambotti AM, Epifano L, Di Vincenzo A, Bartocci L, Annibale B, Brunetti P, Bolli GB: Long-term intensive insulin therapy in IDDM: effects on HbA1c, risk for severe and mild hypoglycaemia, status of counterregulation and awareness of hypoglycaemia. *Diabetologia* 1996;39:677–686.
- Bott S, Bott U, Berger M, Muhlhäuser I: Intensified insulin therapy and the risk of severe hypoglycaemia. *Diabetologia* 1997;40:926–932.
- Schiaffini R, Ciampalini P, Fierabracci A, Spera S, Borrelli P, Bottazzo GF, Crinò A: The Continuous Glucose Monitoring System (CGMS) in type 1 diabetic children is the way to reduce hypoglycemic risk. *Diabetes Metab Res Rev* 2002;18:324–329.
- Amiel S: Reversal of unawareness of hypoglycemia. *N Engl J Med* 1993;329:876–877.
- Pickup JC, Sutton AJ: Severe hypoglycaemia and glycaemic control in Type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabet Med* 2008;25:765–774.
- Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group, Tamborlane WV, Beck RW, Bode BW, Buckingham B, Chase HP, Clemons R, Fiallo-Scharer R, Fox LA, Gilliam LK, Hirsch IB, Huang ES, Kollman C, Kowalski AJ, Laffel L, Lawrence JM, Lee J, Mauras N, O'Grady M, Ruedy KJ, Tansey M, Tsalikian E, Weinzimer S, Wilson DM, Wolpert H, Wysocki T, Xing D: Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:1464–1476.
- Leitão CB, Tharavanij T, Cure P, Pileggi A, Baidal DA, Ricordi C, Alejandro R: Restoration of hypoglycemia awareness after islet transplantation. *Diabetes Care* 2008;31:2113–2115.

Address correspondence to:

Ignacio Conget, M.D., Ph.D.

Endocrinology and Diabetes Unit

Institute of Biomedical Investigations August Pi i Sunyer

Villarroya 170

08036 Barcelona, Spain

E-mail: iconget@clinic.ub.es

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Desde la introducción de esta tesis hemos descrito que el tratamiento estándar desde el debut de la DM1 es el tratamiento intensificado con insulina. Tradicionalmente este tratamiento se realiza mediante MDI, sin embargo, existe un subgrupo de pacientes en los que no es posible conseguir los objetivos de control metabólico deseados bajo este tipo de terapia.

Eficacia y seguridad de los sistemas ISCI en el tratamiento de los pacientes con DM1.

Nuestro primer trabajo confirma la eficacia y seguridad a largo plazo del tratamiento con sistemas de tipo ISCI en pacientes con DM1 que presentan alguna de las indicaciones para sufragar el tratamiento en nuestro sistema público de salud. En él se confirman los datos reportados por otros grupos donde se asocia esta terapia con una reducción en el valor de HbA_{1c}, una reducción en el número de episodios de HG e HNG así como una mejoría en la percepción de calidad de vida de los pacientes(59)(63)(64)(65)(66)(67).

Aunque nuestro primer trabajo es observacional, desde nuestro punto de vista incluye una de las mayores cohortes de pacientes con DM1 en tratamiento con ISCI seguidos de forma prospectiva durante dos años completos de tratamiento. La máxima reducción en el valor de HbA_{1c} la observamos a los 6 meses de tratamiento, coincidiendo con la finalización del PET específico para este grupo de pacientes. Este hecho remarca la importancia de la educación terapéutica específica para esta terapia así como la dificultad en mantener un control óptimo en la DM1. Sin embargo, en nuestro estudio la mejoría del control persiste a los 2 años de tratamiento. El valor de HbA_{1c} pasó de $7,9 \pm 1,3$ % en el momento previo al inicio de ISCI a $7,3 \pm 1,1$ % a los dos años de tratamiento. Se redujo, asimismo, el número de episodios de HG ($0,31 \pm 0,46$ a $0,07 \pm 0,25$ HG por sujeto/año) así como también el número de episodios de HNG (reducción de los pacientes que presentaban > 5 HNG/semana de 67 a 8). Finalmente, la percepción de la calidad de vida evaluada por diferentes cuestionarios específicos mejoró también de forma significativa.

Nuestra tesis se centra en aquellos pacientes con mal control metabólico asociado a la aparición de HG de repetición. De éste modo en nuestro primer trabajo nos propusimos analizar también si los efectos beneficiosos observados en la cohorte

global se mantenían cuando seleccionábamos al subgrupo de pacientes en los que la indicación de ISCI se centraba en la presencia de hipoglucemias de repetición. Al analizar los resultados dividiendo a los pacientes en función del valor de HbA_{1c} de partida (< 7 ó > 7 %) o bien seleccionando al subgrupo de sujetos en los que la indicación principal para la terapia era la presencia de HG de repetición, pudimos observar que se mantenían los beneficios del tratamiento con ISCI de forma independiente. Aun así, no existía hasta aquel momento ningún trabajo específico que analizara el efecto de la ISCI sobre la frecuencia y la percepción ante los episodios de hipoglucemia.

Mal control metabólico por hipoglucemias de repetición en pacientes con DM1. Detección y caracterización de este tipo de pacientes.

Posteriormente, en nuestro segundo objetivo, analizamos las características que mejor definen a los pacientes con DM1 con hipoglucemias de repetición. Diversos artículos han demostrado previamente que la hipoglucemia desapercibida predispone a presentar con mayor frecuencia episodios de HG(29). Además, un trabajo publicado recientemente demuestra que aproximadamente un 20 % de los pacientes con DM1 presentan hipoglucemia desapercibida(68), lo que sugiere que a pesar de los múltiples avances tecnológicos y en insulino terapia, así como en programas específicos en educación diabetológica, la hipoglucemia y la hipoglucemia desapercibida siguen siendo un problema no resuelto en nuestros pacientes con DM1. Esta situación, como hemos comentado previamente, puede condicionar que el paciente no pueda alcanzar mediante tratamiento intensivo con insulina los valores deseados de HbA_{1c} y, por tanto, no pueda beneficiarse de sus efectos a largo plazo en la prevención y evolución de las complicaciones crónicas micro y macrovasculares.

Si bien es cierto que diversos estudios han demostrado que la repetición de episodios de hipoglucemia puede provocar alteraciones en la percepción y en los síntomas ante las mismas inclusive en sujetos sanos(69)(70), también es cierto que de todos nuestros pacientes con DM1 la hipoglucemia desapercibida clínicamente relevante afecta únicamente al 25 % de los casos(71). Si tenemos en cuenta que la mayoría de los pacientes con DM1 experimenta episodios de hipoglucemia con mayor o menor frecuencia a lo largo de su vida, esta frecuencia sugiere la existencia de otros factores que determinen una susceptibilidad individual a desarrollar hipoglucemia desapercibida.

Los factores genéticos se han implicado en el riesgo de hipoglucemia e hipoglucemia desapercibida en pacientes con DM1 en diversos trabajos(72). En el 2001 se sugirió que diversas variantes genéticas y la actividad del enzima de conversión de la angiotensina pudieran asociarse a la aparición de HG en la DM1(73). Posteriormente, se ha descrito un SNP (*single nucleotide polymorphism*) en el gen del receptor β 2-adrenérgico (ADRB2) que determina, en parte, la predisposición a presentar episodios de hipoglucemia desapercibida. Los pacientes con glicina-glicina en el codón 16 del ADRB2 presentan con mayor frecuencia hipoglucemia desapercibida que los sujetos que presentan arginina-glicina o bien arginina-arginina(74)(75).

Se requieren todavía de más trabajos que confirmen alguna de estas asociaciones, si bien es cierto que la situación ideal sería disponer de una herramienta que permitiera a los profesionales anticipar el riesgo de presentar hipoglucemia desapercibida cuando se intenta optimizar el control en nuestros pacientes con DM1. Se podría evaluar este marcador al debut de la DM1 y con ello orientar el seguimiento individual de cada uno de nuestros pacientes. La predisposición a presentar HG o hipoglucemia desapercibida condicionaría los objetivos de control y la evaluación durante el seguimiento de los pacientes, poniendo especial énfasis en valorar la frecuencia de hipoglucemias y la percepción ante las mismas. Podrían ser candidatos a tratamientos alternativos antes de caer en el círculo vicioso de hipoglucemia de repetición e HG. Por otra parte, en aquellos individuos con genes protectores o bien con ausencia de los genes que predisponen a hipoglucemia de repetición, el tratamiento podría consistir en unos objetivos de control más estrictos desde el inicio de la enfermedad. En cualquier caso, hoy en día no disponemos de un marcador ideal que nos oriente para poder clasificar a los pacientes que atendemos en nuestras consultas, así que la opción más fácil de la que disponemos es la de buscar herramientas clínicas que nos permitan detectar precozmente a los pacientes con hipoglucemia desapercibida.

Para ello, en nuestro segundo objetivo, analizamos la percepción ante las hipoglucemias utilizando dos cuestionarios específicos(33)(29) y comparamos los resultados con el “*gold estándar*” definido como la consecución de síntomas que desencadena un episodio de hipoglucemia inducida de manera controlada. Cuando el test de Clarke se comparó con el porcentaje de incremento en la puntuación de síntomas (escala de Edimburgo) entre la hipoglucemia y la euglucemia(76), se observó una sensibilidad del 100 % con una especificidad del 25 % del cuestionario con respecto al método de referencia. Con estos resultados, consideramos que el Test de Clarke podría utilizarse para identificar de forma precoz a los sujetos con DM1 con

hipoglucemia desapercibida. Sin embargo, la baja especificidad nos indica que el cuestionario puede sobreestimar la frecuencia de hipoglucemia desapercibida respecto a la que obtenemos con el método de referencia. Si tenemos en cuenta que a la puntuación del cuestionario podemos añadir la evaluación de la frecuencia de HG e HNG para mejorar la sensibilidad y que, además, sabemos que los sujetos mal clasificados pueden a posteriori reclasificarse con una percepción normal durante el seguimiento clínico convencional, no cabe duda de que debemos usar ambas herramientas para tratar de identificar a este grupo de pacientes de forma precoz.

Existen diversos trabajos que demuestran, como era obvio, que el uso de sistemas de MCG detecta un mayor número de episodios de hipoglucemia(77). De hecho, la utilización de este tipo de sistemas ha puesto de manifiesto en diversos trabajos la existencia de diferencias substanciales en el perfil glucémico ambulatorio de distintos perfiles de pacientes con DM(78). En un trabajo posterior, estudiamos y describimos las diferencias esenciales en el perfil glucémico ambulatorio estudiado “a ciegas” de pacientes con y sin episodios repetidos de hipoglucemia (ver Objetivo 2, página 49). Respecto al grupo de pacientes que no presentaban antecedentes de hipoglucemias de repetición, los pacientes con hipoglucemias presentaban durante la monitorización valores mínimos más bajos en la concentración de glucosa y pasaban el doble de tiempo con cifras de glucosa < 70 mg/dl. Es importante remarcar este hallazgo porque a menudo estos detalles pasan desapercibidos cuando los datos utilizados provienen de la determinación de glucemia capilar ambulatoria intermitente mediante glucómetros convencionales.

En nuestro objetivo 2, para la caracterización de este grupo de pacientes con hipoglucemias quisimos también valorar el perfil glucémico continuo y compararlo con la puntuación en el Test de Clarke. De esta forma observamos que existía una correlación positiva entre la puntuación en el test (peor percepción) y el porcentaje de tiempo con valores < 70 mg/dl durante los 3 días de uso de un SMCG. Asimismo, el porcentaje de tiempo en hipoglucemia se correlacionaba negativamente con el incremento de síntomas durante la hipoglucemia inducida.

Llegados a este punto y como sumario de los dos primeros objetivos podríamos resumir que existe un subgrupo de pacientes con DM1 que, por causas desconocidas, entra en un círculo vicioso de hipoglucemia de repetición-hipoglucemia desapercibida-hipoglucemia grave que hace que no puedan beneficiarse del tratamiento intensivo a largo plazo puesto que bajo MDI no consiguen los objetivos de control sin evitar la

aparición de hipoglucemias. Estos pacientes se podrían identificar de forma precoz si utilizáramos, de forma sistemática, cuestionarios específicos para valorar la percepción ante las hipoglucemias(71)(79), contabilizáramos la frecuencia de estos episodios y, eventualmente, utilizáramos SMCG para detectar porcentajes de tiempo en hipoglucemia. Cuando la HG de repetición se convierte en un fenómeno común en estos pacientes es cuando se les propone un tratamiento alternativo. Por disponibilidad, en nuestro medio este tratamiento suele ser la utilización de un sistema de tipo ISCI. Existe evidencia de que este subgrupo de pacientes podría mejorar el grado de control con este tipo de tratamiento, sin embargo, no se han realizado estudios específicos seleccionando a este grupo concreto de población.

Consecuencias de la DM1 y de la repetición de episodios de hipoglucemia en el árbol vascular.

En los objetivos 3 y 4 pretendimos evaluar las consecuencias de la sucesión de episodios de hipoglucemia. Si la hipoglucemia aguda, como han descrito varios investigadores, se asocia a la alteración de algunos marcadores inflamatorios, a alteraciones en la coagulación y viscosidad de la sangre y a alteraciones en algunos marcadores de función endotelial, ¿qué sucede a nivel vascular en aquellos sujetos sometidos a hipoglucemia de repetición durante años?

Para poder analizar qué ocurre a nivel del árbol vascular en los sujetos con DM1 e hipoglucemias de repetición necesitábamos saber, en primer lugar, cómo se comportan nuestros pacientes con DM1 en general respecto a una cohorte global sin DM. Dentro del objetivo 3 nos propusimos analizar el c-IMT de un grupo de pacientes jóvenes con DM1 de nuestras consultas que no presentaban otros FRCV y compararlo con su grupo etario obtenido de una población de referencia. Nuestro trabajo no es el primero en mostrar un mayor c-IMT de los pacientes con DM1 comparados con un grupo control(23)(35)(80) .Sin embargo, la relevancia de nuestros resultados se basa en que se derivan de un grupo de pacientes jóvenes con DM1 sin otros FRCV ni complicaciones microvasculares, con una duración media de la enfermedad y que provienen de un área Mediterránea donde se conoce que la prevalencia de ECV es menor que en otros países europeos(37). A diferencia de otros trabajos, para evaluar de forma más pormenorizada el territorio vascular se decidió estudiar el territorio carotídeo no sólo a nivel de la carótida primitiva sino también a nivel de bifurcación y de carótida interna así como también se evaluó la presencia de placas de aterosclerosis en todo el tramo estudiado. Además, la población de referencia

provenía del mismo área geográfica y había sido estudiada siguiendo el mismo protocolo ecográfico y por el mismo equipo de especialistas(81). Esto nos podía permitir analizar si la aterosclerosis en nuestro grupo de pacientes estaba o no en concordancia con las cifras encontradas en su grupo de edad.

Nuestro grupo de pacientes con DM1 presentaba un c-IMT medio que correspondía al del percentil 75 del mismo grupo en la población control. En el caso de la valoración de la presencia de placas de aterosclerosis las diferencias aun fueron mayores. El porcentaje de pacientes con placas de nuestro grupo de pacientes era similar al obtenido en el grupo de edad 10-15 años mayor en la población de referencia. Estos datos apuntan a la relevancia de implementar estrategias de prevención de ECV en los pacientes con DM1 en general y en aquellas subpoblaciones de alto riesgo en particular(11).

Dentro del mismo objetivo 3 quisimos avanzar un paso más en el estudio de ECV precoz. Nos propusimos estudiar a un grupo de pacientes con DM1 de nuestras consultas sin otros FRCV y sin complicaciones asociadas a su DM y compararlo con un grupo de controles sanos esta vez apareados por edad y sexo. El trabajo abarcó no sólo la evaluación estructural mediante la cuantificación de c-IMT sino que se completó con la inclusión de la valoración del territorio femoral (f-IMT), el estudio funcional precoz mediante FMD y la evaluación del perfil glucémico continuo mediante un SMCG(82).

Nuestros hallazgos pusieron en evidencia que los pacientes con DM1 presentan signos de aterosclerosis subclínica en términos tanto estructurales como funcionales cuando se les compara con un grupo control y que estas alteraciones estructurales presentan una correlación positiva con la edad y los años de evolución de la DM1. Además, nuestros resultados sugieren que estas alteraciones se asocian con una mayor variabilidad glucémica obtenida a partir de los registros de un SMCG.

Las alteraciones en la función endotelial definida como la dilatación de la arterial braquial en respuesta a un estímulo como la isquemia, traducen alteraciones funcionales muy precoces en el proceso de aterosclerosis. En nuestro trabajo, los pacientes con DM1 presentaban un pico de FMD en respuesta a la isquemia un 27 % menor que el obtenido en los controles, demostrando una alteración precoz de la función endotelial. Estos resultados son, por otro lado, similares a los publicados por otros grupos previamente(83)(84)(85)(86)(87)(88). Además, existen trabajos recientes

que demuestran disfunción endotelial (con reducción de FMD) y engrosamiento de c-IMT en pacientes jóvenes con DM1 sin ECV ni microalbuminuria(89). Hay que remarcar, sin embargo, que en esta última publicación se incluye un porcentaje de pacientes fumadores o con retinopatía y, además, con un grado de control metabólico subóptimo con una HbA_{1c} media de alrededor de 8,5 %. No obstante, nuestro trabajo es el primero que incluye sujetos jóvenes con DM1 de un área de baja prevalencia de ECV, no fumadores, sin otros FRCV ni complicaciones micro ni macrovasculares asociadas y con un grado de control metabólico óptimo. Además, es el primer estudio en abordar las alteraciones estructurales en dos territorios diferentes: el carotídeo y el femoral. Por vez primera se demuestra que los pacientes con DM1 presentan no sólo mayor c-IMT que los controles sanos sino también mayores grosores de íntima media y más presencia de placas también en el territorio femoral. Este hecho sugiere, una vez más, que la aterosclerosis es una enfermedad generalizada y que ambas alteraciones podrían suceder de forma simultánea, si bien es cierto que probablemente existan ciertos factores que incidan con mayor o menor intensidad en zonas centrales o periféricas.

A lo largo de los últimos años y en pacientes con DT2 se ha demostrado que la variabilidad glucémica desencadena más estrés oxidativo que la propia hiperglucemia crónica(90)(91). Se ha sugerido que el tratamiento específico de las fluctuaciones glucémicas debería ser un objetivo primordial en estos pacientes a la hora de reducir el efecto deletéreo de las mismas sobre el árbol vascular. Sin embargo, hasta la fecha, ningún estudio ha puesto de manifiesto que el control de las fluctuaciones de la glucemia, especialmente en el periodo postprandial, represente ventaja alguna frente a otras estrategias de tratamiento de la hiperglucemia(92). Del mismo modo, y aún a sabiendas de que la variabilidad glucémica es significativamente mayor en la DM1 respecto a la DM2, nadie ha demostrado hasta el momento que las fluctuaciones glucémicas constituyan un factor de riesgo independiente para desarrollar complicaciones en la DM1. La información más completa respecto al efecto de la variabilidad glucémica en el riesgo de complicaciones microvasculares en la DM1 se ha obtenido a partir del análisis de la base de datos de las glucemias capilares diarias recogidas durante el estudio DCCT. Su estudio y análisis pormenorizado no consiguió demostrar ningún otro efecto de la variabilidad glucémica más allá de su contribución al valor de HbA_{1c} (93).

Si existen dudas sobre el efecto de las fluctuaciones glucémicas en las complicaciones microvasculares en la DM1, aún es más controvertido el papel que éstas pudieran

tener en la aparición de eventos macrovasculares. Se ha descrito que la hiperglucemia aguda induce una respuesta inflamatoria, incrementa la rigidez arterial y altera la repolarización ventricular en el miocardio de los sujetos con DM1(94)(95)(96). Sin embargo, cuando se ha estudiado mediante SMCG y el uso de un *clamp hiperglucémico* se ha sugerido que era la glucemia media elevada y no la variabilidad la que más se asociaba con rigidez arterial en pacientes con DM1(97). Por otro lado, sí se ha demostrado asociación entre fluctuaciones glucémicas los días previos y alteraciones del perfil de presión arterial durante un *clamp hiperglucémico*. Wenthoff et al. demostraron una mayor secreción de 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 alpha en orina en sujetos con DM1 comparado con controles sanos. Sin embargo no fueron capaces de demostrar una relación con la variabilidad glucémica utilizando SMCG(98).

En nuestro trabajo nosotros sí que encontramos una correlación negativa entre la variabilidad glucémica (representada por el indicador MAGE obtenido a partir de 72 h de un SMCG) y la función endotelial (FMD) y una correlación positiva entre el MAGE y el valor del c-IMT en nuestro grupo de pacientes con DM1. Sin embargo, igual que otros autores refieren(88)(89), la función endotelial medida como FMD no se correlacionó con el valor de HbA_{1c}. La discrepancia con otros resultados publicados al respecto podría estar relacionada con los diferentes métodos utilizados en el cálculo de la variabilidad glucémica y la función endotelial, así como a la posibilidad de que la variabilidad glucémica se manifieste de manera diferente en distintos momentos evolutivos de la enfermedad.

Llegados a este punto, podemos resumir que los pacientes de nuestra área geográfica con DM1, no fumadores y sin otros FRCV asociados, con buen control metabólico y sin complicaciones micro ni macrovasculares asociadas presentan:

- Un mayor c-IMT y más porcentaje de placas de aterosclerosis que la franja etaria correspondiente de su población control.
- Una menor FMD y un mayor c-IMT/fIMT que un grupo control de sujetos sanos apareados por edad y sexo. En estos pacientes, el c-IMT se incrementa con la edad y los años de evolución de la enfermedad. Finalmente, en ellos una mayor variabilidad de las cifras de glucosa se asocia a un mayor daño arterial.

El objetivo 4 podría considerarse el punto central de esta tesis doctoral. En él pretendíamos dilucidar si la repetición de episodios de hipoglucemia condicionaba en un grupo de pacientes con DM1 un peor pronóstico desde el punto de vista vascular.

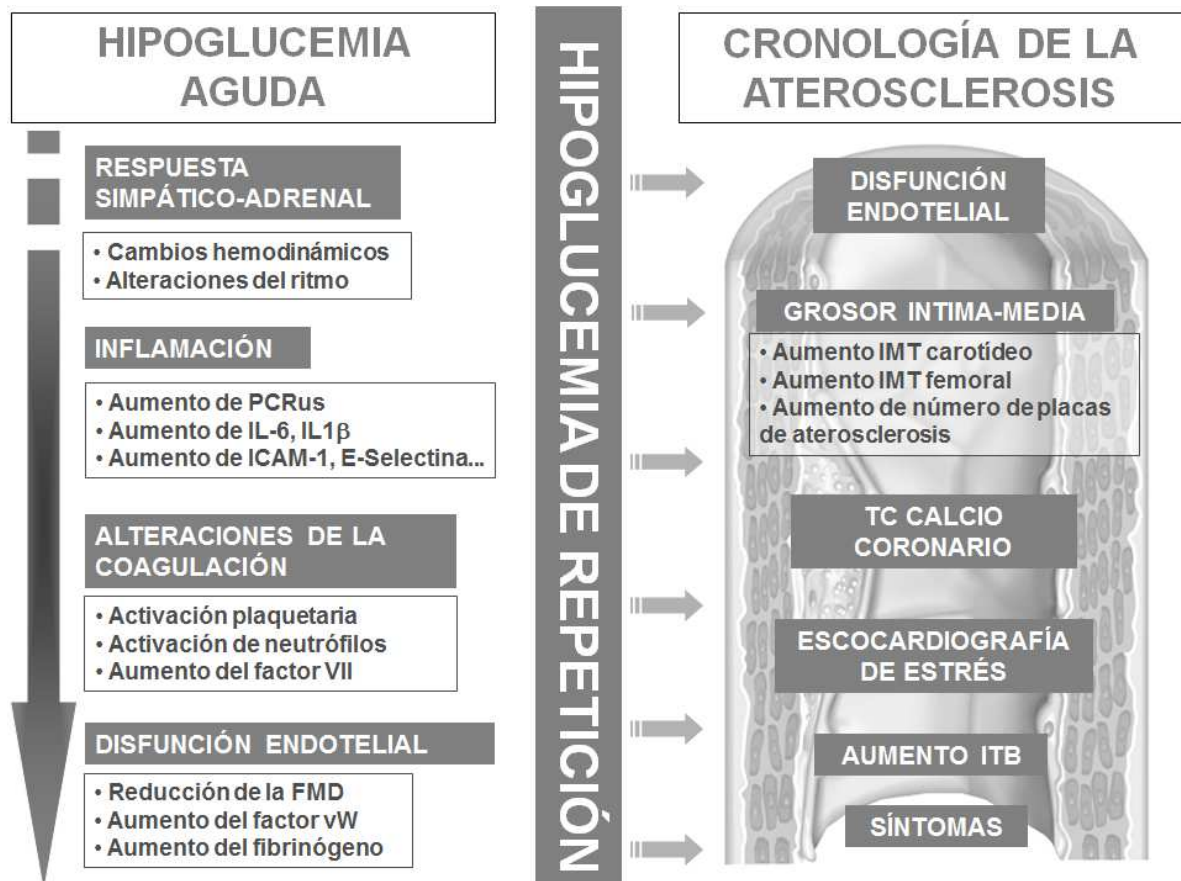
Para ello seleccionamos dos grupos diferentes de pacientes con DM1. Un grupo de pacientes sin otros FRCV ni complicaciones crónicas, caracterizados por presentar antecedentes de HG de repetición y una elevada frecuencia de HNG junto con hipoglucemia desapercibida. Un segundo grupo de pacientes con DM1 comparables en edad, sexo, años de evolución de la DM, IMC, HbA_{1c} y perfil lipídico y que se caracterizaban por presentar una baja frecuencia de HNG y una ausencia de antecedentes de HG. Y, por último, se seleccionó un grupo de controles sanos de similar edad y sexo sin DM, sin FRCV y sin antecedentes familiares de DM.

Los resultados de nuestro cuarto objetivo demostraron que los pacientes con DM1 e HG de repetición presentaban peor perfil de aterosclerosis preclínica respecto al grupo de pacientes con DM1 control en términos no sólo funcionales sino también estructurales.

Este trabajo confirma los resultados de nuestras publicaciones previas así como de otras que existen en la literatura(34). Los pacientes con DM1 presentan peor respuesta de función endotelial (FMD) y más lesiones estructurales a nivel de c-IMT y de f-IMT respecto a un grupo de sujetos sanos. Además, en la misma línea, los pacientes con DM1 del grupo con HG de repetición también presentaban mayor IMT respecto a los controles sanos. Se ha asociado la HTA, dislipemia, el tabaquismo y la excreción urinaria de albúmina con el valor de c-IMT en pacientes con DM1(23). En nuestro trabajo, a pesar de que los pacientes no presentaban FRCV ni complicaciones micro ni macrovasculares asociadas, el LDL-colesterol se asoció con la variación del valor de c-IMT.

La hipoglucemia es el efecto adverso más común de la terapia intensiva y el más temido por los pacientes con DM1(99). En nuestro proyecto analizamos los posibles efectos de la hipoglucemia aguda y su repetición sobre el árbol vascular. A corto plazo, la hipoglucemia aguda induce cambios hemodinámicos que inclusive podrían llegar a agravar un evento vascular durante el mismo episodio(100). A largo plazo, sobretodo en los casos en los que existe hipoglucemia de repetición, las alteraciones en la coagulación, inflamación y fibrinólisis podrían inducir la progresión de la aterosclerosis.

Figura 18. Posibles efectos de la hipoglucemia aguda y de la hipoglucemia de repetición a nivel vascular. *Adaptado de I. Conget y M. Giménez, Diabetes Management 2011 1(3), 291-297.*



A partir de los posibles efectos a nivel vascular de la hipoglucemia aguda, se sugiere que la repetición de este fenómeno podría desencadenar alteraciones funcionales y estructurales a nivel endotelial que podrían preceder a eventos clínicos posteriormente.

Así, en nuestro trabajo no sólo confirmamos que la hipoglucemia de repetición se asocia con mayor frecuencia a hipoglucemia desapercibida, luego, a mayor riesgo de HG, sino que la hipoglucemia de repetición se asoció con un peor pronóstico en términos de aterosclerosis preclínica. Con respecto a los hallazgos globales del trabajo, los pacientes con hipoglucemias de repetición presentaron menor FMD y más alteración en los marcadores inflamatorios de fase aguda, de coagulación y de daño endotelial que el grupo con DM1 sin esta condición.

Para valorar las lesiones estructurales y teniendo en cuenta que ambos grupos de pacientes presentaban un ecocardiograma de estrés y un índice tobillo brazo estrictamente normales, se decidió estudiar tanto el territorio carotídeo como el femoral siguiendo el mismo protocolo del objetivo 3. Los pacientes con hipoglucemias de repetición presentaban mayor IMT en ambos territorios respecto a los pacientes con DM1 control. Se realizó, posteriormente, una regresión lineal múltiple que confirmó la asociación entre la hipoglucemia de repetición y el valor compuesto de IMT en todo el territorio carotídeo (c-IMTcomp) de forma independiente de los otros FRCV estudiados. Por otro lado, cuando se compararon ambos grupos de pacientes con los sujetos controles sanos, destacaba que los pacientes del grupo con hipoglucemias de repetición presentaban una menor FMD y mayor IMT respecto a ambos grupos de sujetos controles, tanto controles DM1 como controles sanos. Sin embargo, la comparativa entre controles con DM1 y controles sanos fue bastante distinta. Mientras que los controles con DM1 presentaban significativamente peor FMD que los sanos, no hubo diferencias significativas entre los valores de IMT de ambos grupos. Esta observación sugiere que el grupo de pacientes con DM1 considerados controles presentaban a nivel estructural tan buenos resultados como los controles sanos, así que podríamos considerar a las hipoglucemias de repetición como el factor diferencial y que agrava a nivel estructural los vasos de estos pacientes con DM1 sin complicaciones crónicas y sin otros FRCV.

A día de hoy desconocemos cuáles son los determinantes específicos de daño vascular en la DM1, la interrelación entre ellos y el tiempo de exposición necesario para presentar una alteración cardiovascular preclínica. Nuestros resultados apuntan a que deberíamos considerar la hipoglucemia de repetición como un nuevo potencial factor de riesgo. La exposición a hipoglucemia de repetición durante años en pacientes jóvenes desencadenaría la presencia de aterosclerosis subclínica, la cual potencialmente podría transformarse en eventos cardiovasculares en la edad adulta.

Por último, algunos trabajos han intentado analizar los efectos de la hipoglucemia aguda diseñando complejos estudios que finalmente han confirmado el efecto proinflamatorio y protrombótico de esta situación(101)(102). En nuestro caso, detectamos la elevación de algunos de estos marcadores de inflamación o de alteración de la función endotelial (leucocitos, ICAM-1, factor vW y fibrinógeno) ya desde el momento basal en los sujetos con hipoglucemia de repetición respecto a los sujetos con DM1 controles. En ambos grupos de pacientes con DM1 se observó un incremento no significativo en los parámetros inflamatorios y de función endotelial en respuesta a la hipoglucemia inducida sin observarse diferencias en la respuesta entre ambos grupos. Esta falta de respuesta ante la hipoglucemia provocada respecto a otros estudios puede deberse, al menos en parte, a diversas limitaciones de nuestro protocolo experimental. De hecho, en nuestro caso el protocolo de hipoglucemia inducida no constituye un objetivo primordial en esta tesis, sino que se diseñó para analizar la respuesta sintomática ante la hipoglucemia controlada en ambos grupos de pacientes y no para valorar efectos directos de la hipoglucemia sobre otros marcadores. Como ejemplo, decir que a diferencia de los estudios que valoran estos efectos de forma minuciosa, nosotros incluimos un periodo de tiempo en hipoglucemia quizá demasiado corto (30 min) para obtener respuestas significativas y, además, no controlamos los niveles de insulina durante la prueba.

Podemos resumir nuestro cuarto objetivo diciendo que por primera vez se sugiere que la hipoglucemia de repetición podría ser un factor agravante de aterosclerosis en los pacientes con DM1. Obviamente, necesitamos que más trabajos confirmen esta asociación y que se reevalúe el papel que los factores endoteliales e inflamatorios podrían jugar en el daño vascular inducido por la hipoglucemia.

Hemos completado el objetivo 4 con dos trabajos más. En el primero, pretendíamos evaluar si existía relación entre la hipoglucemia y alteraciones de la tensión arterial (TA) que también puedan contribuir al daño vascular precoz que presentan estos pacientes (ver Objetivo 4, página 73).

Si asumimos que la hipoglucemia aguda activa el sistema simpático y produce cambios en la frecuencia cardíaca y la TA, nos preguntamos si la repetición de este fenómeno condiciona cambios en esta respuesta fisiológica. Recientemente se han descrito alteraciones del ritmo y de la frecuencia cardíaca durante episodios de hipoglucemia nocturna evaluados mediante SMCG en pacientes con DM1(103). De esta forma, nos propusimos evaluar cambios en la frecuencia cardíaca y TA durante la

hipoglucemia valorando de forma simultánea la TA mediante monitorización continua ambulatoria de la presión arterial (MAPA) y un SMCG durante 48 h consecutivas. La respuesta hemodinámica normal ante la hipoglucemia incluye un aumento en la frecuencia cardíaca, un aumento en la TAs y una leve disminución de la TA diastólica (TAd)(104)(105). Teóricamente, el umbral de glucemia para el inicio de los cambios fisiológicos y de los síntomas ante la hipoglucemia oscila entre 50 - 58 mg/dl en sujetos sin DM. Se ha descrito que tanto la respuesta como el umbral de glucemia puede alterarse en pacientes con DM1, hecho que sólo se ha demostrado bajo condiciones experimentales(106). Sin embargo, se conoce poco sobre qué ocurre con la TA y la frecuencia cardíaca ante la hipoglucemia en situación de vida cotidiana ambulatoria. Nosotros no hallamos la respuesta cardiovascular esperada en nuestros pacientes con DM1 sin complicaciones asociadas ni otros FRCV. Únicamente en aquellos episodios con umbral glucémico más bajo (< 50 mg/dl) fuimos capaces de encontrar una correlación negativa y significativa entre glucemia y frecuencia cardíaca. Aunque el trabajo tiene numerosas limitaciones (pocos pacientes incluidos, poca sensibilidad ante la hipoglucemia de los SMCG, medición de la TA cada 20 min durante el día y cada 30 min durante la noche...) podríamos concluir que quizá estas alteraciones hemodinámicas en aquellos episodios de hipoglucemia más graves también pudieran jugar un papel a largo plazo en el endotelio de los pacientes. Y, por otro lado, si esta respuesta fisiológica se mantiene mientras el paciente conserva intacta su percepción a las hipoglucemias, se podría hipotetizar que en las fases iniciales con hipoglucemia sintomática de repetición, el efecto de la TA y de la frecuencia cardíaca podría ser más nocivo que posteriormente, cuando el paciente ya ha perdido la percepción ante las hipoglucemias y donde sólo somos capaces de observar esta respuesta con glucemias significativamente inferiores.

Para cerrar el objetivo 4 nos quedaba una última comprobación esencial. Si los pacientes con hipoglucemia desapercibida presentan más aterosclerosis subclínica que sus controles, ¿podemos comprobar si realmente presentan más eventos clínicos en algún momento a posteriori?

El Registro Catalán para el inicio de tratamiento con ISCI de los pacientes con DM1 recoge información que los médicos aportan en el momento de solicitar el tratamiento. Entre esta información consta si el paciente ha presentado algún episodio de HG el año previo, la indicación por la que se solicita tratamiento con ISCI y si presenta complicaciones crónicas micro o macrovasculares en el momento de la solicitud. Nos propusimos analizar la base de datos del Registro con las solicitudes para este

tratamiento entre los años 1990 y 2010. Analizamos 1550 registros de pacientes (edad 34 ± 12 años; 69 % mujeres, duración de la DM 16 ± 9 años, HbA_{1c} $8,2 \pm 1,3$, IMC 24 ± 5 Kg/m²). Dividimos a los pacientes en función de si presentaban o no antecedentes de HG durante el año previo a la solicitud del tratamiento y comparamos las características generales entre ambos grupos y analizamos si la prevalencia de algún tipo de EVC era distinta o no entre ellos. De todos los pacientes analizados, en el 14,9 % de los casos la indicación principal de tratamiento con ISCI que constaba en el Registro era la hipoglucemia de repetición, mientras que en el 34,6 % de los pacientes constaba la presencia de al menos un episodio de HG el año previo a la solicitud del tratamiento. Esta diferencia se debe, probablemente, a que en la mayoría de ocasiones se marca como indicación el mal control crónico junto a la presencia de HG de repetición, lo que condiciona que muchos pacientes con hipoglucemias de repetición no estén incluidos en el 14,9 % por constar como indicación principal el mal control metabólico crónico. De esta manera, decidimos seleccionar como grupo de estudio a aquellos pacientes que presentaban antecedentes de algún episodio de HG durante el año previo a la solicitud. Considerando la cohorte global, se determinó la presencia de algún tipo de ECV en el 4,7 % de los sujetos. En el grupo con antecedentes de HG, el porcentaje de sujetos con algún tipo de ECV fue significativamente superior (6,9 %) al obtenido en el grupo control (3,9 %). En el análisis estratificado, ni el sexo, ni la edad (< 18, 18 - 45, > 45 años) ni la duración de la DM1 (< 10 y ≥ 10 años) tuvieron influencia en la diferencia. En la regresión logística, el sexo, la edad y la duración de la DM se asociaron de forma independiente a la presencia de ECV. Sin embargo, cuando la edad y la duración de la DM se eliminaron del análisis, junto con el sexo, la presencia de antecedentes de HG emergió como factor de riesgo independiente para la aparición de ECV(107).

Por supuesto, aunque datos recientes de otros registros de pacientes también sugieren una asociación independiente entre hipoglucemia y ECV(108), este trabajo tiene varias limitaciones. Por un lado, como todos los análisis de datos de registros públicos, tiene los inconvenientes propios de un análisis retrospectivo y observacional de estos datos. La validación de los datos y las indicaciones incluidos en este registro dependen de cada uno de los profesionales que incluye datos en el mismo, por tanto, nuestros resultados deben interpretarse con cautela y teniendo en cuenta que no representan de ninguna manera una relación causal entre ambas variables.

Utilidad y eficacia de los sistemas ISCI en pacientes con DM1 e hipoglucemias graves y no graves de repetición.

Para finalizar, en el objetivo 5 de esta tesis nos propusimos evaluar la eficacia del tratamiento con un sistema de tipo ISCI en un programa específicamente diseñado para pacientes cuya indicación para el tratamiento era la presencia de HG/HNG e hipoglucemia desapercibida recurrentes.

Tras dos años de seguimiento de estos pacientes, demostramos una reducción en los episodios de HG, así como en los episodios de HNG. Todo ello sin observar deterioro alguno en las cifras de HbA_{1c}. Además, evaluando la percepción ante los episodios de hipoglucemia mediante la utilización del cuestionario de Clarke, también se demostró una mejoría de la puntuación en el mismo tras dos años de seguimiento. Es decir, se podía conseguir una reducción de las hipoglucemias con una mejoría en su percepción sin empeorar el grado de control evaluado mediante HbA_{1c} en este subgrupo específico de pacientes.

Se ha demostrado en diversos trabajos que en los pacientes con hipoglucemia de repetición e hipoglucemia desapercibida, la prevención meticulosa de nuevos episodios de hipoglucemia puede conseguir revertir las alteraciones fisiológicas asociadas a esta condición(109)(110)(111). La implementación de formas más fisiológicas de reemplazar la secreción de insulina e inclusive el uso de los SMCG a “*tiempo real*” se han demostrado como terapias eficaces de cara a mejorar el grado de control y el manejo clínico de estos pacientes(112)(113)(114)(115)(116)(117). Sin embargo, a día de hoy no existe un consenso sobre la mejor manera de aproximarse a la identificación y tratamiento específico para los pacientes con antecedentes de HG de repetición. En nuestro trabajo, el uso de un sistema de tipo ISCI se asoció a una mejoría en la percepción ante las hipoglucemias probablemente secundario a la reducción en la frecuencia de las mismas. Lo más remarcable de este trabajo es que la mejoría en las hipoglucemias se obtuvo sin objetivarse un deterioro en el valor de HbA_{1c}, lo que indica que no es necesario deteriorar el control llevando a estos pacientes a la hiperglucemia para conseguir una mejoría en la percepción ante las hipoglucemias. Además, los resultados se confirmaron también en los registros obtenidos a partir de SMCG “*ciegos*” realizados en estos pacientes en el momento basal y tras dos años de seguimiento prospectivo. Se observó cómo progresivamente se redujo el porcentaje de tiempo con valores < 70 mg/dl a la vez que se observó un incremento en el porcentaje de tiempo en euglucemia (70 - 180 mg/dl) con, además,

una reducción en la variabilidad glucémica (MAGE) obtenida a partir del perfil continuo a lo largo de 72 h de MCG.

Para cerrar los resultados observados en este trabajo, decir que la mejoría del control metabólico se asoció, además, con una mejoría de la percepción de la calidad de vida evaluada por diferentes cuestionarios específicos. Varios trabajos han reportado estos resultados, asociando esta mejoría principalmente al aumento en la flexibilidad del tratamiento y a la mejoría en el temor ante las hipoglucemias(118). En un trabajo previo (ver Objetivo 5, página 93), nuestro grupo evaluó las diferencias en la percepción de calidad de vida entre sujetos que iniciaban la ISCI por hipoglucemias de repetición respecto a los que la iniciaban por mal control sin hipoglucemias tras un año de tratamiento específico con ISCI. Observamos, también en ese caso, que el tratamiento con ISCI se asociaba a una mejoría en la calidad de vida que era independiente del motivo por el que se indicaba el tratamiento, sin embargo, existían diferentes matices que debíamos tener en cuenta. Los pacientes cuya indicación para iniciar ISCI era la repetición de hipoglucemias desapercibidas presentaban un perfil diferente previo al inicio del tratamiento, de forma que puntuaban mejor en las subescalas de impacto del tratamiento y preocupación social. Este resultado sugiere, al igual que otros grupos han apuntado previamente, que los sujetos con hipoglucemia desapercibida infraestiman el problema de las hipoglucemias. Probablemente la importancia que durante décadas han mostrado los profesionales de cara a evitar la hiperglucemia y sus consecuencias a largo plazo ha contribuido a que se haya prestado poca importancia a la presencia de hipoglucemias y a las consecuencias que ahora conocemos.

Fatourechi et al. en una revisión solicitada por la *Endocrine Society* trataron de analizar a partir de estudios randomizados la evidencia existente sobre la diferencia de efecto en la frecuencia de hipoglucemias entre el tratamiento con MDI y el tratamiento con ISCI(119). Incluyeron en el metanálisis 15 estudios randomizados y concluyeron la revisión asociando el uso de ISCI con una disminución leve (0,2 %) en la HbA_{1c} sin diferencias en términos de hipoglucemia entre ambos tratamientos. Sin embargo, los investigadores concluyen que estos resultados provienen del análisis de estudios que incluyen únicamente pacientes con bajo riesgo de hipoglucemia puesto que el antecedente de hipoglucemia desapercibida/HG suele ser uno de los criterios de exclusión de la mayoría de ensayos clínicos. De esta manera, no se pueden extrapolar estos resultados a los pacientes con antecedentes de HG e hipoglucemia desapercibida.

En términos absolutos y teniendo en cuenta las diferencias entre ambos trabajos, podríamos decir que la magnitud de restauración de la percepción ante la hipoglucemia obtenida en nuestro estudio es similar a la observada por Leitao et al. utilizando trasplante de islotes pancreáticos(120). Sin embargo, a diferencia de nuestro trabajo, en éste no queda claro si la mejoría en la percepción se asocia a una reducción en la frecuencia de hipoglucemia puesto que esta información no está recogida en sus resultados.

Sin embargo, nuestro trabajo tiene varias limitaciones. La principal es que no existe un grupo control y que el grupo de estudio es relativamente pequeño y de alto riesgo donde un programa de este tipo puede exagerar los efectos beneficiosos obtenidos por la ISCI. Cabe decir, al igual que ocurría en el objetivo 1 de esta tesis, que todos los pacientes realizaron un programa de optimización del control metabólico con MDI previo al inicio de la terapia ISCI sin obtener beneficios respecto a la frecuencia de hipoglucemia(121). No incluimos un grupo control de pacientes con HG de repetición bajo tratamiento con MDI puesto que consideramos que dada la labilidad del control y la existencia de una indicación específica para iniciar ISCI no hubiese sido ético randomizar una proporción de sujetos a MDI. De hecho, el *“National Institute for Health and Clinical Excellence”* recomienda específicamente el tratamiento con ISCI para aquellos pacientes con DM1 en los que al tratar de conseguir los objetivos de HbA_{1c} con MDI presentan repetidos e impredecibles episodios de hipoglucemia. Podemos decir, para acabar, que sí recogimos datos prospectivos de un grupo de 9 pacientes que cumplían los criterios para pertenecer al grupo de estudio con HG de repetición y que, sin embargo, rechazaron iniciar tratamiento con un sistema de tipo ISCI. Aunque la motivación de estos sujetos podría ser diferente a la del grupo evaluado, sí podemos afirmar que tras dos años de seguimiento prospectivo con MDI no presentaron cambios significativos ni en la frecuencia de hipoglucemias, ni en la percepción ante las mismas (datos no publicados).

Como resumen del Objetivo 5 podemos concluir que el tratamiento con ISCI en el seno de un programa de educación específico para estos pacientes con HG de repetición, reduce la frecuencia de HNG y de HG así como mejora la percepción ante las mismas sin deteriorar el valor de HbA_{1c}. Además, se asocia a una mejoría en la percepción de calidad de vida de estos pacientes.

Finalmente y para cerrar la discusión de esta tesis nos hubiera gustado poder responder a la siguiente pregunta: ¿cuál sería el efecto potencial del tratamiento prolongado con un sistema de tipo ISCI en el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con episodios de HG/HNG de repetición al evitar sistemáticamente estos episodios? Desafortunadamente a día de hoy no tenemos esa respuesta aunque trabajamos en el seguimiento y estudio de los grupos de pacientes y controles sanos incluidos en esta tesis doctoral con el fin de poder tenerla en un futuro no lejano.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- El tratamiento intensificado no convencional con sistemas de tipo ISCI para pacientes con DM1 bajo las indicaciones del sistema público de salud en nuestro país, se asocia con una mejoría del grado de control metabólico (reducción de HbA_{1c} y reducción del número de episodios de hipoglucemia) y con una mejor percepción en la calidad de vida de los pacientes.
- En sujetos con DM1 e hipoglucemia no grave y grave de repetición, la presencia de alteraciones en la percepción ante la hipoglucemia es muy frecuente. Sabemos, además, que la hipoglucemia desapercibida e hipoglucemia de repetición constituyen dos factores predictivos claves en la aparición posterior de episodios de HG. En estos casos, la hipoglucemia desapercibida se asocia a la presencia de un mayor porcentaje de tiempo en hipoglucemia cuando se analizan los perfiles de glucemia continuos mediante SMCG. La detección de la hipoglucemia desapercibida debería tenerse en cuenta de cara a optimizar el control de los pacientes con DM1 de forma segura.
- En ausencia de otros FRCV conocidos, los pacientes con DM1 de un área geográfica considerada de baja prevalencia de ECV presentan signos de aceleración de aterosclerosis preclínica.
- Los pacientes con DM1 y ausencia de otros FRCV y complicaciones micro/macrovaskulares asociadas presentan signos de aterosclerosis preclínica cuando se les compara con un grupo control sano. Se sugiere que la variabilidad glucémica podría tener un impacto negativo en la función vascular y en la aparición de lesiones estructurales precoces.
- La hipoglucemia de repetición se asocia con mayor c-IMT, peor función endotelial (FMD) y con la elevación de marcadores de inflamación y de disfunción endotelial. Podría considerarse, pues, un factor potencialmente agravante de la presencia de aterosclerosis subclínica en los pacientes con

DM1. Los mecanismos específicos mediante los cuales se produce esta asociación son, hoy en día, poco conocidos.

- El análisis retrospectivo del registro Catalán para el inicio de tratamiento con ISCI en la DM1 muestra una mayor prevalencia de ECV en los pacientes con DM1 que presentaban HG de repetición en el momento de inicio del tratamiento con ISCI.
- El tratamiento con sistemas de tipo ISCI bajo un programa específico diseñado para este subgrupo de pacientes, se asocia con una reducción del número de episodios de HG y de HNG así como con una mejoría en la percepción ante las hipoglucemias. Todo ello se consigue, además, sin producir un deterioro en el valor de HbA_{1c} en estos sujetos. Asimismo, esta mejoría también se asocia con una mejor percepción en la calidad de vida de los pacientes.

El potencial efecto que el tratamiento específico con sistemas de tipo ISCI podría tener sobre el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 con hipoglucemias de repetición deberá comprobarse en futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

(Finaliza la inclusión de bibliografía con la publicación del último trabajo de esta tesis)

1. Patterson CC, Gyürüs E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E, et al. Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989-2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia* [Internet]. 2012 May 26 [cited 2012 Jun 22]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22638547>
2. 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.
3. Sustained Effect of Intensive Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus on Development and Progression of Diabetic Nephropathy. *JAMA.* 2003 Oct 22;290(16):2159–67.
4. Implications of the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care.* 2003 Jan;26 Suppl 1(0149-5992):S25–S27.
5. Adverse events and their association with treatment regimens in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care.* 1995 Nov;18(11):1415–27.
6. Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2002 Mar;25(3):593–8.
7. Pickup JC. Are insulin pumps underutilized in type 1 diabetes? Yes 1. *Diabetes Care.* 2006 Jun;29(6):1449–52.
8. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet.* 2001 Jul 21;358(9277):221–9.
9. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC). Design, implementation, and preliminary results of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care.* 1999 Jan;22(1):99–111.
10. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of

- Diabetes Interventions and Complications Research Group. *N.Engl.J.Med.* 2000 Feb 10;342(6):381–9.
11. Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N.Engl.J.Med.* 2005 Dec 22;353(25):2643–53.
 12. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. *JAMA.* 2002 May 15;287(19):2563–9.
 13. Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Speizer FE, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Arch. Intern. Med.* 2001 Jul 23;161(14):1717–23.
 14. Lotufo PA, Gaziano JM, Chae CU, Ajani UA, Moreno-John G, Buring JE, et al. Diabetes and all-cause and coronary heart disease mortality among US male physicians. *Arch. Intern. Med.* 2001 Jan 22;161(2):242–7.
 15. Orchard TJ, Costacou T, Kretowski A, Nesto RW. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care.* 2006 Nov;29(11):2528–38.
 16. Janghorbani M, Hu FB, Willett WC, Li TY, Manson JE, Logroscino G, et al. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study. *Diabetes Care.* 2007 Jul;30(7):1730–5.
 17. Lawson ML, Gerstein HC, Tsui E, Zinman B. Effect of intensive therapy on early macrovascular disease in young individuals with type 1 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 1999 Mar;22 Suppl 2(0149-5992):B35–B39.
 18. de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart J-C, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation.* 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III33–38.
 19. Barth JD. An update on carotid ultrasound measurement of intima-media thickness. *Am. J. Cardiol.* 2002 Feb 21;89(4A):32B–38B; discussion 38B–39B.
 20. Akosah KO, McHugh VL, Barnhart SI, Schaper AM, Mathiason MA, Perlock PA, et al. Carotid ultrasound for risk clarification in young to middle-aged adults

- undergoing elective coronary angiography. *Am. J. Hypertens.* 2006 Dec;19(12):1256–61.
21. Snow M, Ben-Sassi A, Winter RK, Verghese A, Hibberd R, Saad RAG, et al. Can carotid ultrasound predict plaque histopathology? *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2007 Jun;48(3):299–303.
22. Kastelein JJP, de Groot E. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur. Heart J.* 2008 Apr;29(7):849–58.
23. Nathan DM, Lachin J, Cleary P, Orchard T, Brillon DJ, Backlund JY, et al. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 2003 Jun 5;348(23):2294–303.
24. Cefalu WT. Glycemic control and cardiovascular disease--should we reassess clinical goals? *N. Engl. J. Med.* 2005 Dec 22;353(25):2707–9.
25. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Diabetes.* 1997 Feb;46(2):271–86.
26. Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes Care.* 2005 May;28(5):1245–9.
27. MacLeod KM, Hepburn DA, Frier BM. Frequency and morbidity of severe hypoglycaemia in insulin-treated diabetic patients. *Diabet. Med.* 1993 Apr;10(3):238–45.
28. Cryer PE. Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure and its component syndromes in diabetes. *Diabetes.* 2005 Dec;54(12):3592–601.
29. Gold AE, MacLeod KM, Frier BM. Frequency of severe hypoglycemia in patients with type I diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care.* 1994 Jul;17(7):697–703.
30. ter Braak EW, Appelman AM, van de Laak M, Stolk RP, van Haeften TW, Erkelens DW. Clinical characteristics of type 1 diabetic patients with and without severe hypoglycemia. *Diabetes Care.* 2000 Oct;23(10):1467–71.

31. Ryan EA, Shandro T, Green K, Paty BW, Senior PA, Bigam D, et al. Assessment of the severity of hypoglycemia and glycemic lability in type 1 diabetic subjects undergoing islet transplantation. *Diabetes*. 2004 Apr;53(4):955–62.
32. Cryer PE. Diverse causes of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2004 May 27;350(22):2272–9.
33. Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Julian D, Schlundt D, Polonsky W. Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care*. 1995 Apr;18(4):517–22.
34. Jarvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S, et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation*. 2004 Apr 13;109(14):1750–5.
35. Rabago Rodriguez R, Gómez-Díaz RA, Tanus Haj J, Avelar Garnica FJ, Ramirez Soriano E, Nishimura Meguro E, et al. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007 Oct;30(10):2599–602.
36. Shivalkar B, Dhondt D, Goovaerts I, Van GL, Bartunek J, Van CP, et al. Flow mediated dilatation and cardiac function in type 1 diabetes mellitus. *Am.J.Cardiol.* 2006 Jan 1;97(1):77–82.
37. Masiá R, Pena A, Marrugat J, Sala J, Vila J, Pavesi M, et al. High prevalence of cardiovascular risk factors in Gerona, Spain, a province with low myocardial infarction incidence. REGICOR Investigators. *J Epidemiol Community Health*. 1998 Nov;52(11):707–15.
38. Senior PA, Welsh RC, McDonald CG, Paty BW, Shapiro AMJ, Ryan EA. Coronary artery disease is common in nonuremic, asymptomatic type 1 diabetic islet transplant candidates. *Diabetes Care*. 2005 Apr;28(4):866–72.
39. Dandona P, Chaudhuri A, Dhindsa S. Proinflammatory and prothrombotic effects of hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2010 Jul;33(7):1686–7.
40. Wright RJ, Frier BM. Vascular disease and diabetes: is hypoglycaemia an aggravating factor? *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2008 Aug;24(5):353–63.

41. Galloway PJ, Thomson GA, Fisher BM, Semple CG. Insulin-induced hypoglycemia induces a rise in C-reactive protein. *Diabetes Care*. 2000 Jun;23(6):861–2.
42. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2004 Apr 1;350(14):1387–97.
43. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003 Jan 28;107(3):363–9.
44. Ridker PM, Wilson PWF, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23):2818–25.
45. Fisher BM, Quin JD, Rumley A, Lennie SE, Small M, MacCuish AC, et al. Effects of acute insulin-induced hypoglycaemia on haemostasis, fibrinolysis and haemorheology in insulin-dependent diabetic patients and control subjects. *Clin. Sci.* 1991 May;80(5):525–31.
46. Rodrigues TC, Snell-Bergeon JK, Maahs DM, Kinney GL, Rewers M. Higher fibrinogen levels predict progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes. *Atherosclerosis*. 2010 Jun;210(2):671–3.
47. Snell-Bergeon JK, West NA, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Marcovina SM, D'Agostino RB Jr, et al. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010 Jun;95(6):2868–76.
48. Avogaro A, Crepaldi C, Miola M, Penzo M, Maran A, Zanin L, et al. Sequelae of acute hypoglycaemia on 24 hour blood pressure and metabolic parameters in normal and type 1 (insulin-dependent) diabetic individuals. *Diabet. Med.* 1994 Jul;11(6):573–7.
49. Feldman-Billard S, Massin P, Meas T, Guillausseau P-J, Héron E. Hypoglycemia-induced blood pressure elevation in patients with diabetes. *Arch. Intern. Med.* 2010 May 10;170(9):829–31.
50. Del Rio G, Baldini A, Carani C, Della Casa L. Adrenomedullary hyperactivity in type I diabetic patients before and during continuous subcutaneous insulin treatment. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1989 Mar;68(3):555–9.

51. Azar ST, Birbari A. Nocturnal blood pressure elevation in patients with type 1 diabetes receiving intensive insulin therapy compared with that in patients receiving conventional insulin therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998 Sep;83(9):3190–3.
52. Poulsen PL, Hansen KW, Ebbenhøj E, Knudsen ST, Mogensen CE. No deleterious effects of tight blood glucose control on 24-hour ambulatory blood pressure in normoalbuminuric insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000 Jan;85(1):155–8.
53. Weight gain associated with intensive therapy in the diabetes control and complications trial. The DCCT Research Group. *Diabetes Care.* 1988 Jul;11(7):567–73.
54. Schaumberg DA, Glynn RJ, Jenkins AJ, Lyons TJ, Rifai N, Manson JE, et al. Effect of intensive glycemic control on levels of markers of inflammation in type 1 diabetes mellitus in the diabetes control and complications trial. *Circulation.* 2005 May 17;111(19):2446–53.
55. Pickup J, Mattock M, Kerry S. Glycaemic control with continuous subcutaneous insulin infusion compared with intensive insulin injections in patients with type 1 diabetes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2002 Mar 23;324(7339):705.
56. Colquitt JL, Green C, Sidhu MK, Hartwell D, Waugh N. Clinical and cost-effectiveness of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes. *Health Technol. Assess.* 2004 Oct;8(43):iii, 1–iii171.
57. Weissberg-Benchell J, Antisdel-Lomaglio J, Seshadri R. Insulin pump therapy: a meta-analysis 1. *Diabetes Care.* 2003 Apr;26(4):1079–87.
58. Retnakaran R, Hochman J, DeVries JH, Hanaire-Broutin H, Heine RJ, Melki V, et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections: the impact of baseline A1c. *Diabetes Care.* 2004 Nov;27(11):2590–6.
59. Hoogma RP, Hammond PJ, Gomis R, Kerr D, Bruttomesso D, Bouter KP, et al. Comparison of the effects of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) and NPH-based multiple daily insulin injections (MDI) on glycaemic control and quality of life: results of the 5-nations trial. *Diabet. Med.* 2006 Feb;23(2):141–7.

60. Roze S, Valentine WJ, Zakrzewska KE, Palmer AJ. Health-economic comparison of continuous subcutaneous insulin infusion with multiple daily injection for the treatment of Type 1 diabetes in the UK. *Diabet.Med.* 2005;22(9):1239–45.
61. Scuffham P, Carr L. The cost-effectiveness of continuous subcutaneous insulin infusion compared with multiple daily injections for the management of diabetes. *Diabet.Med.* 2003 Jul;20(7):586–93.
62. Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW, Ackerman E, Gatewood LC, Taylor WF. Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes.* 1970 Sep;19(9):644–55.
63. Chantelau E, Spraul M, Muhlhauser I, Gause R, Berger M. Long-term safety, efficacy and side-effects of continuous subcutaneous insulin infusion treatment for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a one centre experience. *Diabetologia.* 1989 Jul;32(7):421–6.
64. Rodrigues IA, Reid HA, Ismail K, Amiel SA. Indications and efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy in Type 1 diabetes mellitus: a clinical audit in a specialist service. *Diabet.Med.* 2005 Jul;22(7):842–9.
65. Linkeschova R, Raoul M, Bott U, Berger M, Spraul M. Less severe hypoglycaemia, better metabolic control, and improved quality of life in Type 1 diabetes mellitus with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy; an observational study of 100 consecutive patients followed for a mean of 2 years. *Diabet.Med.* 2002;19(9):746–51.
66. Bode BW, Steed RD, Davidson PC. Reduction in severe hypoglycemia with long-term continuous subcutaneous insulin infusion in type I diabetes. *Diabetes Care.* 1996 Apr;19(4):324–7.
67. Hoogma RP, Spijker AJ, Doorn-Scheele M, van Doorn TT, Michels RP, van Doorn RG, et al. Quality of life and metabolic control in patients with diabetes mellitus type 1 treated by continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injections. *Neth.J.Med.* 2004 Nov;62(10):383–7.
68. Geddes J, Schopman JE, Zammitt NN, Frier BM. Prevalence of impaired awareness of hypoglycaemia in adults with Type 1 diabetes. *Diabet. Med.* 2008 Apr;25(4):501–4.

69. Davis SN, Mann S, Galassetti P, Neill RA, Tate D, Ertl AC, et al. Effects of differing durations of antecedent hypoglycemia on counterregulatory responses to subsequent hypoglycemia in normal humans. *Diabetes*. 2000 Nov;49(11):1897–903.
70. Heller SR, Cryer PE. Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes*. 1991 Feb;40(2):223–6.
71. Geddes J, Wright RJ, Zammitt NN, Deary IJ, Frier BM. An evaluation of methods of assessing impaired awareness of hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):1868–70.
72. Pedersen-Bjergaard U, Dhamrait SS, Sethi AA, Frandsen E, Nordestgaard BG, Montgomery HE, et al. Genetic variation and activity of the renin-angiotensin system and severe hypoglycemia in type 1 diabetes. *Am. J. Med.* 2008 Mar;121(3):246.e1–8.
73. Pedersen-Bjergaard U, Agerholm-Larsen B, Pramming S, Hougaard P, Thorsteinsson B. Activity of angiotensin-converting enzyme and risk of severe hypoglycaemia in type 1 diabetes mellitus. *Lancet*. 2001 Apr 21;357(9264):1248–53.
74. Schouwenberg BJ, Veldman BA, Spiering W, Coenen MJ, Franke B, Tack CJ, et al. The Arg16Gly variant of the beta2-adrenergic receptor predisposes to hypoglycemia unawareness in type 1 diabetes mellitus. *Pharmacogenet. Genomics*. 2008 Apr;18(4):369–72.
75. Schouwenberg BJJW, Smits P, Tack CJ, de Galan BE. The effect of antecedent hypoglycaemia on β_2 -adrenergic sensitivity in healthy participants with the Arg16Gly polymorphism of the β_2 -adrenergic receptor. *Diabetologia*. 2011 May;54(5):1212–8.
76. McAulay V, Deary IJ, Frier BM. Symptoms of hypoglycaemia in people with diabetes. *Diabet. Med.* 2001 Sep;18(9):690–705.
77. Chico A, Vidal-Rios P, Subira M, Novials A. The continuous glucose monitoring system is useful for detecting unrecognized hypoglycemias in patients with type 1 and type 2 diabetes but is not better than frequent capillary glucose measurements for improving metabolic control. *Diabetes Care*. 2003 Apr;26(4):1153–7.

78. Bode BW, Schwartz S, Stubbs HA, Block JE. Glycemic characteristics in continuously monitored patients with type 1 and type 2 diabetes: normative values. *Diabetes Care*. 2005 Oct;28(10):2361–6.
79. Pedersen-Bjergaard U, Høi-Hansen T, Thorsteinsson B. An evaluation of methods of assessing impaired awareness of hypoglycemia in type 1 diabetes: response to Geddes et al. *Diabetes Care*. 2007 Nov;30(11):e112; author reply e113.
80. Giannattasio C, Failla M, Grappiolo A, Gamba PL, Paleari F, Mancina G. Progression of large artery structural and functional alterations in Type I diabetes. *Diabetologia*. 2001 Feb;44(2):203–8.
81. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, et al. [Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort]. *Med Clin (Barc)*. 2005 Dec 3;125(20):770–4.
82. Giménez M, Gilabert R, Lara M, Conget I. Preclinical arterial disease in patients with type 1 diabetes without other major cardiovascular risk factors or micro-/macrovascular disease. *Diab Vasc Dis Res*. 2011 Jan;8(1):5–11.
83. Pomilio M, Mohn A, Verrotti A, Chiarelli F. Endothelial dysfunction in children with type 1 diabetes mellitus. *J.Pediatr.Endocrinol.Metab*. 2002 Apr;15(4):343–61.
84. Wiltshire EJ, Gent R, Hirte C, Pena A, Thomas DW, Couper JJ. Endothelial dysfunction relates to folate status in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2282–6.
85. Joyce M, Moore K, Thompson C, Fitzgerald P, Fennessy F, Kelly CJ, et al. Hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition improves endothelial dysfunction in type-1 diabetes. *Eur.J.Vasc.Endovasc.Surg*. 2004 Apr;27(4):432–7.
86. Jin SM, Noh CI, Yang SW, Bae EJ, Shin CH, Chung HR, et al. Endothelial dysfunction and microvascular complications in type 1 diabetes mellitus. *J.Korean Med.Sci*. 2008 Feb;23(1):77–82.
87. Bellien J, Costentin A, Dutheil-Maillochaud B, Iacob M, Kuhn JM, Thuillez C, et al. Early stage detection of conduit artery endothelial dysfunction in patients with type 1 diabetes. *Diab.Vasc.Dis.Res*. 2010 Apr;7(2):158–66.

88. Hurks R, Eisinger MJ, Goovaerts I, van Gaal L, Vrints C, Weyler J, et al. Early endothelial dysfunction in young type 1 diabetics. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009 May;37(5):611–5.
89. Sibal L, Aldibbiat A, Agarwal SC, Mitchell G, Oates C, Razvi S, et al. Circulating endothelial progenitor cells, endothelial function, carotid intima-media thickness and circulating markers of endothelial dysfunction in people with type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Diabetologia*. 2009 Aug;52(8):1464–73.
90. Colette C, Monnier L. Acute glucose fluctuations and chronic sustained hyperglycemia as risk factors for cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes. *Horm. Metab. Res*. 2007 Sep;39(9):683–6.
91. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol J-P, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. 2006 Apr 12;295(14):1681–7.
92. Raz I, Wilson PWF, Strojek K, Kowalska I, Bozikov V, Gitt AK, et al. Effects of prandial versus fasting glycemia on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: the HEART2D trial. *Diabetes Care*. 2009 Mar;32(3):381–6.
93. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. The effect of glucose variability on the risk of microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Jul;29(7):1486–90.
94. Gordin D, Rönnback M, Forsblom C, Heikkilä O, Saraheimo M, Groop P-H. Acute hyperglycaemia rapidly increases arterial stiffness in young patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2007 Sep;50(9):1808–14.
95. Gordin D, Forsblom C, Rönnback M, Groop P-H. Acute hyperglycaemia disturbs cardiac repolarization in Type 1 diabetes. *Diabet. Med*. 2008 Jan;25(1):101–5.
96. Gordin D, Forsblom C, Rönnback M, Parkkonen M, Wadén J, Hietala K, et al. Acute hyperglycaemia induces an inflammatory response in young patients with type 1 diabetes. *Ann. Med*. 2008;40(8):627–33.

97. Gordin D, Rönnback M, Forsblom C, Mäkinen V, Saraheimo M, Groop P-H. Glucose variability, blood pressure and arterial stiffness in type 1 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008 Jun;80(3):e4–7.
98. Wentholt IME, Kulik W, Michels RPJ, Hoekstra JBL, DeVries JH. Glucose fluctuations and activation of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2008 Jan;51(1):183–90.
99. Bolli GB. Hypoglycaemia unawareness. *Diabetes Metab.* 1997 Sep;23 Suppl 3:29–35.
100. Desouza C, Salazar H, Cheong B, Murgu J, Fonseca V. Association of hypoglycemia and cardiac ischemia: a study based on continuous monitoring. *Diabetes Care.* 2003 May;26(5):1485–9.
101. Gogitidze Joy N, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals. *Diabetes Care.* 2010 Jul;33(7):1529–35.
102. Wright RJ, Newby DE, Stirling D, Ludlam CA, Macdonald IA, Frier BM. Effects of acute insulin-induced hypoglycemia on indices of inflammation: putative mechanism for aggravating vascular disease in diabetes. *Diabetes Care.* 2010 Jul;33(7):1591–7.
103. Gill GV, Woodward A, Casson IF, Weston PJ. Cardiac arrhythmia and nocturnal hypoglycaemia in type 1 diabetes--the “dead in bed” syndrome revisited. *Diabetologia.* 2009 Jan;52(1):42–5.
104. DeRosa MA, Cryer PE. Hypoglycemia and the sympathoadrenal system: neurogenic symptoms are largely the result of sympathetic neural, rather than adrenomedullary, activation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004 Jul;287(1):E32–41.
105. Cryer PE. Hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001 Dec;281(6):E1115–1121.
106. Cryer PE, Davis SN, Shamoon H. Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care.* 2003 Jun;26(6):1902–12.

107. Giménez M, López JJ, Castell C, Conget I. Hypoglycaemia and cardiovascular disease in Type 1 Diabetes. Results from the Catalan National Public Health registry on insulin pump therapy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2012 May;96(2):e23–25.
108. Johnston SS, Conner C, Aagren M, Smith DM, Bouchard J, Brett J. Evidence linking hypoglycemic events to an increased risk of acute cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2011 May;34(5):1164–70.
109. Fanelli CG, Porcellati F, Pampanelli S, Bolli GB. Insulin therapy and hypoglycaemia: the size of the problem. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2004 Dec;20 Suppl 2:S32–42.
110. Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F, et al. Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes.* 1993 Nov;42(11):1683–9.
111. Hermanns N, Kulzer B, Kubiak T, Krichbaum M, Haak T. The effect of an education programme (HyPOS) to treat hypoglycaemia problems in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2007 Oct;23(7):528–38.
112. Pampanelli S, Fanelli C, Lalli C, Ciofetta M, Sindaco PD, Lepore M, et al. Long-term intensive insulin therapy in IDDM: effects on HbA1c, risk for severe and mild hypoglycaemia, status of counterregulation and awareness of hypoglycaemia. *Diabetologia.* 1996 Jun;39(6):677–86.
113. Bott S, Bott U, Berger M, Mühlhauser I. Intensified insulin therapy and the risk of severe hypoglycaemia. *Diabetologia.* 1997 Aug;40(8):926–32.
114. Schiaffini R, Ciampalini P, Fierabracci A, Spera S, Borrelli P, Bottazzo GF, et al. The Continuous Glucose Monitoring System (CGMS) in type 1 diabetic children is the way to reduce hypoglycemic risk. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2002 Aug;18(4):324–9.
115. Amiel S. Reversal of unawareness of hypoglycemia. *N. Engl. J. Med.* 1993 Sep 16;329(12):876–7.

116. Pickup JC, Sutton AJ. Severe hypoglycaemia and glycaemic control in Type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabet.Med.* 2008 Jul;25(7):765–74.
117. Tamborlane WV, Beck RW, Bode BW, Buckingham B, Chase HP, Clemons R, et al. Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *N.Engl.J.Med.* 2008 Oct 2;359(14):1464–76.
118. Nicolucci A, Maione A, Franciosi M, Amoretti R, Busetto E, Capani F, et al. Quality of life and treatment satisfaction in adults with Type 1 diabetes: a comparison between continuous subcutaneous insulin infusion and multiple daily injections. *Diabet.Med.* 2008 Feb;25(2):213–20.
119. Fatourehchi MM, Kudva YC, Murad MH, Elamin MB, Tabini CC, Montori VM. Clinical review: Hypoglycemia with intensive insulin therapy: a systematic review and meta-analyses of randomized trials of continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009 Mar;94(3):729–40.
120. Leitão CB, Tharavanij T, Cure P, Pileggi A, Baidal DA, Ricordi C, et al. Restoration of hypoglycemia awareness after islet transplantation. *Diabetes Care.* 2008 Nov;31(11):2113–5.
121. Conget I, Jansá M, Vidal M, Vidal J, Manzanares JM, Gomis R. Effects of an individual intensive educational control program for insulin-dependent diabetic subjects with poor metabolic control. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1995 Mar;27(3):189–92.