

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIABILIDAD
GLUCÉMICA Y DE LA TERAPIA CON BOMBAS DE
INFUSIÓN CONTINUA DE INSULINA SOBRE EL
ESTADO OXIDATIVO E INFLAMATORIO EN DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

Autora: Raquel Guerrero Vázquez

Directores:

Domingo Acosta Delgado

María Asunción Martínez-Brocca

Federico Relimpio Astolfi

Sevilla, 2011

D. DOMINGO ACOSTA DELGADO, Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y Facultativo Especialista de Área de Endocrinología y Nutrición, D^a MARÍA ASUNCIÓN MARTÍNEZ-BROCCA, Facultativo Especialista de Área de Endocrinología y Nutrición y D. FEDERICO RELIMPIO ASTOLFI, Facultativo Especialista de Área de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Virgen del Rocío,

CERTIFICAN:

QUE D^a RAQUEL GUERRERO VÁZQUEZ ha realizado bajo nuestra dirección la Tesis Doctoral titulada “ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIABILIDAD GLUCÉMICA Y DE LA TERAPIA CON BOMBAS DE INFUSIÓN CONTINUA DE INSULINA SOBRE EL ESTADO OXIDATIVO E INFLAMATORIO EN DIABETES MELLITUS TIPO 1”.

Que mencionado trabajo reúne a nuestro juicio las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor, por lo que, una vez revisado, damos la conformidad para su presentación y defensa pública.

Para que conste donde proceda y, a instancia de la interesada, firmamos el presente certificado en Sevilla, a 20 de junio de 2011.

Firmado: D. Domingo Acosta Delgado

Firmado: D^a María Asunción Martínez-Brocca

Firmado: D. Federico Relimpio Astolfi

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Domingo Acosta Delgado, María Asunción Martínez-Brocca y Federico Relimpio Astolfi por haberme dirigido la Tesis Doctoral.

A Marieta, por su apoyo y ayuda profesional en la elaboración de la Tesis.

A los Doctores Elena Navarro González, Alfonso Soto Moreno y Fernando Villamil Fernández, por haber confiado en mí y darme la oportunidad de iniciar mi desarrollo profesional con éste y otros proyectos durante estos años en la Unidad de Gestión de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Virgen del Rocío.

A todas las enfermeras de la Unidad de Día de Diabetes del Hospital Virgen del Rocío, por haber colaborado intensamente y de forma desinteresada en este proyecto.

Al Servicio de Bioquímica del Hospital Virgen del Rocío, por su ayuda en las determinaciones de los parámetros de estrés oxidativo e inflamatorio.

A mi familia

ÍNDICE

1- INTRODUCCIÓN	1
1.1- DIABETES MELLITUS TIPO 1	2
1.1.1- Concepto y fisiopatología.....	2
1.1.2- Diagnóstico.....	2
1.1.3- Epidemiología	2
1.1.4- Diabetes mellitus tipo 1 y riesgo micro y macrovascular	3
1.2- TRATAMIENTO INSULÍNICO EN DIABETES MELLITUS TIPO 1.....	4
1.2.1- Concepto de optimización e intensificación del tratamiento insulínico.....	4
1.2.2- Terapia multidosis de insulina. Régimen bolo-basal	4
1.2.2.1- Análogos de insulina de acción rápida y retardada.....	4
1.2.3- Terapia con sistemas de infusión continua de insulina (ISCI).....	6
1.2.3.1- Terapia con sistemas de infusión continua de insulina frente a la terapia multidosis.....	7
1.2.3.1.1- ISCI y control glucémico	7
1.2.3.1.2- ISCI y riesgo de hipoglucemias.....	8
1.2.3.1.3- ISCI y riesgo de cetoacidosis diabética.....	8
1.2.3.1.4- ISCI y calidad de vida	9
1.2.3.2- Indicaciones y limitaciones de ISCI.....	9
1.2.3.3- Indicaciones de ISCI en Andalucía	10
1.2.3.4- Utilización de ISCI en España y en Andalucía.....	10
1.2.3.5- Terapia con ISCI y complicaciones macro y microvasculares.....	11
1.3- MONITORIZACIÓN DEL CONTROL GLUCÉMICO	11
1.3.1- Objetivos de control glucémico.....	11
1.3.2- Sistemas de monitorización de la glucosa: automonitorización de glucemia capilar y sistemas de monitorización continua	12

1.3.3- El sistema de monitorización continua de glucosa CGMS®	13
1.3.3.1-Utilidad y limitaciones de los SMCG en el manejo de la diabetes mellitus tipo 1	15
1.4- VARIABILIDAD GLUCÉMICA	16
1.4.1- Concepto de variabilidad glucémica	17
1.4.2- Utilidad de los SMCG como sistemas de registro glucémico en el cálculo de medidas de variabilidad glucémica.....	18
1.4.2.1- Desviación estándar de la media, coeficiente de variación y rango intercuartílico.....	18
1.4.2.2- Índice MAGE	19
1.4.2.3- Valor M, media de las diferencias diarias y variación glucémica respecto de la normalidad	19
1.4.2.4- Índice de labilidad	20
1.4.2.5- Medidas de predicción de excursiones glucémicas y valores extremos: ADRR y GRADE	20
1.4.2.6- Excursiones glucémica por encima y por debajo de rango	21
1.4.2.7- Otros métodos de medición de variabilidad (CONGA)	21
1.4.3- ISCI y variabilidad glucémica.....	21
1.5- ESTRÉS OXIDATIVO	22
1.5.1- Concepto de estrés oxidativo y daño oxidativo.....	22
1.5.2- Especies reactivas de oxígeno y radicales libres.....	23
1.5.3- Sistemas de antioxidación: mecanismos de defensa antioxidante	24
1.5.3.1- Defensas antioxidantes intracelulares	24
1.5.3.2- Defensas antioxidantes intramembrana.....	25
1.5.3.3- Defensas antioxidantes extracelulares.....	25

1.5.4- Métodos de medición de EO	27
1.5.4.1- Métodos indirectos	28
1.5.4.2- Métodos directos	28
1.5.5- Hiperglucemia e inducción de estrés oxidativo.....	30
1.6- IMPORTANCIA DEL EO EN LA PATOGÉNESIS DE LAS COMPLICACIONES DIABÉTICAS	31
1.6.1- Estrés oxidativo y complicaciones microvasculares	31
1.6.2- Estrés oxidativo y disfunción endotelial	35
1.6.3- Estrés oxidativo y diabetes mellitus tipo 1: estudios <i>in vivo</i>	37
1.7- PAPEL DE LA INFLAMACIÓN CRÓNICA EN EL PROCESO ATEROSCLERÓTICO	38
1.7.1- Inflamación y aterosclerosis.....	38
1.7.2- Marcadores sistémicos de inflamación de bajo grado.....	38
1.7.2.1- Proteína C reactiva ultrasensible	38
1.7.2.1.1- PCRus como mediador de enfermedad aterosclerótica.....	39
1.7.2.1.2- PCRus como biomarcador de enfermedad aterosclerótica	40
1.7.2.2- Citoquinas proinflamatorias	41
1.7.3- Inflamación, estrés oxidativo y proceso aterosclerótico	42
1.7.4- Hiperglucemia, inflamación, estrés oxidativo y aterosclerosis.....	44
1.7.5- Inflamación en diabetes mellitus tipo 1.....	44
1.7.5.1-PCR en DM 1: asociación con complicaciones microvasculares y macrovasculares.....	45
1.8- VARIABILIDAD GLUCÉMICA E INDUCCIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO E INFLAMACIÓN	46
1.8.1- Estudios <i>in vitro</i> y modelos animales.....	47

1.8.2- Estudios <i>in vivo</i>	48
1.8.2.1- Hiperglucemia postprandial y riesgo cardiovascular	48
1.8.3-Variabilidad glucémica y su implicación potencial en el desarrollo de complicaciones en diabetes mellitus tipo 1	50
2- HIPÓTESIS	51
3- OBJETIVOS	53
3.1- Objetivos principales.....	54
3.2- Objetivos secundarios	54
4- METODOLOGÍA.....	55
4.1- Diseño.....	56
4.2- Sujetos de estudio.....	56
4.3- Criterios de inclusión y exclusión	57
4.4- Diseño del trabajo: planificación de las visitas y seguimiento.....	58
4.5 - Protocolo de actuación antes, durante y tras la instauración de ISCI.....	61
4.6- Objetivos de control glucémico durante el seguimiento	62
4.7 - Educación diabetológica y autocontroles de glucemia capilar.....	63
4.8- Sistema de monitorización continua de glucosa	64
4.9- Variables.....	66
4.9.1- Variables clínicas	66
4.9.2- Variables de control y variabilidad glucémica	68
4.9.3- Grado de satisfacción con el tratamiento	68
4.9.4-VARIABLES bioquímicas. Métodos de valoración	69

4.9.5- Sistemas de antioxidación y marcadores de inflamación. Métodos de valoración	69
4.10- Análisis estadístico	71
4.10.1- Análisis descriptivo	71
4.10.2- Comparación entre muestras	71
4.10.3- Relación entre variables	72
4.11- Métodos de obtención bibliográfica	72
5- RESULTADOS	73
5.1- Características basales de la población de estudio	74
5.2- Indicaciones de tratamiento con ISCI	75
5.3- Características clínicas, antropométricas y bioquímicas del grupo TISCI pre-ISCI y post-ISCI	76
5.4- Variables de control glucémico pre-ISCI y post-ISCI. Evolución a lo largo del seguimiento.....	79
5.5- Evolución del control glucémico en función de la indicación de ISCI.....	80
5.6- ISCI y variabilidad glucémica.....	80
5.7- Monitorización continua de glucosa pre-ISCI y post-ISCI.....	81
5.8- Cuestionario satisfacción con el tratamiento pre-ISCI y post-ISCI	85
5.9- Parámetros de estrés oxidativo	86
5.9.1- Ácido úrico	87
5.9.2- Relación entre parámetros de estrés oxidativo	88
5.10- Parámetros de inflamación: PCRus.....	88
5.10.1- Factores influyentes en los niveles de PCRus.....	89
5.10.2- Variables relacionadas con PCRus.....	90

5.11- Relación entre parámetros de EO, marcadores de control metabólico y variabilidad glucémica.....	90
5.12- Relación entre parámetros de inflamación y parámetros de control de la diabetes.....	90
5.13- Relaciones entre parámetros de EO e inflamatorios	91
6- DISCUSIÓN	92
6.1- ISCI	93
6.1.1- ISCI y control glucémico	93
6.1.2- ISCI y variabilidad glucémica.....	96
6.1.3- ISCI y eventos hipoglucémicos.....	100
6.1.4- ISCI y grado de satisfacción con el tratamiento.....	101
6.2- SISTEMAS DE MONITORIZACIÓN CONTINUA DE GLUCEMIA	101
6.2.1- Monitorización continua de glucemia y control glucémico	102
6.2.2- Limitaciones del uso y la información aportada por CGMS®	104
6.3- ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES MELLITUS	107
6.3.1- Sistemas de antioxidación intracelulares: SOD y catalasa.....	108
6.3.2- Sistemas de antioxidación intramembrana: vitamina E	110
6.3.3-Sistemas de antioxidación extracelulares: ácido úrico y capacidad antioxidante total del plasma	111
6.3.4- Productos finales de la lipoperoxidación lipídica: Malondialdehído	115
6.3.5- Relación de los parámetros de estrés oxidativo con la hiperglucemia.....	117
6.3.6- Relación de los parámetros de estrés oxidativo con el grado de control glucémico.....	118
6.3.7- Variabilidad glucémica y estrés oxidativo	120

6.4- INFLAMACIÓN Y DIABETES MELLITUS	127
6.4.1- PCRus y control glucémico	128
6.4.2- PCRus y variabilidad glucémica	130
6.4.3- PCRus y complicaciones microvasculares	131
6.4.4- PCRus y riesgo cardiovascular en DM tipo 1	132
6.4.5- PCRus y tratamiento farmacológico	134
6.5- RELACIÓN ENTRE HIPERGLUCEMIA, EO E INFLAMACIÓN	134
7- CONCLUSIONES	136
8- BIBLIOGRAFÍA	138
9- LISTADO DE ABREVIATURAS.....	180
10- ANEXOS	184

INTRODUCCIÓN

1- INTRODUCCIÓN

1.1- DIABETES MELLITUS TIPO 1

1.1.1- Concepto y fisiopatología

La diabetes mellitus tipo 1 (DM 1) es una enfermedad metabólica y sistémica originada por la hiperglucemia crónica, consecuencia de la insulinopenia resultante de una destrucción selectiva de las células beta del islote pancreático mediada por una respuesta autoinmune (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2008).

1.1.2- Diagnóstico

La DM 1 puede presentarse a cualquier edad. Habitualmente se trata de individuos no obesos, menores de 30 años y con frecuencia se presenta con un inicio abrupto de signos y síntomas de insulinopenia. El diagnóstico bioquímico se basa en la detección de hiperglucemia, asociado habitualmente a anticuerpos frente a diversos componentes de las células beta de los islotes pancreáticos y valores de péptido C por debajo del límite inferior de la normalidad o indetectables (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2008; American Diabetes Association, Diabetes Care, 2003).

1.1.3- Epidemiología

La DM 1 representa del 5 al 10 % de todos los casos de diabetes. Su incidencia mundial, ajustada por la edad, varía entre distintas poblaciones con claras diferencias entre el hemisferio norte y el sur: de 0,1 casos /100.000 habitantes/año en la región Zunyi (China) a 40 casos /100.000 habitantes /año en Finlandia (Atkinson MA, Lancet, 2001).

La incidencia de esta enfermedad está aumentando en casi todas las poblaciones, con un particular aumento en aquellos países de baja incidencia. El estudio EURODIAB, que representa a la mayoría de los países de Europa e Israel, muestra un incremento en la tasa anual de la incidencia de DM 1 del 3-4 %, siendo mayor en países de Europa central y del este (EURODIAB ACE Study Group, Lancet, 2000).

Las estimaciones de incidencia existentes en España apuntan a 10 a 15 casos por 100.000 habitantes y año en la población menor de 15 años (Soriano-Perera P, Endocrinología y Nutrición, 2007). En Andalucía, datos procedentes de la provincia de Málaga, reflejan una tasa de incidencia de 16,3 casos por 100.000 personas /año, con un incremento anual del 3,8 % (López Sigüero JP, An Esp Ped, 1997; Aguilar Diosdado M, II Plan Integral de Diabetes de Andalucía (2009-2013)).

1.1.4- Diabetes mellitus tipo 1 y riesgo micro y macrovascular

El estudio de intervención *Diabetes Control and Complications Trial Research Group* (DCCT) demostró que el control glucémico a largo plazo en la DM tipo 1 era un predictor importante del desarrollo de complicaciones microvasculares (DCCT, N Engl J Med, 1993) y macrovasculares en su cohorte de seguimiento de complicaciones (DCCT-EDIC Study Research Group, N Engl J Med, 2005). El DCCT es el primer ensayo clínico que demostró fehacientemente que el tratamiento intensivo (entendido como tres o más pinchazos al día de insulina o terapia con bomba de insulina, autocontroles de glucemia capilar para ajuste del tratamiento con el objetivo de alcanzar cifras cercanas a la normoglucesmia, y un programa de dieta y ejercicio físico) frente al tratamiento convencional (uno o dos pinchazos diarios de insulina sin necesidad de autocontroles ni autoajuste de insulina y un programa de dieta y ejercicio físico) mejoraba el control glucémico de los diabéticos tipo 1 consiguiendo retrasar la aparición de las complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatía y neuropatía) o enlenteciendo la evolución de éstas (DCCT, N Engl J Med, 1993).

La relación entre la hiperglucemia y enfermedad cardiovascular en pacientes diabéticos tipo 1 ha sido sugerida en diferentes estudios observacionales (Lehto S, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999), conociéndose que la DM 1 asocia un exceso de riesgo de enfermedad coronaria de cuatro a diez veces (Laing SP, Diabetologia, 2003; Swerdlow AJ, Int J Epidemiol, 1996). El seguimiento durante 17 años de la cohorte inicial del DCCT (DCCT-EDIC Study Research Group, N Engl J Med, 2005) demostró que el tratamiento intensivo reducía el riesgo de aparición de enfermedad cardiovascular y que las diferencias en los valores de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) entre el grupo tratamiento intensivo y convencional obtenidos durante el DCCT estaban involucradas en el beneficio cardiovascular observado en el grupo de tratamiento intensivo.

1.2- TRATAMIENTO INSULÍNICO EN DIABETES MELLITUS TIPO 1

1.2.1- Concepto de optimización e intensificación del tratamiento insulínico

La optimización del control glucémico y la intensificación del tratamiento en la diabetes tipo 1 se consigue en la actualidad con terapia multidosis de insulina subcutánea (TM) en régimen bolo-basal o con sistemas de infusión continua de insulina (ISCI), además de otras medidas esenciales que incluyen: la automonitorización de la glucemia capilar para el ajuste de la dosis de insulina en función de los resultados de los autocontroles y la dieta, la terapia médica nutricional, la actividad física programada, la inclusión en un programa de educación diabetológica que permita al paciente el manejo diario de su patología y el acceso y atención frecuente por parte de un equipo de profesionales sanitarios (DCCT, N Engl J Med, 1993).

1.2.2- Terapia multidosis de insulina. Régimen bolo-basal

La terapia multidosis requiere la administración subcutánea en bolos preprandiales con insulina de acción rápida e insulina de acción intermedia o retardada una o dos veces al día. El denominado régimen bolo-basal intenta imitar de forma fisiológica la secreción de insulina por parte de la célula beta. Esta forma de administración de la insulina se basa en la utilización de insulina prandial (insulina regular, lispro, aspártica o glulisina) de forma separada a la insulina basal (insulina isofánica NPH (Neutral Protamine Hagedorn), NPL (Neutral Protamine Lispro), glargina o determir) permitiendo una mayor flexibilidad respecto a los regímenes convencionales que impedían variar los horarios de comidas y exigían comidas entre horas para evitar las hipoglucemias como consecuencia de la superposición de los picos de acción de las insulinas. Esta forma de tratamiento requiere un mayor número de inyecciones de insulina y una educación diabetológica basada en estrategias más complejas para su correcto manejo (DeWitt DE, JAMA, 2003).

1.2.2.1- Análogos de insulina de acción rápida y retardada

En el tratamiento de la DM 1 la aparición de los análogos de insulina supuso un avance en la terapia y aportó ventajas farmacocinéticas, farmacodinámicas y clínicas

respecto a las insulinas utilizadas previamente. La introducción de los análogos de acción rápida, con una absorción más rápida al disociarse los hexámeros precozmente en el tejido subcutáneo, permitió disponer de insulinas con un perfil farmacocinético más favorable como insulina prandial que la insulina regular humana (Mooradian AD, *Ann Intern Med*, 2006). El pico de acción más precoz y mayor conseguido con los análogos de acción rápida permite teóricamente un mejor control glucémico postprandial que el obtenido con las insulinas humanas (Torlone E, *Diabetes Care*, 1996). Además de poder reducir los picos de glucemia postprandial, los análogos aportan otras ventajas teóricas como el reducir el riesgo de hipoglucemias postprandiales y una mayor flexibilidad a la hora de las comidas (Bolli GB, *Av Diabetol*, 2007; Home PD, *Diabetes Care*, 1998).

Los análogos de insulina de acción retardada glargina y detemir comparten, respecto a la insulina NPH, la posibilidad de obtener perfiles glucémicos más estables y predecibles, con una menor variabilidad farmacocinética intraindividual (Porcellati F, *Diabetes Care*, 2007), traducándose esto en una reducción de la tasa de hipoglucemias nocturnas con mejoras variables en el control glucémico global (Mooradian AD, *Ann Intern Med*, 2006; Hermansen K, *Diabetologia*, 2004; Porcellati F, *Diabet Med*, 2004; Vague P, *Diabetes Care*, 2003).

La comparación en ensayos clínicos de regímenes de TM con análogos de insulina de acción retardada y rápida frente a aquéllos con insulina NPH y regular consigue una reducción de la incidencia de hipoglucemias nocturnas y de la glucemia postprandial a las 2 horas, sin obtenerse diferencias significativas en términos de reducción de la HbA_{1c} en algunos estudios a corto plazo (Murphy NP, *Diabetes Care*, 2003). Otros ensayos clínicos sí encuentran, además de la reducción de la tasa de hipoglucemias y de la glucemia postprandial, mejoría del control glucémico con la utilización de análogos en TM frente a la combinación de la insulina NPH junto con insulina regular (Ashwell SG, *Diabet Med*, 2006; Hermansen K, *Diabetologia*, 2004). A pesar de algunos de los beneficios demostrados de los análogos de insulina frente a otros tipos de insulinas no hay suficiente nivel de evidencia de que los regímenes que utilizan estos análogos reduzcan la frecuencia de hipoglucemias severas ni mejoren el control glucémico global (Pascual de la Pisa B, *Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía*, 2008; Russell-Jones D, *Clin Ther*, 2004; Raskin IB, *Diabetes Care*, 2000).

El régimen insulínico intensivo con análogos no constituye la solución definitiva en la DM 1, ya que conlleva también un riesgo de hipoglucemias y una elevada variabilidad

glucémica que se traduce en perfiles de glucemia frecuentemente impredecibles en esta enfermedad. Aunque la aparición de análogos de insulina ha disminuido considerablemente estas complicaciones, las variaciones glucémicas intraindividuales y su máxima expresión clínica la inestabilidad glucémica y la diabetes inestable siguen siendo problemas habituales en los pacientes diabéticos tipo 1 sometidos a un régimen multidosis. En un grupo seleccionado de diabéticos tipo 1 en los que la TM con análogos no permite conseguir los objetivos de control glucémico, presentan hipoglucemias incapacitantes o inestabilidad glucémica e importante variabilidad, la utilización de ISCI puede aportar un beneficio adicional en términos de mejoría del control y reducción de la variabilidad glucémica.

1.2.3- Terapia con sistemas de infusión continua de insulina (ISCI)

Los sistemas de infusión continua de insulina (ISCI) son dispositivos electromecánicos portátiles de pequeño tamaño que permiten infundir insulina de forma continua en el tejido subcutáneo. Este dispositivo está alimentado por una batería y permite la administración de insulina desde un reservorio a un ritmo programable. La insulina fluye desde la bomba a través de un catéter flexible a la cánula insertada en el tejido subcutáneo, habitualmente a nivel abdominal.

Los ISCI intentan simular un perfil insulinémico más parecido al fisiológico e imitar el funcionamiento del páncreas mejor que la terapia multidosis, mediante la infusión de insulina de acción rápida soluble a través de un flujo continuo programable a lo largo del día (línea basal o perfusión basal) y la administración de bolos de insulina preprandial (bolos preprandiales) que permiten controlar las excursiones glucémicas postprandiales (Grupo de trabajo de Nuevas Tecnologías de la Sociedad Española de Diabetes. Nuevas tecnologías en el seguimiento y control del paciente diabético, 2007). El hecho de utilizar sólo insulina de acción rápida (insulina regular o análogos de insulina rápida), cuya variabilidad de absorción es inferior al 3 %, y que el ritmo de infusión basal sea programable, son los dos principios en los que se basan las ventajas teóricas de este sistema respecto a la TM (Acosta Delgado D, Av Diabetol, 2005).

1.2.3.1- Terapia con sistemas de infusión continua de insulina frente a la terapia multidosis

1.2.3.1.1- ISCI y control glucémico

Un meta-análisis de 52 ensayos que compara el tratamiento con ISCI en diabetes mellitus tipo 1 frente a otro tipo de terapia insulínica (incluyéndose en este meta-análisis trabajos con TM o convencional) concluyó que el tratamiento con ISCI reducía la HbA_{1c} 0,95 % (IC 95% 0,8-1,1) frente a las otras terapias consideradas conjuntamente y que la diferencia en HbA_{1c} pre y post-tratamiento con ISCI (en estudios antes-después) era de $9,36 \pm 0,22$ % y $8,96 \pm 0,11$ %, respectivamente (Weissberg-Benchell J, Diabetes Care, 2003). Por otro lado, la duración del tratamiento con ISCI también influyó en la obtención de un mejor control glucémico; así, en aquellos estudios que incluían a pacientes con duración de ISCI inferior a un año no se observaron diferencias en términos de reducción de HbA_{1c} antes y después, pero sí en aquellos en los que el tratamiento con ISCI era superior a un año. Otros efectos asociados a ISCI descritos en este meta-análisis fueron: reducción de los requerimientos de insulina expresados tanto en unidades totales diarias (UI) como en unidades por kilogramo (kg) de peso (UI/kg) y efectos variables respecto al peso cuando se comparaba frente a otro tipo de tratamientos, con incremento de éste en los estudios que comparaban el peso antes y después del inicio de ISCI (Weissberg-Benchell J, Diabetes Care, 2003). Este incremento de peso asociado a ISCI no se confirmó en estudios posteriores (Jeitler K, Diabetologia, 2008; Hirsch IB, Diabetes Care, 2005).

Otro meta-análisis de 12 ensayos clínicos, que compara TM frente a ISCI, confirma que la terapia con ISCI aporta una mejoría del control glucémico (diferencia media de HbA_{1c} estandarizada 0,56 % (IC 95% 0,35-0,77)) con menores requerimientos de insulina (Pickup J, Br Med J, 2002). Sin embargo, parece que las diferencias en los requerimientos de insulina que se observaron inicialmente entre ambos tratamientos no se mantienen en los estudios a largo plazo (Nacional Institute for Clinical Excellence, Guidance on the use of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes, 2003). Datos procedentes de meta-análisis y ensayos clínicos más recientes encuentran diferencias inferiores a las descritas previamente (Jeitler K, Diabetologia, 2008; Hoogma RP, Diabet Med, 2006) o incluso ausencia de diferencias en el grado de control

glucémico (Retnakaran R, Diabetes Care, 2004) en términos de control glucémico cuando se compara ISCI respecto a TM con análogos de insulina preprandial y/o basal.

1.2.3.1.2- ISCI y riesgo de hipoglucemias

Inicialmente se relacionó la terapia con ISCI con un aumento del número de hipoglucemias severas, a raíz de algunos episodios descritos de coma hipoglucémico con ISCI (Locke DR, Diabetes Care, 1981) y tras la publicación del DCCT en el que se encontró que la tasa de hipoglucemias severas en pacientes con ISCI era 2,8 veces más frecuente que los tratados con terapia convencional (DCCT, N Engl J Med, 1993). Diversos trabajos publicados posteriormente indican que la terapia con ISCI puede reducir la tasa de hipoglucemias leves y severas frente a la TM tanto en poblaciones de niños y adolescentes (Boland EA, Diabetes Care, 1999) como en adultos (Pickup JC, Diabetes Metab Res Rev, 2006; Hoogma RP, Diabet Med, 2006; Weissberg-Benchell J, Diabetes Care, 2003). Sin embargo, la reducción de la tasa de eventos hipoglucémicos leves y moderados con ISCI no ha sido confirmado en todos los estudios (Jeitler K, Diabetologia, 2008). En relación a la reducción de la tasas de hipoglucemias severas con ISCI, los datos extraídos de un meta-análisis publicado en 2008 que analiza ensayos clínicos y estudios cuasi-experimentales, apuntan hacia que ISCI reduce la tasa de hipoglucemias severas frente a la TM (cociente de tasa 2,89 [IC 95% 1,45-5,76], considerando sólo el análisis de los datos procedentes de ensayos clínicos), siendo la diferencia entre ambos tipos de tratamiento superior en aquellos diabéticos con una mayor incidencia de eventos hipoglucémicos severos en TM (Pickup JC, Diabet Med, 2008).

1.2.3.1.3- ISCI y riesgo de cetoacidosis diabética

Al igual que sucedió con la asociación entre ISCI y el riesgo de hipoglucemias, al principio se implicó a esta terapia con la aparición de un exceso de episodios de cetoacidosis diabética (Knight G, Br Med J, 1985; Mecklenburg RS, JAMA, 1984).

Los pacientes con ISCI tienen un depósito subcutáneo de insulina muy inferior al de aquéllos con inyecciones de insulina por lo que la cetosis se puede desarrollar más rápidamente. Esto, junto con la poca experiencia inicial en el manejo de estos sistemas por parte de los profesionales sanitarios y aparatos menos sofisticados tecnológicamente

a los actuales influyó en que se relacionara a los ISCI con esta complicación. Sin embargo, la mayoría de los trabajos publicados con posterioridad demuestran que con una adecuada educación diabetológica y conocimientos sobre el manejo técnico de la bomba, la incidencia de cetoacidosis es similar en ambos tipos de tratamientos (Pickup JC, Diabetes Care, 2002) por lo que no existe evidencia actual para asociar esta terapia con un aumento del riesgo de esta complicación aguda (Jeitler K, Diabetologia, 2008; Weissberg-Benchell J, Diabetes Care, 2003).

1.2.3.1.4- ISCI y calidad de vida

La terapia con ISCI se ha relacionado con una mejoría en cuestionarios validados que miden calidad de vida (cuestionarios *DQoL*, *DQoLY*) y grado de satisfacción con el tratamiento (cuestionario *DTSQ*). Los cuestionarios más utilizados en la literatura han sido el *DQoL*, *DQoLY* y *DTSQ*. El cuestionario *DQoL* evalúa la satisfacción con el tratamiento, el impacto de éste y las preocupaciones relacionadas con la enfermedad (*Diabetes Quality of Life Measure*, Diabetes Care, 1988). El cuestionario *DQoLY* aborda, además de los ítems anteriores, aspectos relacionados con la depresión (Ingersoll GM, Diabetes Educator, 1991). El *DTSQ* evalúa fundamentalmente aspectos relacionados con el grado de satisfacción con el tratamiento (Bradley C, *Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire (DTSQ)*, 1994).

La terapia con ISCI parece aportar un sustancial impacto en el bienestar de los pacientes y seguridad del tratamiento en estudios observacionales de población adulta (Linkeschova R, Diabet Med, 2002), cuasi-experimentales en niños y adolescentes (McMahon SK, Diabet Med, 2005), ensayos clínicos multicéntricos (Hoogma RP, Diabet Med, 2006) o revisiones sistemáticas (Misso ML, Cochrane Database Syst Rev, 2010). Sin embargo, no existe una suficiente evidencia científica que ratifique que la terapia con ISCI mejora de forma significativa y global la calidad de vida de esta población (Barnard KD, Diabet Med, 2007).

1.2.3.2- Indicaciones y limitaciones de ISCI

Pese a las ventajas que puede aportar a los DM 1 el tratamiento con ISCI, no todos necesitan ser tratados ni se van a beneficiar de este tipo de terapia, ya que son precisos unos prerrequisitos dependientes de las características de los pacientes antes de

su colocación. Como cualquier otro tratamiento, el uso de infusores de insulina tiene sus indicaciones, contraindicaciones y limitaciones. La selección adecuada de los pacientes es un elemento indispensable para que esta opción terapéutica tenga éxito.

Los requisitos mínimos que se consideran deben cumplir los pacientes candidatos a ISCI son: la capacidad para aprender el manejo de la herramienta, su previa adherencia al tratamiento con realización frecuente de autocontroles de glucemia capilar, el poseer conocimientos sobre la enfermedad, estar motivados para mejorar su control y el no haber conseguido buenos resultados a pesar de la intensificación del tratamiento con TM y un programa de educación diabetológica avanzada (Acosta D, Av Diabetol, 2005; Pickup JC, Diabetes Care, 2002).

Hay determinadas situaciones que se consideran contraindicaciones para ISCI como: la evidencia de escasa adherencia al tratamiento y seguimiento reglado, la incapacidad física para adquirir habilidades manuales y de aprendizaje del manejo de la diabetes o para seguir el plan terapéutico diseñado y la existencia de comorbilidad psiquiátrica (depresión severa, intentos de suicidio y trastornos del comportamiento alimentario) o consumo de alcohol (Rodriguez IA, Diabet Med, 2005; Nacional Institute for Clinical Excellence, Guidance on the use of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes, 2003; Pickup JC, Diabetes Care, 2002).

1.2.3.3- Indicaciones de ISCI en Andalucía

Asumiendo los requisitos mínimos que deben cumplir los DM 1 candidatos a ISCI, en Andalucía y de acuerdo con los criterios establecidos por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía, la terapia con ISCI se oferta en las siguientes situaciones clínicas: embarazo y su programación, mal control metabólico a pesar del tratamiento optimizado y la colaboración del paciente, diabetes inestable, inestabilidad glucémica, hipoglucemias frecuentes, limitantes e inadvertidas y/o hiperglucemia basal de difícil control no resueltos a pesar de optimización de régimen multidosis (**Anexo 1**).

1.2.3.4- Utilización de ISCI en España y en Andalucía

En España, en una encuesta realizada en las diferentes comunidades autónomas, se estimó que en el año 2006 había un total de 1.627 DM tipo 1 en terapia con ISCI (1.509 adultos y 118 niños), lo que supone un 0,79 % de los aproximadamente 200.000

DM tipo 1 estimados en España. La distribución de su utilización era heterogénea, ya que el porcentaje de DM tipo 1 en tratamiento con ISCI oscilaba entre el 0,06 y 1,77 % entre las diferentes comunidades autónomas. Esta frecuencia de utilización era similar a la encontrada en otros países Europeos como Reino Unido o Dinamarca aunque inferior a muchos de ellos como Alemania, Holanda o Suecia, países en los que el 10 % de los DM tipo 1 están tratados con ISCI (Chico A, Av Diabetol, 2007).

En Andalucía, según la actividad recogida en el registro de tratamiento con bombas de infusión continua de insulina hasta mayo de 2010, había un total de 832 tratamientos con ISCI autorizados, 759 de ellos activos y 63 finalizados. Las indicaciones principales de su colocación fueron la diabetes inestable o la inestabilidad glucémica con un total de 398 casos (33 %) y el mal control metabólico con 377 casos (30 %) (Registro de tratamiento con bombas de infusión continua de insulina. Actividad a fecha de 31 de mayo de 2010).

1.2.3.5- Terapia con ISCI y complicaciones macro y microvasculares

Hasta la fecha, no existen estudios de intervención que evalúen si la terapia con ISCI es superior a la TM en la aparición o en el retraso del desarrollo de complicaciones micro o macroangiopáticas. Si la terapia con ISCI mejora el control glucémico a largo plazo en grupos seleccionados de pacientes en los que no se alcanzan objetivos con TM pese a la optimización del tratamiento, cabrá esperar en ellos un menor impacto de las complicaciones de la diabetes, especialmente microvasculares.

1.3- MONITORIZACIÓN DEL CONTROL GLUCÉMICO

1.3.1- Objetivos de control glucémico

Los objetivos de control glucémico en la diabetes, independientemente del tratamiento recibido, son siempre individuales. La HbA_{1c} se establece como el parámetro principal de medición del control glucémico. La Asociación Americana de Diabetes (ADA), en sus estándares para la asistencia médica de 2011, establece como objetivo general de control glucémico una HbA_{1c} inferior a 7 %, siendo el objetivo individual el conseguir una HbA_{1c} tan próxima a la normalidad como sea posible sin que las hipoglucemias sean relevantes y con objetivos menos estrictos en los pacientes con

antecedentes de hipoglucemias graves o inadvertidas, aquéllos cuya esperanza de vida está limitada, en niños muy pequeños y en adultos de edad avanzada o con otras patologías concomitantes (*American Diabetes Association, Diabetes Care, 2011*).

El autocontrol glucémico domiciliario, con la medición de la glucemia capilar, se reconoce como parte integral de la estrategia del tratamiento en la diabetes mellitus tipo 1. El autocontrol permite evaluar la respuesta individual al tratamiento y determinar si se están alcanzando los objetivos. Sus resultados pueden ser útiles para evitar las hipoglucemias y ajustar la dosis de insulina al contenido de la ingesta y a la actividad física. Los diabéticos tipo 1 deberían realizarse tres o más controles diarios. La *ADA* propone como objetivos de control de glucemia capilar preprandial que ésta esté situada entre 90 y 130 mg/dL y de glucemia postprandial inferior a 180 mg/dL y siempre que se pueda lo más cercano posible a la normoglucemia (*American Diabetes Association, Diabetes Care, 2011*).

1.3.2- Sistemas de monitorización de la glucosa: automonitorización de glucemia capilar y sistemas de monitorización continua

En la década pasada, la automonitorización de glucemia capilar (ACGC) era la única manera de la que disponían los diabéticos de conocer sus cifras de glucemia a lo largo del día y poder modificar de esta manera el tratamiento. Aunque el ACGC es una técnica sencilla y eficaz, es también invasiva y molesta, lo que puede llevar al incumplimiento terapéutico, sobre todo en algunos grupos de población como niños y adolescentes. Por otro lado, las fluctuaciones de glucosa durante el día son difícilmente observables con los autocontroles realizados por los pacientes y supone un gran número de pinchazos (al menos tres al día) para conocer, tan sólo de forma aproximada, cómo es su perfil glucémico. El autocontrol de la glucemia capilar sólo proporciona una fotografía estática de la glucemia en un punto determinado pero no da información sobre el número, la intensidad o la duración de las excursiones glucémicas (*Bolinder J, Diabetes Care, 1997*).

En los últimos años se han diseñado dispositivos para el control continuo de glucosa. Los sistemas de monitorización continua de glucosa (SMCG) proporcionan determinaciones automáticas y frecuentes de glucosa permitiendo identificar las excursiones glucémicas y la tendencia de la glucemia de una manera que no es posible ni aun cuando el paciente se realice gran cantidad de controles de glucemia capilar. Los

SMCG proporcionan información sobre la dirección, magnitud, duración y frecuencia de las excursiones glucémicas y permiten identificar periodos de hipo e hiperglucemias inadvertidas (Klonoff DC, Diabetes Care, 2005).

Existen diferentes tipos de SMCG disponibles en el mercado que se pueden clasificar en función de su invasividad o en función del momento en el que proporcionen la lectura de los registros de glucemia. De acuerdo con el primer criterio los SMCG pueden ser mínimamente invasivos, que son aquéllos que realizan una medición continua de glucosa del fluido intersticial, y no invasivos que utilizan la iontoforesis reversa. En función del momento en el que proporcionen la lectura de los registros, éstos pueden ser retrospectivos (CGMS[®] System Gold[™] (MiniMed Medtronic)) o a tiempo real (GlucoWatch[®] Biographer (Animas Corporation); Dexcom[™] STS[®] Continuos Glucose Monitoring System (Dexcom); Paradigm REAL-Time[®] (MiniMed Medtronic); Guardian REAL-Time[®] (MiniMed Medtronic), FreeStyle Navigator[®] (Abott)). Todos los sistemas de monitorización continua de glucemia expuestos han sido aprobados por la FDA (*Food and Drugs Administration*). Estos dispositivos deben ser utilizados conjuntamente a la automonitorización de glucemia capilar para verificar o confirmar la información que proporcionan en los periodos de hiper o hipoglucemias (Ellis SL, Endocrinol Metab Clin Noth Am, 2007).

1.3.3- El sistema de monitorización continua de glucosa CGMS[®]

El sistema CGMS[®] System Gold[™] (Continuous Glucose Monitoring System Gold, MiniMed Medtronic) fue el primer sistema de monitorización continua de glucosa implantable a nivel subcutáneo y mínimamente invasivo, disponible en el mercado desde el año 1999.

Los CGMS[®] no miden directamente la glucemia, si no que proporcionan una señal eléctrica que es proporcional a la intensidad de la variación del nivel de glucosa en el tejido intersticial, que se considera que mimetiza las fluctuaciones en la glucosa plasmática (Melki V, Diabetes Metab, 2006). Está compuesto de un sensor electroquímico (electrodo) que se inserta en el tejido subcutáneo y que utiliza el mecanismo enzimático de la glucosa oxidasa. La glucosa oxidasa (hexoquinasa) es la enzima que se utiliza para determinar los niveles de glucemia, al igual que sucede en el organismo. El electrodo insertado en el tejido subcutáneo mide los electrones procedentes de la oxidación de la glucosa y genera una señal eléctrica que es detectada

por un transmisor, que envía esta señal, a través de un cable, a un sistema de registro. El sensor es capaz de almacenar 288 mediciones diarias, con una frecuencia de determinaciones cada 10 segundos proporcionando el valor medio cada 5 minutos, con un rango que oscila de 40 a 400 mg/dL. El sensor graba estas señales durante un máximo de 72 horas. Al final de este periodo, los datos se pueden descargar a un ordenador a través de un módulo de comunicación y verse los resultados mediante un software que procesa los datos (CGMS System SolutionsTM Software). Debe ser calibrado por lo menos cuatro veces al día introduciendo los datos de medición de glucemia capilar cuando los niveles de glucosa son estables, para conseguir una buena calidad de la medición (Ellis SL, Endocrinol Metab Clin Noth Am, 2007). Las determinaciones de glucemia capilar introducidas permiten calibrar el sistema estableciendo la diferencia de las medias y el coeficiente de correlación entre el valor de glucemia capilar y el determinado por el sensor como medida de precisión de éste. El tiempo desde su implantación hasta el inicio del funcionamiento es de una hora.

El CGMS[®] permite obtener los datos de la glucemia media y desviación estándar de ésta, excursiones glucémicas por encima y por debajo de un rango de glucosa preestablecido, porcentaje y valor absoluto del tiempo en hiperglucemia, euglucemia o hipoglucemia.

El CGMS[®] ha sido considerado preciso cuando se han comparado los datos registrados con los datos de glucemia capilar obtenidos mediante siete o más determinaciones diarias de glucemia capilar (Sachedina N, Diabet Med, 2003). La correlación con valores de glucemia en plasma venoso durante un clamp euglucémico-hiperinsulinémico realizado en 16 diabéticos tipo 1 fue $r = 0.79$, con un 89,3% y 61,6 % de lecturas clínicamente precisas (zona A de la rejilla de Clark) durante la normo e hipoglucemia, respectivamente (Clarke WL, Diabetes Care, 2005). Este sistema puede ser útil para el clínico y el paciente, puesto que proporciona información sobre fenómenos no explicados con la AMCG y sus tendencias, pero no se trata de un dispositivo que proporcione lecturas a tiempo real y no dispone de alarmas para el paciente. La tecnología empleada en el CGMS[®] ha sido aplicada por Medtronic para la creación de dos sensores que proporcionan lecturas de glucosa a tiempo real (Paradigm RT y Guardian RT).

1.3.3.1- Utilidad y limitaciones de los SMCG en el manejo de la diabetes mellitus tipo 1

A la hora de valorar la utilidad o eficacia de los SMCG es fundamental considerar si se trata de dispositivos retrospectivos o a tiempo real. Los primeros permitirán, como herramienta de investigación y aplicación clínica, completar los datos obtenidos mediante la ACGC visualizándose las fluctuaciones y el patrón glucémico de forma continua durante un periodo determinado. Permite observar excursiones hiper o hipoglucémicas no objetivadas con los controles de glucemia capilar, durante la noche o postprandiales, tanto en número como en la duración de éstas (Bode BW, *Diabetes Care*, 2005; *The Diabetes Research in Children Network Study Group*, *J Clin Endocrinol Metab*, 2005; Sachedina M, *Diabet Med*, 2003; Boland E, *Diabetes Care*, 2001). En el periodo nocturno, ha sido utilizado para estudiar episodios de hipoglucemias inadvertidas tanto en niños como en adultos (Sachedina M, *Diabet Med* 2003; Kaufman FR, *J Pediatr*, 2002; Boland E, *Diabetes Care*, 2001) y para poder diferenciar el fenómeno del alba de episodios de hipoglucemia nocturna asintomáticos (Kaufman FR, *Diabetes Care*, 2001).

La eficacia de los sensores que aportan información retrospectivamente, como herramienta beneficiosa para el ajuste del tratamiento o su impacto sobre la mejoría del control glucémico está aún por dilucidar. En los últimos años se han publicado múltiples trabajos que intentan evaluar si este sistema de monitorización mejora el control glucémico. Algunos de estos trabajos son ensayos clínicos controlados (Tanenberg R, *Mayo Clin Proc*, 2004; Ludvingsson J, *Pediatrics*, 2003; Chico A, *Diabetes Care*, 2003; Chase HP, *Pediatrics*, 2001) de los que sólo en uno de ellos se demuestra reducción de la HbA_{1c} en un grupo de pacientes diabéticos pediátricos con CGMS (Ludvingsson J, *Pediatrics*, 2003). Otros estudios no controlados muestran una tendencia a conseguir mejorías del control glucémico en términos de reducciones variables de la HbA_{1c} o reducción del número de episodios de hipoglucemia (Shaepelynck-Bélicar P, *Diabetes Metab*, 2003; Salardi S, *Diabetes Care*, 2002; Shiaffini R, *Diabetes Metab Res Rev*, 2002; Kaufman FR, *Diabetes Care*, 2001).

En base a lo anteriormente descrito, la ADA reconoce en la actualidad la utilidad de los SMCG como una herramienta válida que proporciona una información adicional a la ACGC en DM 1 seleccionados, especialmente en aquéllos que presentan hipoglucemias inadvertidas (*American Diabetes Association*, *Diabetes Care*, 2008). Además de

completar la información obtenida mediante los ACGC, los SMCG permiten obtener datos directos de variabilidad glucémica, como la desviación estándar (Hirsch IB, *Diabetes Technol Ther*, 2005). Los datos obtenidos de variabilidad glucémica, la magnitud, duración y frecuencias de las excursiones hipo e hiperglucémicas y la hiperglucemia postprandial, son más precisos que los obtenidos mediante la ACGC, aún cuando se realicen 10 determinaciones de glucemia capilar diarias (Bode BW, *Diabetes Care*, 2005).

Los dispositivos a tiempo real, además de permitir el análisis de los datos y estudiar el comportamiento de la glucemia, podrían ser una herramienta útil en la optimización del control metabólico. En adultos se han descrito descensos de la HbA_{1c} de 0.4-1 % en algunos ensayos clínicos con diabéticos con mal control metabólico (Deiss D, *Diabetes Care*, 2006) y en estudios cuasi-experimentales (Bailey TS, *Diabet Technol Ther*, 2007) tras 12 semanas de monitorización. Varios ensayos clínicos han confirmado posteriormente la mejoría del control glucémico con estos dispositivos (Bergenthal RM, *N Engl J Med*, 2010; Raccach D, *Diabetes Care* 2009; O'Connell MA, *Diabetologia*, 2009; *The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group*, *N Engl J Med*, 2008).

El posible interés de los SMCG en el tratamiento de la diabetes queda limitado en parte por su las dificultades de su aplicación y necesidad de confirmación de los datos con determinaciones de glucemia capilar en los dispositivos a tiempo real. Hay que considerar que supone un procedimiento invasivo, que requiere ayuda por parte de un equipo médico en su implantación y retirada, al menos en la primera implantación así como de un adiestramiento específico para la interpretación adecuada de la información que proporciona (Heinemann L, *Av Diabetol*, 2005).

1.4- VARIABILIDAD GLUCÉMICA

La HbA_{1c} ha sido considerada el “*gold standard*” como parámetro de valoración y monitorización del control glucémico, ya que proporciona una medición integrada de la exposición a la glucosa en los últimos 2-3 meses (*American Diabetes Association*, *Diabetes Care*, 2003).

La HbA_{1c} se correlaciona con las cifras medias de glucemia pero no proporciona una medición de la variabilidad en términos de magnitud o frecuencia de las excursiones de

la glucemia a lo largo de los días (McCarter RJ, Diabetes Care, 2006; Derr R, Diabetes Care, 2003).

1.4.1- Concepto de variabilidad glucémica

La diabetes se caracteriza por una alteración en el metabolismo de la glucosa que incluyen tanto un componente de hiperglucemia mantenida crónica como fluctuaciones glucémicas agudas. La disglucemia tiene, por tanto, dos componentes: la hiperglucemia crónica y las fluctuaciones glucémicas desde los picos hasta los nadires (Monnier L, Diabetes Care, 2008). La mayoría de los autores consideran la variabilidad glucémica como un estándar de la variación de la glucemia intradía, que refleja las oscilaciones glucémicas en un paciente diabético como consecuencia de la disminución o ausencia de contrarregulación y de la terapia insulínica. Por lo tanto, el concepto de variabilidad glucémica implica a todas las fluctuaciones de la glucosa desde los picos hasta los valles y no sólo se refiere a la hiperglucemia postprandial (Bloomgarden ZT, Diabetes Care, 2007). Este concepto de variabilidad glucémica y la aplicación de los métodos como el valor M o el índice MAGE, propuestos para su cuantificación en los años 60 y 70, quedaron en desuso a partir de la introducción de la HbA_{1c} como medida de control glucémico en los años 80 y principalmente tras los resultados obtenidos en el *DCCT*.

Sin embargo, un cuerpo creciente de evidencia, procedente de estudios *in vivo* e *in vitro*, sugiere que ambos componentes de la disglucemia podrían conducir al desarrollo de complicaciones en la diabetes, a través de dos mecanismos principales: la glicación proteica y la activación de estrés oxidativo. Por lo tanto, la variabilidad glucémica podría jugar un papel importante en la fisiopatología de las complicaciones de la diabetes, induciendo o exacerbando vías patogénicas implicadas en el desarrollo de complicaciones tanto micro como macrovasculares (Monnier L, JAMA, 2006; Picoli L, J Thromb Haemost, 2004; Quagliaro L, Diabetes, 2003; Ceriello A, Diabetes Care, 2002; Esposito K, Circulation, 2002).

El análisis de la contribución específica al desarrollo de las complicaciones de la glucemia basal, la glucemia postprandial y las fluctuaciones agudas en la activación de estrés oxidativo y su impacto respectivo, es un área en estudio y en desarrollo en la actualidad.

1.4.2- Utilidad de los SMCG como sistemas de registro glucémico en el cálculo de medidas de variabilidad glucémica

El análisis estadístico de los registros de glucosa obtenidos a través del sensor permite el cálculo de medidas de variabilidad glucémica. Como medidas de variabilidad glucémica se han propuesto las siguientes: desviación estándar de la media (SD), coeficiente de variación (CV), rango intercuartílico (IQ), índice MAGE (amplitud media de las excursiones glucémicas), el valor M, la media de las diferencias diarias (MDD) y el índice de labilidad (LI). Otros métodos planteados más recientemente se proponen como medidas de riesgo de valores extremos o de predicción de excursiones glucémicas (GRADE, ADRR). Para la evaluación de las hipoglucemias existen medidas específicas (HYPO score y LBGÍ (low blood glucose index)).

Estas medidas pueden ser agrupadas en diferentes grupos o familias en función de distintos criterios (Rodbard D, Diabetes Technol Ther, 2009):

- 1) Métodos basados en la desviación estándar y relacionados con ésta (rango intercuartílico y coeficiente de variación).
- 2) Métodos para detectar excursiones glucémicas (por ejemplo: MAGE).
- 3) Métodos basados en la determinación de la variabilidad día a día (por ejemplo: MODD (media de las diferencias diarias)).
- 4) Métodos basados en la determinación de la variabilidad durante segmentos relativamente cortos de una serie temporal (CONGA).
- 5) Métodos que evalúan la “calidad del control glucémico” más que en la variabilidad (por ejemplo: GRADE y ADRR).

Se exponen a continuación estas medidas con su explicación correspondiente.

1.4.2.1- Desviación estándar de la media, coeficiente de variación y rango intercuartílico

La utilización de la desviación estándar (SD) como medida de variabilidad va a integrar todo tipo de fluctuaciones glucémicas, es decir, mayores y menores, reflejando desviaciones simétricas alrededor de la media. Es considerada por algunos autores como el método más correcto de medición de variabilidad desde el punto de vista estadístico (Hirsch IB, Diabetes Technol Ther, 2005). Se han descrito diferentes subtipos de medición de SD, que incluyen: la SD total (SD_T) referida a la SD de todos los datos,

todos los días y todos los momentos, la SD vertical (SD_w) que integra la SD intradía (es decir, calcula la SD de todas las determinaciones de un día y luego la media de estos valores) y SD horizontal (SD_{dm}) que representa la variabilidad interdía (es decir, calcula la media de glucosa de cada día y posteriormente la SD de estas medias). (Rodbard D, Diabetes Technol Ther, 2009).

El coeficiente de variación, al ser el resultado del cociente entre la SD y la media, va a reflejar, al igual que la SD, desviaciones glucémicas simétricas alrededor de la media (Bloomgarden ZT, Diabetes Care, 2007).

El rango intercuartílico, a diferencia de las dos primeras medidas de variabilidad puede reflejar fluctuaciones asimétricas de la glucemia, ya que lo que indica es la diferencia entre el tercer y el primer cuartil (Bloomgarden ZT, Diabetes Care, 2007).

1.4.2.2- Índice MAGE

El índice MAGE (amplitud media de las excursiones glucémicas) fue propuesto en 1970 por Service *et al.* Este índice se calcula efectuando la media aritmética de los incrementos o descensos (del pico al nadir o del nadir al pico) de la glucosa plasmática cuando las fluctuaciones hiper o hipoglucémicas exceden el valor de una desviación estándar de la glucosa plasmática en ese periodo. Este índice integra excursiones glucémicas mayores, por encima de una desviación estándar, y asimétricas. Se considera útil como método de variabilidad en diabetes inestable (Service FJ, Diabetes, 1970).

1.4.2.3- Valor M, media de las diferencias diarias y variación glucémica respecto de la normalidad

Estas tres medidas tienen en común que reflejan desviaciones de la glucemia respecto a diferentes valores glucémicos de referencia.

El valor M es un índice cuantitativo que refleja la desviación de las determinaciones glucémicas en un periodo de 24 horas de un estándar glucémico preestablecido (120 mg/dL). Es una medida de estabilidad de las excursiones glucémicas respecto a un teórico valor “ideal”. Este valor es 0 en sujetos sanos, aumentando con el incremento de la variabilidad glucémica o del mal control glucémico (Shlichtkrull J, Acta Med Scand, 1965). Se han realizado modificaciones posteriores del valor M, estableciéndose otros estándares glucémicos (de 80 a 100 mg/dL).

La variación glucémica respecto de la normalidad se define como la media de la glucemia medida en cada punto menos 5.5 mmol/L (100 mg/dL) (Kessler L, Diabetes Care, 2002; Wójcicki JM, Horm Metab Res, 1995) siendo una modificación del valor M.

La media de las diferencias diarias (MDD o MODD) se define como la media absoluta de las diferencias entre los valores de glucosa del segundo día y los correspondientes valores del primer día a la misma hora, lo que estima la variación glucémica interdía (Molnar GD, Diabetologia, 1972).

1.4.2.4- Índice de labilidad

El índice de labilidad establece, tras la aplicación de una fórmula matemática en la que se tienen en cuenta las determinaciones glucémicas en un periodo de tiempo, una clasificación de 0 a 10 de acuerdo con diferentes grados de labilidad: desde la puntuación 0 que implica estabilidad glucémica absoluta a 10 que implica una labilidad máxima (Ryan EA, Diabetes, 2004).

1.4.2.5- Medidas de predicción de excursiones glucémicas y valores extremos: ADRR y GRADE.

El ADRR (*Average Daily Risk Range*) es una medida diseñada para evaluar la variabilidad y predecir de igual manera las excursiones hiper e hipoglucémicas. Los datos proceden de las autodeterminaciones de glucemia capilar de los pacientes, al menos, de tres a cinco determinaciones diarias durante 14 días no necesariamente consecutivos en un plazo de un mes. El cálculo de ADRR es equivalente al cálculo de la media diaria de la glucosa en un plazo de 30 días previa normalización y conversión de los valores de glucosa en sus correspondientes valores de riesgo. Los valores obtenidos se estratifican dentro de tres categorías: bajo riesgo (ADRR < 20); moderado riesgo (ADRR entre 20 y 40) y alto riesgo (ADRR > 40). Comparada con otras medidas de variabilidad glucémica (SD, coeficiente de variación, valor M, MAGE, rango intercuartílico e índice de labilidad) parece tener una correlación más consistente con futuros eventos tanto hipo e hiperglucémicos extremos (Kovatchev BP, Diabetes Care, 2006).

El GRADE (*Glycaemic Risk Assessment Diabetes Equation*) valora el riesgo glucémico a partir de los perfiles de glucosa obtenidos mediante monitorización continua de glucosa o perfiles de glucemia capilar. Tras la aplicación de una fórmula se obtiene una puntuación, considerándose que una puntuación inferior a 5 es indicativa de euglucemia y superior a este límite indica periodos de hipoglucemia o hiperglucemia clínica. La contribución de las hipoglucemias, euglucemia e hiperglucemia a la puntuación del GRADE se expresa en porcentajes (% hipoglucemia, % euglucemia, % hiperglucemia). (Hill NR, Diabet Med, 2007).

1.4.2.6- Excursiones glucémicas por encima y por debajo de rango

La variabilidad glucémica intradiaria se puede estimar a partir de los registros obtenidos por el sensor, a través del que se obtienen el número de excursiones glucémicas por encima y por debajo de un rango preestablecido (<70 mg/dL o >180 mg/dL) así como el tiempo que el paciente permanece en normo, hipo o hiperglucemia como medida de su variabilidad y grado de control diario (Hirsch IB, Diabetes Care, 2005).

1.4.2.7- Otros métodos de medición de variabilidad (CONGA)

En 1999, McDonnell *et al.* (McDonnell CM, Diabetes Technol Ther, 2005) desarrollaron un método de medición de variabilidad glucémica para su uso en pacientes con monitorización continua de glucemia. Este método denominado CONGA-*n* (*Continuous Overlapping Net Glycemic Action*) se calcula como la desviación estándar de la suma de la diferencias entre una observación actual y una observación realizada *n* horas previas.

1.4.3- ISCI y variabilidad glucémica

La terapia con ISCI frente a la TM puede aportar, además de una mejoría discreta del control glucémico, una menor variabilidad glucémica (Bruttomesso D, Diabet Med, 2008; Pickup JC, Diabet Metab Res Rev, 2006; Hoogma RP, Diabet Med, 2006; Pickup JC, Br Med J, 2002). Las medidas de variabilidad glucémica aplicadas para valorar la variabilidad glucémica intra-día e inter-día, en las que se han encontrado

diferencias entre ISCI y TM han sido: la desviación estándar de la glucemia media (Pickup JC, Diabet Metab Res Rev, 2006; Hoogma RP, Diabet Med, 2006; Pickup JC, Br Med J, 2002), el índice MAGE (Bruttomesso D, Diabet Med, 2008) y el índice de labilidad (Bruttomesso D, Diabet Med, 2008).

1.5- ESTRÉS OXIDATIVO

Aunque la base patofisiológica de las complicaciones micro y macroangiopáticas en la diabetes mellitus tipo 1 no es totalmente conocida, la hiperglucemia juega un papel central en el desarrollo de éstas. Los mecanismos propuestos por los que la hiperglucemia es capaz de generar daño micro y macrovascular son diversos, implicándose en la actualidad la generación de estrés oxidativo (EO) y nitrosativo como uno de los mecanismos involucrado en el desarrollo y la progresión de la macro y la microangiopatía (Brownlee M, Nature, 2001; Giugliano, Diabetes Care, 1996).

1.5.1- Concepto de estrés oxidativo y daño oxidativo

El EO es el desbalance entre la producción de especies reactivas y las defensas antioxidantes, enzimáticas o no enzimáticas. El EO puede resultar de una disminución de las defensas antioxidantes, un incremento en la producción de especies reactivas o ambas circunstancias. La alteración en el balance prooxidante-antioxidante a favor del primero, puede conducir potencialmente a daño tisular, lo que se denomina daño oxidativo (Dalle-Donne I, Clin Chem, 2006).

El daño biomolecular oxidativo puede estar causado por el ataque directo de especies reactivas en situaciones de EO. Las consecuencias del EO incluyen procesos de adaptación celular o del organismo por *upregulation* de los sistemas de defensa antioxidantes, lo cual puede originar una sobreprotección con resistencia al daño o una protección completa o parcial al daño. Otro efecto derivado del EO es la lesión celular tras el daño oxidativo en moléculas diana celulares como lípidos, DNA, proteínas o carbohidratos. Las células lesionadas pueden recuperarse del daño oxidativo reparando o reemplazando las moléculas dañadas o bien pueden sobrevivir con el daño persistente. Si el daño oxidativo afecta especialmente al ADN puede originar la muerte celular por apoptosis o necrosis (Halliwell B, Br J Pharmacol, 2004).

1.5.2- Especies reactivas de oxígeno y radicales libres

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son una familia de moléculas de oxígeno y sus derivados producidos en todas las células aeróbicas. El término ROS incluye a radicales libres de oxígeno y otras moléculas reactivas de oxígeno no radicales que tienen capacidad oxidante y/o se convierten rápidamente en radicales libres (**tabla 1**). El término radical libre denomina a cualquier especie reactiva que contienen uno o más electrones desapareados en el orbital más externo de su estructura atómica. De esta manera, todos los radicales libres de oxígeno son ROS, pero no todas las ROS son radicales libres de oxígeno. Además de las ROS, existen en la naturaleza otro tipo de especies reactivas derivadas de nitrógeno y de cloro, con potencial capacidad para producir daño (Halliwell B, Br J Pharmacol, 2004).

Radicales libres	No radicales
Superóxido $O_2^{\bullet -}$	Peróxido de hidrógeno H_2O_2
Hidroxilo OH^{\bullet}	Ácido hipobromoso $HOBr^b$
Peroxilo HO^{\bullet}_2	Ácido hipocloroso $HOCl^c$
Alcoxilo RO^{\bullet}	Ozono O_3
Carbonato $CO^{\bullet -}_3$	Singletes de oxígeno ($O^1_2 \Delta g$)
Dióxido de carbono $CO^{\bullet -}_2$	Peróxidos orgánicos $ROOH$
	Peroxinitrito $ONOO^{\bullet - d}$
	Ácido peroxinitroso $ONOOH^d$

Tabla 1. Nomenclatura de las especies reactivas de oxígeno (ROS).

La reactividad de estas moléculas varía de unas otras, con diferencias significativas en su capacidad reactiva. Así, H_2O_2 , NO^{\bullet} y $O_2^{\bullet -}$ reaccionan rápidamente con sólo algunas moléculas, mientras que el radical hidroxilo (OH^{\bullet}) reacciona rápidamente con la mayoría de las moléculas. RO^{\bullet}_2 , RO^{\bullet} , $HOCl$, $HOBr$, NO^{\bullet}_2 , $ONOO^{\bullet -}$, NO^+_2 y O_3 tienen reactividades intermedias. El radical hidroxilo (OH^{\bullet}) es el oxidante más potente conocido, tiene una vida media muy corta y reacciona en el lugar de su formación, teniendo la capacidad de atacar a la mayoría de las moléculas biológicas. El anión

superóxido ($O_2^{\cdot -}$) no es particularmente reactivo por sí mismo, pudiendo actuar como un agente oxidante débil (Cai H, Circ Res, 2000; Betterdige DJ, Metabolism, 2000).

Los radicales libres son inherentemente moléculas inestables, ya que el hecho de que tengan electrones desapareados le otorga reactividad química a la molécula por lo que, reaccionan localmente para aceptar o donar electrones a otra moléculas y alcanzar un estado más estable. La mayoría de las reacciones químicas serán con moléculas no radicales como las macromoléculas biológicas, siendo sus dianas los lípidos, las proteínas, los carbohidratos y los ácidos nucleicos. La respuesta biológica que se produce cuando interaccionan con estas macromoléculas conlleva una cadena de reacciones en la que se van a originar más radicales libres, que a su vez pueden reaccionar con otras moléculas. Ejemplos de esto son: la peroxidación lipídica, la adición de grupos carbonilos a las proteínas, formación de fragmentos de bandas simples y dobles de DNA o *crosslink* ADN-proteínas (Dalle-Done I, Clin Chem, 2006).

1.5.3- Sistemas de antioxidación: mecanismos de defensa antioxidante

Para defenderse del ataque y del daño generado por los radicales libres, el organismo ha desarrollado defensas antioxidantes. Se considera antioxidante a cualquier sustancia, que estando presente a bajas concentraciones en comparación con un sustrato potencialmente oxidante, es capaz de retrasar o inhibir la oxidación (Gutteridge JMC, Clin Chem, 1995).

Las defensas antioxidantes pueden ser intracelulares, intramembrana y extracelulares (**Figura 1**).

1.5.3.1- Defensas antioxidantes intracelulares

Las defensas antioxidantes intracelulares incluyen las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa y reductasa y el péptido glutatión.

La SOD cataliza la dismutación del anión superóxido en peróxido de hidrógeno que es un oxidante débil y relativamente estable. Tanto el anión superóxido como el peróxido de hidrógeno pueden difundir rápidamente a través de la membrana y, en presencia de metales de transición, originar radical hidroxilo. Por este motivo, existen otros mecanismos enzimáticos como la glutatión peroxidasa que, a nivel intramitocondrial y citosólico, transforma el peróxido de hidrógeno en agua con el consumo de glutatión,

originándose glutathion oxidado que es restablecido a glutathion reducido por una enzima reductasa. El glutathion es el péptido antioxidante de bajo peso molecular más abundante a nivel intracelular, que participa en múltiples funciones celulares, incluyendo detoxificación, eliminación de peróxido de hidrógeno, interacción directa con radicales libres y regeneración de la vitamina E oxidada (Maritim AC, J Biochem Mol Tox, 2003).

La catalasa está presente en los peroxisomas y cataliza la reacción de transformación de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno cuando el primero se encuentra en altas concentraciones (Winterbourn CC, Free Radic Biol Med, 1993).

1.5.3.2- Defensas antioxidantes intramembrana

La vitamina E, el β caroteno y la coenzima Q están presentes en las membranas celulares. Todos estos son antioxidantes hidrofóbicos al ser solubles en lípidos. Su papel fundamental es proteger las membranas celulares de la lipoperoxidación lipídica.

La vitamina E es el nombre colectivo de un sistema de ocho tocoferoles y tocotrienoles relacionados. De éstos, el α -tocoferol es el absorbido preferentemente por el organismo teniendo una alta biodisponibilidad. La forma del α -tocoferol es lipofílica y muy efectiva como antioxidante cuando se incorpora a la membrana lipídica celular, suprimiendo la propagación de la peroxidación lipídica (Herrera E, J Physiol Biochem 2001).

Los β carotenos o carotenoides son antioxidantes lipídicos solubles efectivos como eliminador de singletes de oxígeno e inhibiendo peroxidación lipídica (Frei B, Am J Med, 1994).

1.5.3.3- Defensas antioxidantes extracelulares

El espacio extracelular carece de enzimas antioxidantes pero contiene diversas moléculas que retrasan o inhiben el proceso oxidativo. Las principales defensas extracelulares son las proteínas ligadoras de metales: transferrina, lactoferrina y ceruloplasmina. Los metales como el hierro y el cobre pueden promover el daño por radicales libres, acelerando la peroxidación lipídica y catalizando la formación de radical hidroxilo. Estas proteínas ligadoras de metales se unen a hierro y cobre asegurando mantener a estos metales en estado no reactivo. Otra moléculas de bajo peso

molecular como la bilirrubina, la vitamina C, vitamina E y el urato tienen también propiedades antioxidantes (Betteridge DJ, *Metabolism*, 2000).

La mayoría de estas moléculas tienen múltiples propiedades antioxidantes, de manera que la capacidad antioxidante total del plasma (TAS) está determinada no sólo por la concentración individual de estas moléculas sino también por su sinergismo (Halliwell B, *Arch Biochem Biophys*, 1990). El valor de la TAS se refiere al número de moléculas de radicales peróxidos que pueden ser eliminadas de la sangre humana y está determinada por la concentración de ácido ascórbico, ácido úrico, bilirrubina y proteínas como la albúmina, cuyos grupos sulfidrilos pueden eliminar radicales peróxidos (Romay C, *Clin Chem*, 1994).

El principal contribuyente individual de la TAS es el ácido úrico. El ácido úrico es el antioxidante acuoso más abundante, siendo capaz de tamponar más del 60 % de los radicales libres plasmáticos y participando como *scavenger* intracelular durante el estrés metabólico (Maxwell SR, *Eur J Clin Invest*, 1997). Deriva del metabolismo de las purinas endógenas y procedentes de la dieta. El aclaramiento del ácido úrico se realiza por filtración glomerular, reabsorbiéndose el 90 % de lo filtrado en el túbulo proximal y realizándose secreción activa en túbulo distal (Waring WS, *QJM*, 2000). La función antioxidante la realiza a través de un mecanismo directo e indirecto. Su mecanismo directo de acción reside en su capacidad de actuar como *scavenger* del peroxinitrito, degradándose en la eliminación de éste y previniendo la peroxidación lipídica. Por otro lado, ejerce efecto antioxidante indirecto al estimular la actividad de la superóxido dismutasa y el óxido nítrico y estabilizando el ácido ascórbico en el suero (Pitocco D, *Diabetes Metab Res Rev*, 2008).

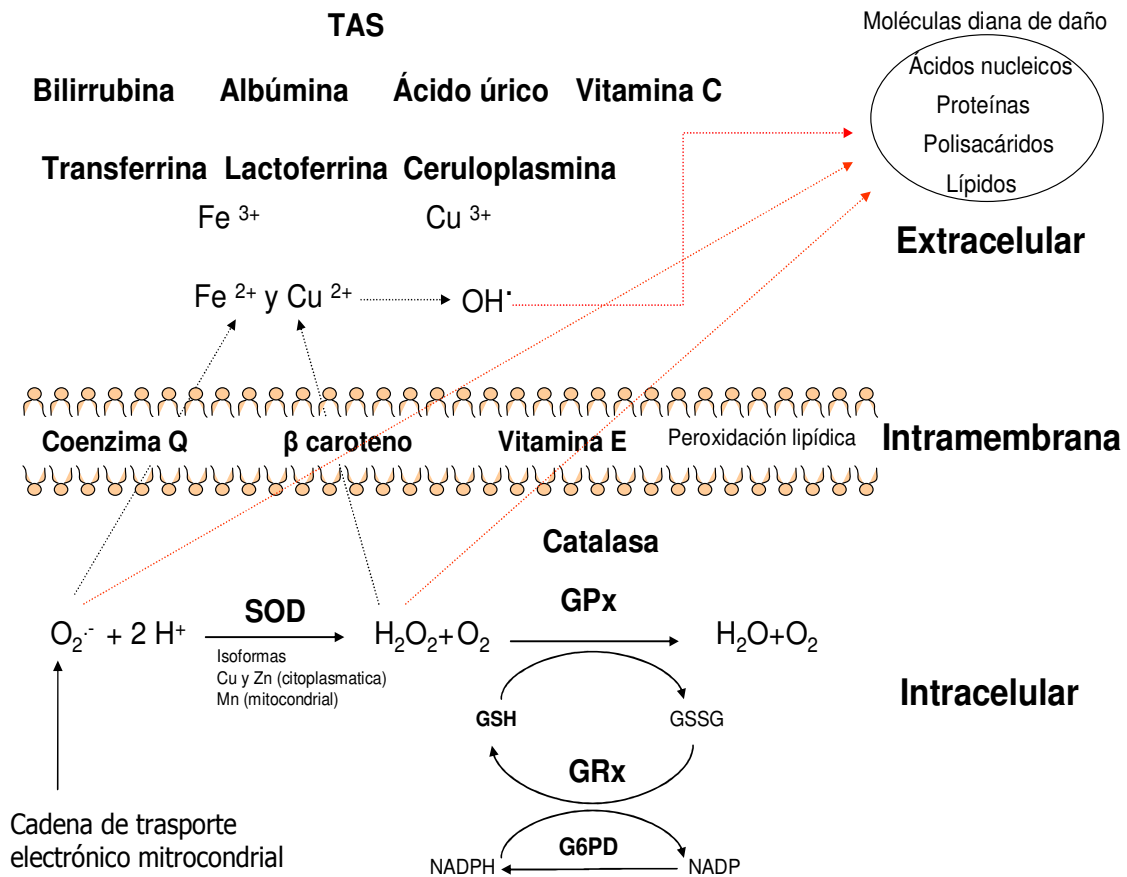


Figura 1. Mecanismo de defensa antioxidantes.

GPx: glutathion peroxidasa; GRx: glutathion reductasa; GSH: glutathion reducido; GSSG: glutathion oxidado; NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleotido Fosfato Oxidasa.

1.5.4- Métodos de medición de EO

La medición *in vivo* de las especies reactivas es difícil porque son altamente reactivas, tienen una vida media corta y se encuentran a muy bajas concentraciones. Por estos motivos, la evaluación de la producción de radicales libres y el balance pro-oxidante/oxidante se basa en métodos indirectos que determinan la actividad enzimática de enzimas involucradas en procesos de antioxidación u otros sistemas antioxidantes o mediante métodos directos que se basan en la determinación de biomarcadores de reacciones oxidativas.

1.5.4.1- Métodos indirectos

La medición de la actividad enzimática de las enzimas intracelulares que participan en los procesos de antioxidación es considerada un método indirecto de valoración de la situación de EO en el organismo. En respuesta a la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, las enzimas SOD, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa modifican su actividad como mecanismo de detoxificación de estos compuestos. Los cambios en el estado de los sistemas de defensa antioxidante permiten valorar indirectamente la situación de EO (Domínguez C, Diabetes Care, 1998).

Por otro lado, la depleción o disminución de sustratos antioxidantes como glutatión, vitamina E o la capacidad antioxidante total del plasma puede reflejar un mayor consumo de éstos en situaciones de EO (Betterdige J, Metabolism, 2000).

1.5.4.2- Métodos directos

La reacción de ROS y las especies reactivas de nitrógeno (RNS) con otras biomoléculas estables da lugar a productos moleculares que pueden ser biomarcadores de EO si cumplen las siguientes condiciones: son estables, se acumulan en cantidades cuantificables y reflejan vías específicas de oxidación. La medición de los productos finales derivados del EO, es decir, de biomarcadores de daño oxidativo se realiza en las tres clases principales de macromoléculas: lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Los lípidos pueden ser oxidados, clorinados o nitrados por una gran variedad de especies reactivas. La peroxidación lipídica es un fenómeno complejo y que conlleva la formación de una variedad muy amplia de productos en distintas cantidades. La peroxidación lipídica tiene grandes efectos en la función celular. Una peroxidación extensa en la membrana celular puede resultar en cambios en la fluidez, presencia de receptores de membrana, aumento de la permeabilidad, descenso en el potencial de membrana y eventualmente en ruptura de la misma. La peroxidación lipídica es de gran importancia en el desarrollo del daño vascular inducido por la diabetes y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) es un elemento central en el proceso de aterogénesis que se describirá con posterioridad (Betterdige DJ, Metabolism, 2000).

Algunos ejemplos de productos de lipoperoxidación lipídica son los aldehídos: malondialdehído (MDA), 4-hydroxinonenal y acroleína, y los isoprostanos, como el 8-

iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α), siendo estos últimos productos finales derivados de la oxidación mediada por radicales libres del ácido araquidónico (Dalle-Donne I, Clin Chem, 2006). El MDA es el principal producto de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados y el más ampliamente estudiado, siendo el resultado de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados con dos o más ácidos grasos metilen-doble enlace interrumpido (Del Rio D, Nutr Metab Cardiovas Dis, 2005). El MDA es capaz de interactuar con las bases de ácidos nucleicos y formar de esta manera diferentes aductos. Los productos derivados de esta interacción son potencialmente capaces de inducir mutaciones secuencia-dependientes y sustituciones de pares de bases en bacterias y células de mamíferos, pudiendo asimismo interactuar con el ADN y con proteínas. El exceso de MDA producido como resultado del daño tisular se combina con grupos amino de proteínas (aminoácido lisina). La modificación de proteínas por MDA altera sus propiedades biológicas, adquiriendo estas proteínas propiedades inmunogénicas (Niedernhofer LJ, J Biol Chem, 2003). La capacidad de reaccionar *in vivo* con aminas primarias y los productos derivados de esta reacción han sido detectados en las fracciones apo B de las partículas de colesterol LDL oxidadas (Palinski W, Arterioscler Thromb, 1994). De esta manera, se considera que esta molécula es algo más que un producto de peroxidación lipídica (Del Rio D, Nutr Metab Cardiovas Dis, 2005).

Las proteínas son la principal diana de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, por su gran abundancia en el organismo y porque son responsables de la mayoría de los procesos funcionales celulares. El daño oxidativo de las proteínas es importante ya que puede afectar a su correcto funcionamiento y porque, secundariamente, puede contribuir a dañar a otras biomoléculas. Un ejemplo de daño oxidativo a moléculas proteicas es la formación de grupos carbonilos, que pueden derivar de la glicación o de la unión de grupos aldehídos a proteínas o por oxidación directa de aminoácidos. Otros potenciales biomarcadores de daño oxidativo proteico son la bitirosina, metionina sulfoxida y nitrotirosina (Davies MJ, Free Radic Biol Med, 1999).

El ataque del ADN por el radical hidroxilo genera diversas modificaciones en azúcares y bases. El marcador más utilizado como índice de daño oxidativo en ADN es el 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8OHdG) (Betteridge DJ, Metabolism, 2000).

1.5.5- Hiperglucemia e inducción de estrés oxidativo

La hiperglucemia causa y exagera el estrés oxidativo, y esto, junto a los efectos directos de la glicación, se cree son los principales mecanismos involucrados en el daño vascular por la diabetes (West IC, *Diabet Med*, 2000; Baynes JW, *Diabetes*, 1999, Giugliano D, *Diabetes Care*, 1996).

La producción de radicales libres en un ambiente hiperglucémico puede originarse a través de diferentes vías (Ceriello A, *Metabolism*, 2000):

1. Autooxidación de la glucosa. La glucosa, en su proceso de oxidación, puede generar radicales libres en presencia de cationes metálicos de transición (hierro y cobre), considerándose la principal fuente de producción de radicales libres (Maritim AC, *J Biochem Mol Tox*, 2003). En un ambiente hiperglucémico los procesos de fosforilación oxidativa mitocondrial son una fuente importante de producción de anión superóxido y otras especies reactivas. Se ha descrito que la principal fuente de radicales libres en células endoteliales cultivadas con altas concentraciones de glucosa es la cadena de transporte electrónico mitocondrial (Brownlee M, *Nature*, 2001).

2. Glicación no enzimática y producción de productos finales de la glicación avanzada (AGE). La hiperglucemia puede reducir la actividad de las enzimas glutathion reductasa y SOD, presumiblemente por glicación. En estudios con ratas diabéticas, se comprobó que mientras la actividad de la SOD caía, los niveles de RNAm específicos de esta enzima aumentaban como mecanismo de compensación (Reddi AS, *Biochem Biophys Res Commun*, 1997). En cultivos de células endoteliales humanas, en medios hiperglucémicos se incrementa la expresión de RNAm de SOD, catalasa y glutathion peroxidasa (Ceriello A, *Diabetes*, 1996), para compensar su menor actividad al ser glicadas en un medio hiperglucémico.

Por otro lado, los AGE aumentan la tasa de formación de radicales libres, ya que desde los residuos de glucosa de las proteínas glicosiladas se donan electrones, formándose peróxido de hidrógeno con el consumo subsiguiente de glutathion y disminuyendo consecuentemente el ratio glutathion reducido/glutathion oxidado (Elgawish A, *J Biol Chem*, 1996).

3. Activación intracelular de la vía de los polioles. La activación de la aldosa reductasa depleciona NAD(P)H, cofactor de la enzima glutathion reductasa, reduciéndose la regeneración de glutathion (Williamson JR, *Diabetes*, 1993).

4. Aumento de la actividad de las enzimas NAD(P)H oxidasa (Zhang L, *Circulation*, 2003; Inoguchi T, *Diabetes*, 2000) y del sistema xantina oxido-reductasa (Descio M, *Diabetes*, 2002). Los niveles elevados de glucosa pueden aumentar la actividad de estas enzimas, siendo fuentes vasculares potenciales de la producción de anión superóxido (Griendling KK, *Circ Res*, 2000; Berry C, *Circulation*, 2000). El aumento de la actividad de NAD(P)H oxidasa en las células vasculares endoteliales tras la exposición a altas concentraciones de glucosa parece ser independiente del metabolismo mitocondrial (Hink U, *Circ Res*, 2001).

5. Aumento de la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa. La hiperglucemia aumenta la expresión de la forma inducible de esta enzima con la subsiguiente formación de óxido nítrico, pudiendo esto desencadenar finalmente un marcado incremento concomitante de la formación de anión superóxido, como se explicará posteriormente (Cosentino F, *Circulation*, 1997).

1.6- IMPORTANCIA DEL EO EN LA PATOGÉNESIS DE LAS COMPLICACIONES DIABÉTICAS

1.6.1- Estrés oxidativo y complicaciones microvasculares

La enfermedad microvascular de la diabetes en las células capilares endoteliales de la retina, en las mesangiales del glomérulo y las neuronas y células de Schwann de los nervios periféricos tiene una fisiopatología similar. Pero, ¿qué distingue a estas células del resto de las células del organismo y qué las hace vulnerables a la hiperglucemia? ¿Por qué ocurre el daño sólo en algunos tipos celulares? La respuesta es que la mayoría de las células son capaces de disminuir el transporte de glucosa en su interior cuando están expuestas a elevadas concentraciones, de manera que las concentraciones intracelulares permanecen estables. Por el contrario, en las células que son selectivamente dañadas por la hiperglucemia, las concentraciones intracelulares de ésta reflejan en mayor medida lo que sucede en el medio extracelular, lo que conduce a elevadas concentraciones intracelulares de glucosa en presencia de hiperglucemia al no ser capaces de disminuir su transporte.

Algunos datos publicados indican que las células endoteliales cultivadas en ambiente hiperglucémico no pueden controlar su apetito por glucosa, originándose una entrada masiva de glucosa a su interior vía GLUT 1, independiente de insulina. En las células

con alta concentración de glucosa en su interior existe una mayor oxidación de ésta a través de la vía del ácido tricarbónico por lo que finalmente se generan más moléculas con poder reductor (NADH y FADH₂), conllevando esto un aumento del transporte de electrones a nivel de la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Esto genera un bloqueo en la transferencia de electrones a nivel del complejo III de la mitocondria, que retroceden hasta el complejo previo y son por último donados a moléculas de oxígeno, generándose anión superóxido. La isoforma mitocondrial de la superóxido dismutasa (Mn-SOD) degrada este radical libre de oxígeno a peróxido de hidrógeno, el cual es convertido en agua y oxígeno por otras enzimas. En condiciones de hiperglucemia, el exceso de generación de anión superóxido supera la capacidad de la enzima Mn-SOD siendo, por tanto, potencialmente tóxico (Brownlee M, Nature, 2001). **Figura 2.**

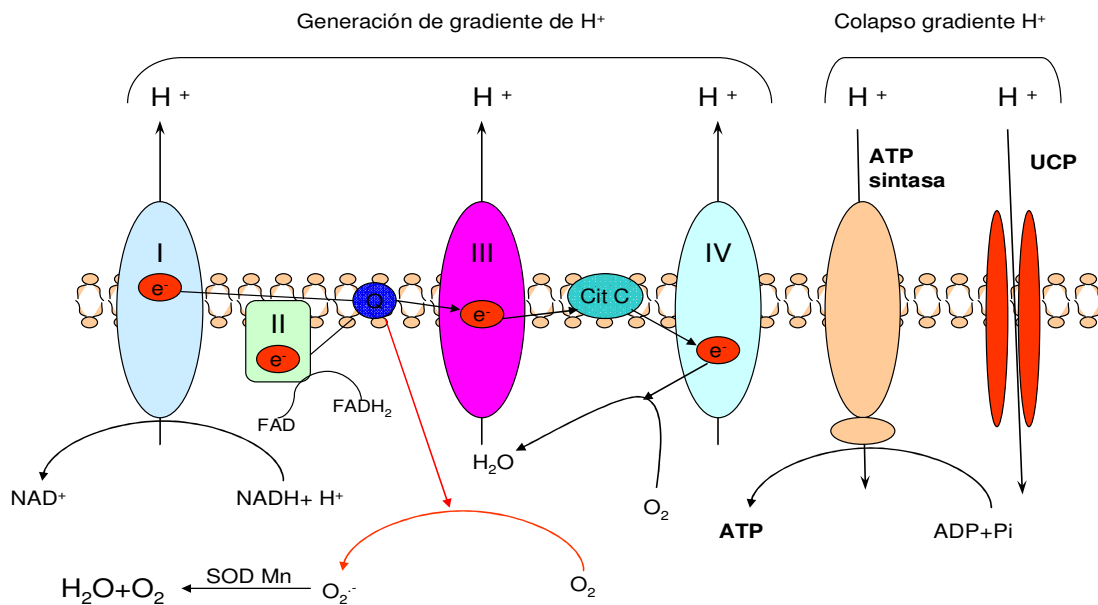


Figura 2. Cadena de transporte electrónico mitocondrial.

La oxidación de la glucosa comienza con la glicólisis citoplasmática que genera NADH y piruvato. El piruvato es transportado al interior de la mitocondria, siendo oxidado en el ciclo del ácido tricarbónico para producir: CO₂, H₂O, cuatro moléculas de NADH y una de FADH₂. Las moléculas de NADH y FADH₂ proporcionan energía para la producción de ATP a través de la fosforilación oxidativa de la cadena de transporte electrónico mitocondrial. El flujo de electrones en la cadena de transporte electrónico mitocondrial es llevado a cabo por cuatro complejos intramembrana asociados a enzimas, el citocromo C (Cit C) y el transportador móvil de electrones (ubiquinona: coenzima Q). Los electrones transferidos a través de los complejos I, III y IV generan un gradiente de protones que conduce a la síntesis de ATP. En condiciones de hiperglucemia se genera un exceso de donadores de electrones procedentes de la vía del ácido tricarbónico (NADH y FADH₂). Esto genera un elevado potencial de membrana por el bombeo de protones a través de la membrana. El exceso de donación de electrones inhibe su propio transporte a nivel del complejo III, retrocediendo a complejos previos y siendo finalmente donados desde la ubiquinona a moléculas de O₂, lo que genera anión superóxido. UCP: uncoupling protein.

Modificado de Brownlee M. *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature. 2001.

Los trabajos publicados por Brownlee *et al.* establecieron una novedosa teoría que implicaba a la generación de anión superóxido a nivel mitocondrial como elemento clave común involucrado en el desarrollo de las complicaciones microvasculares a través de las diferentes vías patogénicas descritas: incremento del flujo a través de la vía de los polioles (vía aldosa reductasa), producción de productos finales de glicación avanzada (AGE), activación de las isoformas de protein-kinasa C y el factor nuclear κ B e incremento del flujo a través de la vía de la hexosamina y la consecuente modificación de las proteínas por la N-acetilglucosamina. Según explica la teoría propuesta por este autor, las diferentes vías patogénicas implicadas en el desarrollo de complicaciones microvasculares sólo reflejan un proceso común inducido por la hiperglucemia que es la sobreproducción de anión superóxido en la cadena de transporte mitocondrial. La demostración indirecta de la implicación del anión superóxido en la activación de estas vías deriva de experimentos que muestran que la hiperglucemia no es capaz de activar estas vías cuando las células endoteliales sobreexpresan MnSOD (Nishikawa N, Nature, 2000).

Por otro lado, la actividad de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenada (GAPDH), enzima clave final de la vía glicolítica, está descendida en pacientes y animales diabéticos. Cuando la actividad de la enzima está reducida se incrementan los niveles de metabolitos de la vía glicolítica como el gliceraldehído 3-fosfato que activa dos de las cuatro vías (activación de protein kinasa C y formación de productos finales de la glicación avanzada), la frutosa-6-fosfato incrementándose el flujo a través de la vía de la hexosamina y finalmente del primer metabolito de la vía (glucosa) incrementándose el flujo a través de la vía de los polioles. El anión superóxido derivado de la hiperglucemia inhibe, *in vivo*, la actividad de la GAPDH modificándose esta enzima con polímeros de ADP-ribosa originados por la enzima poli-ADP-ribosa polimerasa. La enzima poli-ADP-ribosa polimerasa es activada cuando hay daño en ADN, y su función es la reparación de éste, generando en la reparación polímeros de ADP-ribosa. El incremento de anión superóxido derivado de la hiperglucemia es capaz de romper el ADN activando consecuentemente a la ADP-ribosa polimerasa y generando polímeros que, finalmente, serán los responsables de la inactivación de la enzima glicolítica GAPDH (Brownlee M, Diabetes, 2005; Brownlee M, Nature, 2001). **Figura 3.**

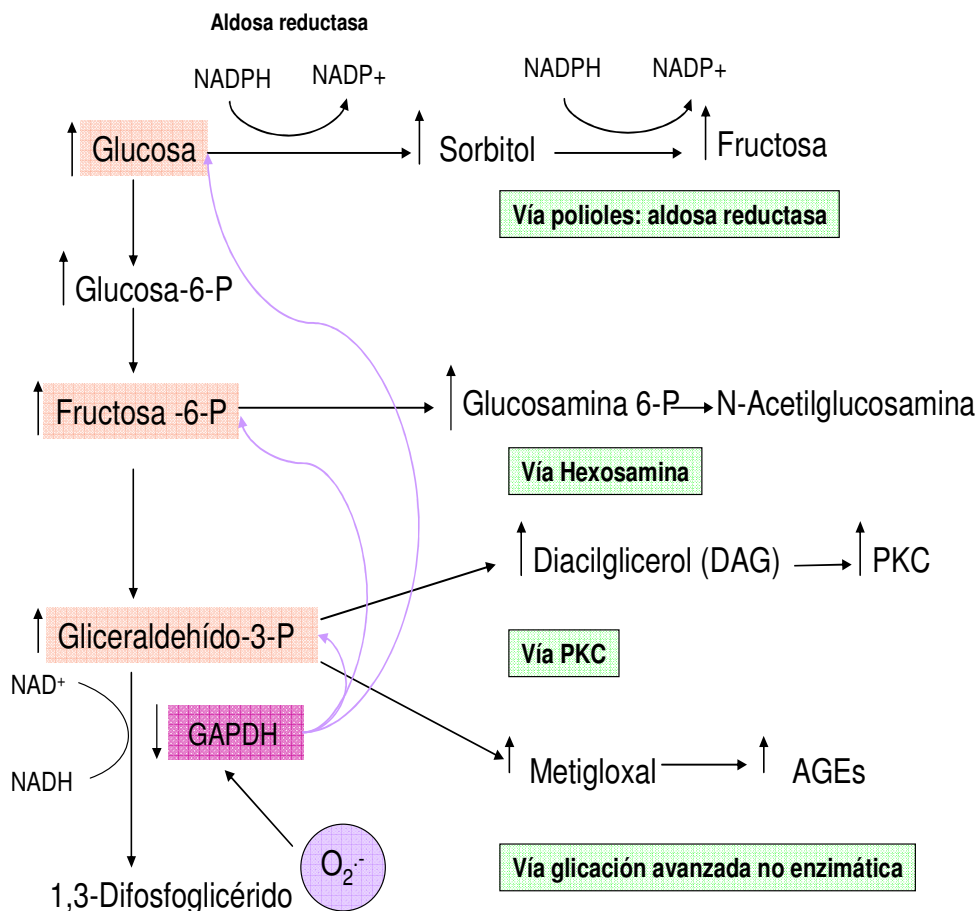


Figura 3. Teoría unificadora del anión superóxido.

Modificado de Brownlee M. *The pathobiology of diabetic complications*. Diabetes. 2005.

Esta teoría podría explicar una parte de la fisiopatología de las complicaciones, en concreto de las microvasculares, pero ¿cómo la hiperglucemia y la generación de EO derivado de ésta participan en la génesis de las complicaciones macrovasculares? A este respecto, diferentes estudios han demostrado *in vivo* (Ting HH, J Clin Invest, 1996) e *in vitro* (Teschfariam B, J Clin Invest, 1991) que la hiperglucemia puede causar disfunción endotelial y, de nuevo, los mecanismos propuestos por los cuales la hiperglucemia origina disfunción endotelial es a través de la generación de EO (Ceriello A, Diabetes Care, 2007; Ceriello A, Diabetes Care, 2003). En condiciones de hiperglucemia la disfunción endotelial se desarrolla rápidamente (en minutos u horas), lo que hace poco probable que esté mediada por mecanismos intermedios a través de productos finales de la glicación avanzada (Giugliano D, Circulation, 1997).

1.6.2- Estrés oxidativo y disfunción endotelial

Existen numerosas observaciones patofisiológicas en humanos y animales que llevan a formular la hipótesis de que la aterosclerosis es una respuesta a un daño permanente y que la disfunción endotelial es el primer paso en el desarrollo del proceso aterosclerótico (Ross R, *N Engl Med*, 1999).

El endotelio desarrolla un papel crucial en la regulación del tono vascular y su estructura, conociéndose además que realiza otras muchas funciones como la hemostasis, el crecimiento y la proliferación celular vascular y la activación de la inflamación. El endotelio realizará estas funciones adecuadamente si mantiene un equilibrio en la producción de factores implicados en la cascada de la coagulación y la fibrinólisis, mediadores de agregación y adhesión celular y antiagregación, así como en la síntesis y degradación de sustancias que promueven la inflamación y antiinflamación. En condiciones fisiológicas, el endotelio vascular actúa como un regulador inhibitorio de la contracción vascular, adhesión leucocitaria, crecimiento de las células musculares lisas y de la agregación plaquetaria. El concepto de disfunción endotelial abarca cualquier alteración funcional de las células del endotelio y/o incremento o reducción de alguno de los mensajeros químicos producidos por ellas y no sólo la alteración en la regulación del calibre de los vasos con alteración en la respuesta vasodilatadora a acetilcolina o a la hiperemia (ambas respuestas vasodilatadoras son dependientes de óxido nítrico) por pérdida de la bioactividad del óxido nítrico (ON) en la pared vascular (Calles-Escandon J, *Endocr Rev*, 2001).

Globalmente la función vascular es dependiente del balance entre mecanismos oxidantes y antioxidantes, lo cual determina la función endotelial. La producción de ON juega un papel central en la regulación de la función endotelial (Moncada S, *Pharmacol Rev*, 1991). Además de su función vasodilatadora, existe un cuerpo de evidencia creciente que sugiere que el ON derivado del endotelio podría tener otras funciones a nivel endotelial y jugar un importante papel antiinflamatorio, inhibiendo la adhesión y migración leucocitaria al limitar la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 (Libby P, *Circulation*, 2002) e inhibiendo la activación, adhesión y agregación plaquetaria (Davi G, *N Engl Med*, 2007). Además, están descritos sus efectos antitrombóticos (Landmesser U, *Circulation*, 2004).

El ON se genera del metabolismo de la L-arginina por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), de la que se han descrito tres isoformas, dos de ellas constitutivas: la cerebral

(bNOS) y la endotelial (eNOS) y una inducible (iNOS) (Nathan C, Cell, 1994). La biodisponibilidad del ON puede estar descendida por diferentes motivos: ausencia de sustratos o cofactores para eNOS, alteraciones en las vías de señalización intracelular, de manera que eNOS no actúa apropiadamente y una degradación acelerada de ON por parte de las ROS (Cai H, Circulation Research, 2000).

El anión superóxido en presencia de ON tiene mayor afinidad por éste que por la SOD, reaccionando rápidamente con el primero, formándose anión peroxinitrito y perdiéndose, por tanto, bioactividad y biodisponibilidad de ON. El incremento de la producción de ROS y de anión peroxinitrito promueve la degradación y oxidación del cofactor crítico de la eNOS tetrahidrobiopterina hacia dihidrobiopterina conduciendo a eNOS *uncoupling* (desacoplada), lo que implica la donación de electrones hacia moléculas de oxígeno reduciéndose la producción de ON y formándose anión superóxido en lugar de ON (Hink U, Circ Res, 2001; Vasquez-Vivar J, Proc Natl Acad Sci, 1998). Además de esto, el anión peroxinitrito es citotóxico, ya que oxida grupos sulfidrilos de proteínas, inicia procesos de peroxidación lipídica y nitración de aminoácidos como la tirosina que afecta a múltiples vías de transducción de señales (Beckman JA, Am J Physiol, 1996).

Por lo tanto, eNOS *uncoupling* origina EO y disfunción endotelial a través de tres vías diferentes: disminuyendo la producción enzimática de ON, produciendo anión superóxido y generando anión peroxinitrito secundariamente (Cai H, Circ Res, 2000).

Se ha demostrado que la hiperglucemia, por sí misma, incrementa la formación vascular de peroxinitrito y reduce la disponibilidad de ON (Giugliano D, Circulation, 1997). Está descrito, que las fuentes vasculares implicadas en la generación de anión superóxido y activadas por hiperglucemia (NADPH oxidasa y el sistema enzimático xantina oxidoreductasa) pueden oxidar directamente a la tetrahidrobiopterina alterándose consecuentemente la función de la eNOS (Landmesser U, J Clin Invest, 2003).

La compleja relación existente entre la formación de ON y la generación de ácido úrico se explica a través del sistema enzimático xantina deshidrogenasa y xantina oxidoreductasa. La enzima xantina deshidrogenasa cataliza el paso de xantina a ácido úrico, utilizando como cofactor y donador de electrones el NADPH. Esta enzima es inhibida por el ON. En situaciones de isquemia la enzima principalmente expresada es la xantina oxidoreductasa que utiliza como donador de electrones moléculas de oxígeno en lugar de NADPH; esto conlleva que en la formación de ácido úrico también se va a generar

anión superóxido y peróxido de hidrógeno (Strazzullo P, Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2007).

En la diabetes mellitus, la generación de EO como consecuencia de la hiperglucemia se ha implicado en la patogénesis de las complicaciones microvasculares y macrovasculares. El EO se considera, por tanto, un elemento iniciador y potenciador del desarrollo de micro y macroangiopatía en la DM a través de las vías descritas previamente.

1.6.3- Estrés oxidativo y diabetes mellitus tipo 1: estudios *in vivo*

El mecanismo a través del cual la hiperglucemia mantenida o aguda puede ejercer efectos a nivel micro y macrovascular parece estar en relación con la producción de radicales libres (Ceriello A, Diabetes, 2005).

En diversos estudios observacionales *in vivo* se muestra que la diabetes mellitus tipo 1 presenta un estado de mayor estrés oxidativo (Wentholt IME, Diabetologia, 2008; Dave, Cell Mol Biol, 2007; Firoozrai M, Diab Res Clin Prac, 2007; Martín-Gallán P, Free Radic Biol Med, 2003; Marra G, Diabetes Care, 2002; Domínguez C, Diabetes Care, 1998; Berg TJ, Diabetes Care, 1998). El estado de mayor EO se observa tanto al inicio de la enfermedad (Flores L, Metabolism, 2004; Davi G, Circulation, 2003) como en estadios más evolucionados (Berg TJ, Diabetes Care, 1998) y en todos los grupos de población: niños y adolescentes (Firoozrai M, Diab Res Clin Prac, 2007; Seckin D, Diab Res Clin Prac, 2006) o adultos (Marra G, Diabetes Care, 2002). Este estado se describe en DM 1 con complicaciones microvasculares (Berg TJ, Diabetes Care, 1998) o sin ellas (Marra G, Diabetes Care, 2002) y, al parecer, aquellos con complicaciones microvasculares asocian una situación de mayor EO frente a los que no las presentan a igual tiempo de evolución y grado de control metabólico (Martín-Gallán P, Free Radic Biol Med, 2003).

Estos trabajos en DM 1 describen la situación de EO tanto por aumento de los productos finales de la oxidación (Wentholt IME, Diabetologia, 2008; Firoozai M, Diab Res Clin Prac, 2007; Seckin D, Diab Res Clin Prac, 2006; Davi G, Circulation, 2003; Martín-Gallán P, Free Radic Biol Med, 2003; Vanderjagt DJ, Clin Biochem, 2001) como por descenso de las defensas antioxidantes (DeMattia G, Diab Res Clin Prac, 2008; Darmaun D, Diabetes, 2005; Firoozrai M, Diab Res Clin Prac, 2007; Marra G, Diabetes Care, 2002; Hartnett EM, Diabetes Care, 2000).

1.7- PAPEL DE LA INFLAMACIÓN CRÓNICA EN EL PROCESO ATEROSCLERÓTICO

1.7.1- Inflamación y aterosclerosis

La inflamación juega un papel primordial en todos los estadios del proceso aterosclerótico, incluyendo el inicio de la formación de la placa aterosclerótica, la progresión de ésta y las complicaciones de las lesiones avanzadas (Libby P, *Circulation*, 2002). En la actualidad, se entiende a la aterosclerosis y aterotrombosis como enfermedades crónicas inflamatorias. La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico (Ross R, *N Engl J Med*, 1999) y la inflamación es un componente importante de los síndromes coronarios agudos (Hansson GK, *N Engl J Med*, 2005).

1.7.2- Marcadores sistémicos de inflamación de bajo grado

Con el reconocimiento de que la aterosclerosis es un proceso inflamatorio, diversos marcadores de inflamación han sido evaluados como herramientas potenciales de predicción del riesgo de eventos coronarios. Se ha observado, en estudios poblacionales transversales que existen marcadores como la proteína C reactiva (PCR) (Mendall MA, *Br Med J*, 1996), la interleuquina 6 (IL 6) y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Mendall MA, *Heart*, 1997) que se asocian positivamente con enfermedad coronaria en individuos no diabéticos, siendo reflejo estos parámetros de un bajo grado de inflamación de la pared vascular.

Dado el papel central que parecen jugar la inflamación en la aterogénesis y en la aterotrombosis, la atención sobre los marcadores de inflamación se centra en si éstos pueden ayudar a predecir individualmente el incremento de riesgo de rotura de la placa, es decir el evento agudo (Blake GJ, *Circ Res*, 2001).

1.7.2.1-Proteína C reactiva ultrasensible

La proteína C reactiva es una proteína de origen hepático compuesta por cinco subunidades de 23 kilodalton, que desempeña un papel crucial en la respuesta inmune innata. La producción de PCR está regulada por citoquinas, principalmente la interleuquina 6 (Du Clos TW, *Ann Med*, 2000).

La PCR ultrasensible (PCRus) se considera biomarcador de enfermedad aterotrombótica, aunque también se han descrito algunas propiedades de esta proteína que la implican en el desarrollo de enfermedad vascular, por lo que podría participar también como mediador (Ridker PM, *Circulation*, 2003).

1.7.2.1.1- PCRus como mediador de enfermedad aterosclerótica

El papel como mediador de enfermedad aterosclerótica se refleja en datos que sugieren que la PCRus contribuye a generar disfunción endotelial, habiéndose encontrado que en pacientes con enfermedad coronaria, la vasodilatación dependiente del endotelio del antebrazo se correlaciona con los niveles séricos de PCRus (Fichtlscher S, *Circulation*, 2000). Existen otros fundamentos que sugieren su papel en la generación de disfunción endotelial. Así, se ha hallado que la exposición de células endoteliales a PCR disminuye la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial (Venogopal SK, *Circulation*, 2002), afectando a la estabilidad del RNAm en las células endoteliales (Verma S, *Circulation*, 2002).

Por otro lado, PCR tiene múltiples efectos directos que pueden afectar a la progresión de la enfermedad vascular como: la capacidad de unirse y activar al complemento, inducir la expresión de diferentes moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1) y factores celulares y tisulares, la estimulación de la liberación de citoquinas inflamatorias como IL1b, IL6 y TNF α por monocitos, la mediación de la captación de partículas de LDL por parte de los macrófagos e inducción del reclutamiento de monocitos en la pared arterial realizando esta función directamente en la placa de ateroma, donde se ha localizado PCR (Libby P, *Circulation*, 2002). Aunque la principal fuente de producción de PCR es el hígado, se ha demostrado que el tejido arterial es capaz de producir PCR y proteínas complementarias y que estos productos proteicos y sus RNA mensajeros asociados están sustancialmente sobreexpresados en las placas ateroscleróticas, siendo las células musculares lisas y los macrófagos los principales productores (Yasojima K, *Am J Pathol*, 2001). Adicionalmente, PCR facilita la apoptosis de células endoteliales y atenúa la angiogénesis, el cual es un mecanismo compensatorio de la isquemia (Verma S, *Circulation*, 2003).

1.7.2.1.2- PCRus como biomarcador de enfermedad aterosclerótica

Independientemente del papel patogénico que la PCRus pudiera desempeñar en el desarrollo de la aterosclerosis, como marcador de ésta, incrementos discretos de los niveles de PCRus pueden reflejar un estado inflamatorio de bajo grado, habiéndose demostrado que es un predictor independiente de mortalidad y eventos cardiovasculares tanto entre sujetos con alto riesgo de eventos aterotrombóticos como entre población sana (Jager A, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999). Así, diferentes estudios epidemiológicos en individuos sin enfermedad cardiovascular previa, han demostrado que el nivel basal de PCRus es un predictor independiente fuerte de eventos cardiovasculares futuros. La relación entre el nivel basal de PCR del individuo y el riesgo de evento cardiovascular ha sido consistente en diversas poblaciones tanto de Europa como de Estados Unidos, y en la mayoría de los casos independientemente de la edad, el hábito tabáquico, los niveles de colesterol, la presión arterial, la presencia de diabetes o la historia familiar de enfermedad coronaria (Ridker PM, *N Engl J Med*, 2000; Danesh J, *Br Med J*, 2000; Mendall MA, *Eur Heart J*, 2000; Jager A, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; Koenig W, *Circulation*, 1999; Kuller LH, *Am J Epidemiol*, 1996). En entre estos estudios cabe destacar el *Women Health Study (WHS)*. Se trata de estudio poblacional prospectivo realizado en 28.263 mujeres sanas postmenopáusicas, seguidas una media de ocho años para examinar la incidencia de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular isquémico, necesidad de revascularización o muerte de origen cardiovascular. En el subgrupo de mujeres del *WHS* que sufrieron eventos cardiovasculares, se demostró que el nivel de PCRus fue un predictor independiente de estos eventos y que comparando PCRus con otros marcadores de inflamación y parámetros lipídicos, PCRus fue el predictor más significativo de eventos cardiovasculares (Ridker PM, *N Engl J Med*, 2000). En un subanálisis de este estudio, se muestra que el nivel de PCRus además de ser un predictor más fuerte de eventos cardiovasculares que el LDL colesterol, permite diferenciar grupos de mayor o menor riesgo entre aquéllas que alcanzaron objetivos de LDL, pudiendo añadir una información pronóstica a la escala de riesgo cardiovascular de Framingham (Ridker PM, *N Engl J Med*, 2002).

Tres meta-análisis publicados en 2000, 2004 y 2009 de 11, 22 y 23 estudios con diferentes diseños, que estudian la asociación de los niveles de PCR con enfermedad coronaria, hallan una odds ratio para enfermedad coronaria de 2,0 (IC 95% 1,6-2,5),

1,58 (IC 95% 1,48-1,68) y 1,58 (IC 95% 1,37-1,83) en el primer, segundo y tercer meta-análisis respectivamente, en aquellos sujetos situados en el tercil superior de PCRus respecto al inferior (Buckley DI, Ann Intern Med, 2009; Danesh J, N Engl J Med, 2004; Danesh J, Br Med J, 2000).

Adicionalmente, entre sujetos con isquemia coronaria aguda, los niveles de PCRus se han asociado fuertemente con el pronóstico en estos pacientes, prediciendo PCRus nuevos eventos coronarios en pacientes con angina inestable o infarto agudo de miocardio (Lindahl B, N Engl J Med, 2000; Morrow D, J Am Coll Cardiol, 1998).

1.7.2.2- Citoquinas proinflamatorias

Algunas citoquinas como la IL 6 y el TNF α desempeñan un papel central en la amplificación de la cascada inflamatoria y estimulan la producción de otros marcadores inflamatorios. Estas citoquinas se pueden producir en diferentes tejidos incluyendo el adiposo, las células inflamatorias de la lesión aterosclerótica en la pared arterial o en otras localizaciones (Blake GJ, Circ Res, 2001). IL6 y TNF α juegan un papel importante en la regulación de la síntesis de otras proteínas de fase aguda involucradas en el desarrollo de aterosclerosis como el fibrinógeno y el factor VIII, siendo la IL 6 el principal estímulo para la producción de PCR a nivel hepático (Heinrich PC, Biochem J 1990). La asociación entre los niveles de IL6 y TNF α y el desarrollo de eventos cardiovasculares ha sido demostrado en algunos trabajos (Ridker PM, JAMA, 2001).

La IL 6 es una citoquina pleiotrópica que desempeña un papel fundamental en eventos inmunológicos y no inmunológicos relacionados con la inflamación, la defensa del huésped y el daño tisular. IL 6 es el principal mediador de la respuesta de fase aguda y se produce en respuesta a múltiples factores: infecciones, interleuquina 1, interferón γ y TNF α (Kristiansen OP, Diabetes, 2005). Su papel como potencial predictor independiente de eventos cardiovasculares quedó reflejado en el análisis del estudio *Physician Health Study* en el que se observó que los niveles basales de IL6 eran superiores en aquellos hombres que posteriormente sufrieron un infarto agudo de miocardio, incrementándose el riesgo relativo del primer evento agudo isquémico en cuartiles superiores respecto a los inferiores de IL 6 tras ajustar por factores de riesgo cardiovascular clásicos (Ridker PM, Circulation, 2000).

1.7.3- Inflamación, estrés oxidativo y proceso aterosclerótico

En el proceso aterosclerótico, el estrés oxidativo se propone como un elemento iniciador y acelerador del desarrollo de la placa aterogénica. Por otro lado, e íntimamente relacionado con el EO, la inflamación va a jugar un papel clave en el desarrollo de la aterosclerosis, enfermedad inflamatoria en la cual los mecanismos inmunes interactúan con los factores de riesgo metabólico para iniciar, propagar y activar lesiones en el árbol arterial (Hansson GK, N Engl J Med, 2005).

Las modificaciones oxidativas de los lípidos y de la apolipoproteína B (apo B) componente de las partículas LDL, origina partículas LDL oxidadas en el espacio subendotelial que conducen a la formación inicial de la estría grasa. Las modificaciones oxidativas de las partículas de LDL tienen efectos adicionales en la aterogénesis que incluye: citotoxicidad directa, inducción de moléculas de adhesión y quimiotácticas, inhibición de la relajación endotelial dependiente de endotelio, aumento de la expresión de factor tisular, activación de plaquetas y linfocitos T, estimulación del crecimiento de células musculares lisas y del factor activador del plasminógeno 1, formación de endotelina por las células endoteliales e inmunogenicidad (Glass CK, Cell, 2001). El grado de oxidación de las partículas LDL va a resultar crucial en el potencial aterogénico de éstas, ya que sólo cuando la oxidación es extensa estas partículas no van a ser reconocidas por el receptor LDL, uniéndose entonces a receptores *scavenger* expresados en la superficie de los macrófagos y de las células musculares lisas. Si la oxidación de estas partículas es mínima, estimulan la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales y la secreción de factores quimiotácticos (Steinberg D, N Engl J Med, 1989). El reclutamiento de monocitos en zonas proclives de grandes arterias, es decir, bifurcaciones y curvaturas, está regulado por la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales en respuesta a estímulos inflamatorios y a las partículas de LDL oxidada. Las células endoteliales activadas expresan diferentes tipos de moléculas de adhesión: molécula 1 de adhesión intracelular (ICAM-1), molécula 1 de adhesión vascular (VCAM-1), Selectina P y Selectina E, que contribuyen al reclutamiento de monocitos y linfocitos T. Una vez adheridos los monocitos a la superficie de las células endoteliales, su migración al interior de la pared vascular va a estar estimulado por las partículas LDL oxidada, la expresión de factores quimiotácticos o de crecimiento producidos en la capa íntima inflamada y de factores estimulantes de colonias de macrófagos, que inducen la entrada

de monocitos en la placa y su diferenciación hacia macrófagos. Este paso es crítico en el desarrollo de aterosclerosis y está asociado con una regulación a la alza de receptores implicados en la inmunidad innata, receptores *scavenger* y receptores *toll-like* en la superficie de los macrófagos. Los receptores *scavenger* internalizan una variedad amplia de moléculas, entre ellas partículas LDL oxidadas que cuando no pueden ser movilizadas se acumulan en el citosol de los macrófagos en células espumosas. Los receptores *toll-like*, al contrario que los receptores *scavenger*, pueden iniciar una cascada de señales que conducen a la activación de los macrófagos produciendo éstos citoquinas inflamatorias, proteasas y radicales de oxígeno y nitrógeno (Hansson GK, N Engl J Med, 2005).

En la progresión de la lesión aterosclerótica van a participar la formación de células espumosas y procesos inmunológicos derivados de la interacción y la presentación de antígenos entre los monocitos/macrófagos y los linfocitos T que secretan citoquinas (INF γ , IL-4, IL-10, IL-6), moléculas de superficie celular y enzimas, estableciendo un proceso inflamatorio crónico e induciendo cambios en otros grupos celulares. Así, en respuesta a la liberación de citoquinas inflamatorias las células musculares lisas van a migrar hacia el espacio subendotelial, proliferando y secretando proteínas de matriz extracelular que forman la placa fibrosa (Glass CK, Cell, 2001). La activación de un número limitado de células del sistema inmune en la placa inicia una potente cascada inflamatoria tanto en la lesión en formación como a nivel sistémico. Como resultado de esto, los niveles de IL 6 y PCR pueden ser detectados en la circulación periférica (Hansson GK, N Engl J Med, 2005).

La aterotrombosis, es decir, el evento agudo, se produce por ruptura de la placa fibrosa o erosión endotelial. La ruptura de la placa es peligrosa porque se expone a la sangre material protrombótico compuesto de fosfolípidos, factores titulares y moléculas de matriz adhesivas de plaquetas. Las placas vulnerables se caracterizan por tener una capa fibrosa delgada que se destruye parcialmente, una gran cantidad de contenido lipídico y abundantes células del sistema inmune activadas que producen moléculas inflamatorias y enzimas proteolíticas que van a debilitar la capa fibrosa, transformando una placa estable en una vulnerable (Libby P, Am J Cardiol, 2000).

1.7.4- Hiperglucemia, inflamación, estrés oxidativo y aterosclerosis

Se han descrito diversos mecanismos por los que la inflamación crónica de bajo grado puede estar incrementada en la diabetes. En condiciones de hiperglucemia, se producen modificaciones de macromoléculas, por conjugación no enzimática con el aminoácido lisina de las proteínas, formándose productos finales de la glicación avanzada (AGE). Estos AGE son reconocidos por unos receptores en la superficie celular (RAGE) y su unión puede activar fenómenos inflamatorios en las células endoteliales, células del músculo liso, fibroblastos y macrófagos; es decir, todos los tipos celulares implicados en la aterogénesis, induciéndose la expresión de citoquinas proinflamatorias y activándose otras vías relacionadas con la inflamación en las células vasculares endoteliales (Schmidt AM, *Circ Res*, 1999). El aumento de la síntesis de citoquinas como la IL1, IL6 y TNF α causa finalmente un incremento en la producción de PCRus (Hayaishi-Okano R, *Diabetes Care*, 2002).

Entre las múltiples vías que unen el EO y la inflamación en la diabetes, la interacción de AGEs y RAGEs resulta particularmente importante. El EO en sí mismo contribuye a la formación de AGEs, que al interactuar con su receptor en las células endoteliales, dispara la generación de ROS, jugando la enzima NADPH oxidasa un papel central. La regulación a la alza de radicales libres pueden resultar finalmente en una alteración de la expresión génica de diversas biomoléculas implicadas en la aterogénesis (Zhang L, *Circulation*, 2003). Por otro lado, la interacción AGE-RAGE parece reducir la expresión de eNOS desacoplada, por incremento de la tasa de degradación de su RNAm (Rojas A, *Arch Med Res*, 2006).

1.7.5- Inflamación en la diabetes mellitus tipo 1

En estudios transversales se ha comprobado que los individuos diabéticos presentan niveles de PCRus superiores a los no diabéticos o con glucemia basal alterada, tras ajustar por otros factores de riesgo cardiovascular incluyendo el índice de masa corporal (Ford ES, *Diabetes Care*, 1999).

En la diabetes mellitus tipo 1, al inicio de la enfermedad existe una elevación de los marcadores de inflamación como PCRus, IL 6 y TNF α como consecuencia del proceso inflamatorio agudo (Ergbagci AB, *Clin Biochem*, 2001). Más allá de la fase inicial, la actividad inflamatoria de bajo grado también se encuentra incrementada de forma

crónica, como se demuestra por un aumento en la concentración de PCRus en DM 1 sin macroangiopatía (Picardi A, Diab Metab Res Rev, 2007; Devaraj S, Diabetes, 2007; Jenkins AJ, J Diabetes Complications, 2007; Hayaishi-Okano R, Diabetes Care, 2002; Colhoun HM, Diabetes Care, 2002; Kilpatrick ES, QJM, 2000; Schalkwijk CG, Diabetologia, 1999), IL 8 (Devaraj S, Diabetes, 2007; Erbagci AB, Clin Biochem, 2001), TNF α (Devaraj S, Diabetes, 2007; Lechleitner M, J Intern Med, 2000) e IL 6 (Devaraj S, Diabetes, 2007; Targher G, Diabetes Care, 2001).

1.7.5.1- PCR en DM 1: asociación con complicaciones micro y macrovasculares

La actividad inflamatoria podría estar asociada a complicaciones micro y macrovasculares en DM 1. En un subanálisis del *EURODIAB Prospective Complications Study*, los niveles de PCRus, IL6 y TNF α , considerados individualmente, se encontraron incrementados en los diabéticos tipo 1 que presentaban complicaciones microvasculares (retinopatía o nefropatía) o macrovasculares respecto a los que no las presentaban. Considerando a estos tres marcadores de forma conjunta, los niveles de éstos fueron superiores en aquéllos que presentaban nefropatía, retinopatía o enfermedad cardiovascular frente a DM 1 normoalbuminúricos, sin retinopatía y sin enfermedad cardiovascular (Schram MT, Diabetologia, 2005). En otro trabajo se comprobó que los niveles de PCRus se encontraban incrementados en DM 1 frente a controles sanos y que existían un incremento progresivo en los niveles de PCRus en los DM 1 con mayor grado de nefropatía (Schalkwijk CG, Diabetología, 1999). Un estudio encuentra marcadores de inflamación de bajo grado (PCRus e IL1 β) superiores en los diabéticos tipo 1 con complicaciones microvasculares respecto a aquéllos sin complicaciones (Devaraj S, Diabetes, 2007).

En DM 1 de media o larga evolución, los incrementos en las concentraciones de PCRus se han asociado con estadios precoces del desarrollo de aterosclerosis carotídea (Hayaishi-Okano R, Diabetes Care, 2002) y, en los hombres, con calcificación arterial coronaria (Colhoun HM, Diabetes Care, 2002).

Entre los factores que han sido considerados determinantes de los niveles de PCRus en DM 1 se encuentran la hemoglobina glicosilada, el tiempo de evolución de la diabetes y el índice de masa corporal (Targher G, Diabet Med, 2005; Kilpatrick ES, QJM, 2000; Schalkwijk CG, Diabetología, 1999).

1.8- VARIABILIDAD GLUCÉMICA E INDUCCIÓN DE EO E INFLAMACIÓN

La potencial contribución de la variabilidad glucémica en el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares y sus vías fisiopatológicas es objeto de debate y especulación en la actualidad. Algunos datos extraídos del DCCT pusieron en evidencia la idea de que independientemente de la HbA_{1c} otros factores podían influir en la patogénesis de las complicaciones microvasculares. Los investigadores del DCCT comunicaron que, para la cohorte completa del estudio, la HbA_{1c} sólo podía explicar menos del 25% de la variación del riesgo de desarrollar esta complicación. La única diferencia existente entre ambos grupos era el régimen de tratamiento insulínico (DCCT Research Group, Diabetes, 1995). Otros grupos también sostienen la hipótesis de que la variabilidad glucémica podría implicar un exceso de riesgo de complicaciones, al observar una reducción en la incidencia de retinopatía diabética entre adolescentes diabéticos tipo 1 desde 1990 a 2002, a pesar de haber existido cambios poco significativos en las cifras de HbA_{1c} a lo largo de este periodo. La única modificación en el tratamiento fue el uso de tratamiento intensivo con terapia multidosis, con lo que se especula que una posible explicación de estas diferencias estribaría en las presumibles diferencias en variabilidad glucémica a lo largo del periodo de seguimiento (Mohsin F, Diabetes Care, 2005). Datos procedentes de otros estudios demuestran que la variabilidad glucémica parece estar relacionada con la presencia de neuropatía periférica y ser un predictor en el límite de la significación estadística de su incidencia (Bragd J, Diabetes Metab, 2008).

El mecanismo a través del cual la variabilidad glucémica estaría involucrada en la generación del daño podría estar en relación con la generación de EO. Se postula que una mayor variabilidad glucémica podría generar más especies reactivas de oxígeno en células predispuestas al daño por hiperglucemia y que la variabilidad glucémica podría ser un mecanismo capaz de generar acumulación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y acelerar la progresión de la enfermedad micro y macrovascular (Hirsch IB, J Diabetes Complications, 2005).

Diferentes trabajos *in vitro* e *in vivo* relacionan la variabilidad glucémica a lo largo del día y los picos hiperglucémicos postprandiales con la generación de daño celular, inducción de ROS y citoquinas inflamatorias.

1.8.1- Estudios *in vitro* y en modelos animales

La variabilidad glucémica parece estar fuertemente relacionada con la generación de EO en estudios *in vitro*.

In vitro, la medición de apoptosis en cultivos celulares de células endoteliales de vena umbilical expuestas a diferentes concentraciones de glucosa (concentración constante de 5 mmol/L, concentración constante de 20 mmol/L y concentraciones alternantes de 5 y 20 mmol/L) tras 7 y 14 días de exposición a estas concentraciones reveló un grado significativamente mayor de apoptosis tanto a los 7 como a los 14 días en las células expuestas a concentraciones alternantes (Risso A, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001). Hallazgos similares se han descrito tras exposiciones de cultivos celulares a bajas concentraciones, altas concentraciones y concentraciones alternantes de glucosa observándose un aumento de la actividad de la proteína kinasa C (PKC β), de los niveles de nitrotirosina, 8-hidroxi-2-deoxiguanosina y NADPH oxidasa (Quagliaro L, Diabetes, 2003), de moléculas de adhesión (selectina E, ICAM-1, VCAM-1) y citoquinas (IL 6) en las células sometidas a concentraciones alternantes frente a las expuestas a bajas y altas concentraciones (Picoli, J Thromb Haemost, 2004; Quagliaro L, Diabetes, 2003). Una comparación de hiperglucemia constante frente a hiperglucemia alternante en cultivos celulares de células de túbulo proximal y fibroblastos corticales reveló una mayor síntesis de colágeno, secreción de factor de crecimiento tisular β 1 (TGF β 1) e IGFBP-3 en estos cultivos tras la exposición a concentraciones alternantes frente a la condición de hiperglucemia mantenida (Jones SC, Diabetología, 1999). Hallazgos similares se han encontrado con la exposición de concentraciones intermitentes de glucemia en células mensangiales frente a altas concentraciones de glucosa, observándose que las concentraciones intermitentes suponían un estímulo superior para la hiperproducción de colágeno, un evento considerado fundamental en la génesis de la nefropatía diabética (Takeuchi A, Am J Physiol, 1995).

Estos hallazgos *in vitro* han sido reproducidos en algunos modelos animales (Horváth EM, Diabetologia, 2009).

1.8.2- Estudios *in vivo*

In vivo existen diversas evidencias directas e indirectas que apuntan la hipótesis de que el daño que origina la hiperglucemia aguda deriva de la generación de estrés oxidativo y nitrosativo (Monnier L, JAMA, 2006; Ceriello A, Diabetes Care, 2005; Ceriello A, Diabetes Care, 2002; Giugliano D, Circulation, 1997).

Los picos hiperglucémicos son capaces de activar fenómenos inflamatorios, con inducción de la expresión de moléculas de adhesión (Marfella R, Circulation, 2000) y citoquinas proinflamatorias (Stentz FB, Diabetes, 2004; Esposito K, Circulation, 2002) así como activación de la cascada de la coagulación (Ceriello A, Diabetes, 1995) es decir, todos los mecanismos implicados en la aterogénesis.

En modelos experimentales se ha observado que una sobrecarga oral de glucosa es capaz de incrementar la generación de ROS de los leucocitos en individuos sanos (Mohanty P, J Clin Endocrinol Metab, 2000). En un diabéticos tipo 2 tratados con antidiabéticos orales, se ha relacionado directamente la variabilidad glucémica (utilizando como medida de variabilidad glucémica MAGE) con la generación de EO (medido como 8-iso-PGF_{2α}), independientemente del control glucémico (Monnier L, JAMA 2006).

Evidencias indirectas obtenidas a través del uso de antioxidantes demuestran que los antioxidantes pueden impedir algunos de los efectos agudos inducidos por la hiperglucemia aguda como la disfunción endotelial (Beckman JA, Circulation, 2001), la activación de la cascada de la coagulación (Ceriello A, Diabetes, 1995), el incremento plasmático de ICAM-1 (Ceriello A, Horm Metab, 1998) y de interleuquinas (Nappo F, J Am Coll Cardiol, 2002), sugiriendo ésto que la acción aguda de la hiperglucemia está mediada por la producción de radicales libres.

1.8.2.1- Hiperglucemia postprandial y riesgo cardiovascular

Un componente de la variabilidad glucémica son las excursiones hiperglucémicas que se producen tras la ingesta, es decir, la hiperglucemia postprandial. La hiperglucemia postprandial tiene dos componentes: su duración que contribuye al grado de control glucémico crónico y la magnitud absoluta de las fluctuaciones postprandiales que contribuyen a la variabilidad (Bloomgarden ZT, Diabetes Care, 2007). En contextos clínicos muy diferentes al del paciente diabético tipo 1 como son la

población no diabética, la prediabetes y la diabetes mellitus tipo 2, diferentes estudios epidemiológicos han relacionado la hiperglucemia postprandial con la mortalidad cardiovascular. En concreto, el potencial efecto negativo de las excursiones glucémicas postprandiales sobre el desarrollo de enfermedad macro y microvascular ha recibido una atención especial en diabetes mellitus tipo 2.

El estudio DECODE (*The DECODE Study Group, Lancet, 1999*) y el *Honolulu Heart Study* (Donahue RP, *Diabetes, 1987*) han demostrado una asociación fuerte entre la glucemia postprandial y los resultados de la sobrecarga oral de glucosa y el riesgo de desarrollar enfermedad macrovascular. En concreto, en el estudio DECODE se realizó un análisis conjunto de datos procedentes de 10 estudios prospectivos europeos en los que se incluyeron a más 22.000 sujetos. En este estudio se señaló que las concentraciones de glucemia plasmática tras 2 horas de una sobrecarga oral de glucosa predecían la mortalidad por todas las causas, enfermedad cardiovascular y cardiopatía isquémica, tras el ajuste de factores de riesgo cardiovascular establecidos, mientras que los valores de glucemia plasmática basal no fueron predictores por sí mismos. La relación entre la glucosa plasmática tras las 2 horas de la sobrecarga y la mortalidad fue lineal, no observándose la misma relación con la glucemia plasmática basal.

El estudio Kumamoto mostró que el control intensivo de la glucosa en diabetes mellitus tipo 2 reducía significativamente el riesgo de complicaciones microangiopáticas y que, en el seguimiento a ocho años, la hiperglucemia postprandial fue un predictor fuerte de nefropatía, retinopatía y enfermedad macrovascular (Shichiri M, *Diabetes Care, 2000*). Entre los estudios de intervención que intentan demostrar el papel de la glucemia postprandial en el desarrollo de enfermedad cardiovascular el STOP-NIDDM aporta datos reveladores. En este ensayo clínico de 1429 sujetos con intolerancia hidrogenada, la utilización de un inhibidor de la α glicosidasa, un compuesto que específicamente reduce la glucemia postprandial, se asoció, no sólo, con la reducción de riesgo de diabetes mellitus un 25 % (Chiasson JL, *Lancet, 2002*) sino también con una reducción del 49 % de riesgo de desarrollo de eventos cardiovasculares (Chiasson JL, *JAMA, 2003*). El tratamiento con acarbosa, además, se asoció a un descenso significativo en la progresión del engrosamiento de la íntima de la carótida, considerado un marcador subrogado de aterosclerosis (Hanefeld M, *Stroke, 2004*).

1.8.3- Variabilidad glucémica y su implicación potencial en el desarrollo de complicaciones en diabetes mellitus tipo 1

Aunque son necesarios más estudios para poder comprender y confirmar si las elevaciones episódicas hiperglucémicas son capaces de magnificar los mecanismos de estrés oxidativo e inflamación, los datos preliminares de estudios *in vivo* e *in vitro* sugieren que la exposición constante a la hiperglucemia es capaz de generar mecanismos de defensa y adaptación que no se pueden poner en marcha en exposiciones intermitentes (Jones SC, Diabetologia, 1999; Risso A, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001).

La contribución real de la variabilidad glucémica en el desarrollo de complicaciones macro y microvasculares es aún desconocido. Algunas evidencias positivas de estudios *in vitro* e *in vivo* y, principalmente, derivadas de la relación de la hiperglucemia postprandial con la enfermedad macrovascular, sugieren que podría jugar un papel importante en la génesis de éstas o, al menos, contribuir de alguna manera en su generación o progresión.

En la diabetes mellitus tipo 1, la variabilidad glucémica es un fenómeno frecuente. La insulinopenia absoluta en esta enfermedad conlleva la dependencia de la insulina exógena, y este modo de tratamiento conduce a una variabilidad glucémica significativamente mayor a la apreciada en los diabéticos tipo 2 que precisan tratamiento insulínico. La variabilidad glucémica en la DM 1 expone al paciente a excursiones hiperglucémicas y a frecuentes hipoglucemias y limita los esfuerzos terapéuticos realizados con TM o ISCI, cuyo objetivo principal es imitar la secreción basal-prandial del páncreas endocrino.

Esta enfermedad asocia, ya desde el debut, una situación de EO e inflamación. Se especula si, independientemente del control glucémico global, los picos hiperglucémicos y/o las hipoglucemias participan por sí mismos en la inducción de EO y fenómenos inflamatorios, lo que podría contribuir a acelerar el desarrollo de complicaciones. Si bien aún no es un objetivo de control el conseguir una reducción de la variabilidad glucémica, existe un cuerpo creciente de datos científicos e intervenciones que sustentan la hipótesis de la participación de las excursiones glucémicas en la inducción de fenómenos de oxidación e inflamación, conociéndose que éstos están involucrados en la aparición de complicaciones micro y macroangiopáticas.

HIPÓTESIS

2- HIPÓTESIS

- La hiperglucemia crónica se asocia a un estado de mayor estrés oxidativo y proinflamatorio. En la diabetes mellitus tipo 1 existe un mayor grado de estrés oxidativo e inflamación crónica respecto a controles sanos.
- La variabilidad glucémica en diabetes mellitus tipo 1 incrementa por si misma este estado de mayor estrés oxidativo y de proinflamación, independientemente del control glucémico global.
- La terapia con sistemas de infusión continua en la diabetes mellitus tipo 1 en tratamiento previo con análogos de insulina en terapia multidosis consigue una reducción de la variabilidad glucémica y, secundariamente y asociado a este fenómeno, una disminución del estado prooxidante y proinflamatorio.

OBJETIVOS

3- OBJETIVOS

3.1- Objetivos principales

- Analizar si la variabilidad glucémica se asocia a mayor estrés oxidativo en la diabetes mellitus tipo 1 de modo independiente del control metabólico global.
- Analizar si la variabilidad glucémica se asocia a un estado proinflamatorio en la diabetes mellitus tipo 1 de modo independiente del control glucémico global.

3.2- Objetivos secundarios

- Conocer si la terapia mediante sistemas de infusión continua de insulina disminuye los parámetros de estrés oxidativo en diabetes mellitus tipo 1.
- Conocer si la terapia mediante sistemas de infusión continua de insulina disminuye los parámetros de inflamación crónica en diabetes mellitus tipo 1.
- Conocer el efecto de la terapia mediante sistemas de infusión continua de insulina sobre el grado de control glucémico y la variabilidad de pacientes con diabetes mellitus tipo 1.
- Conocer el efecto de la terapia mediante sistemas de infusión continua de insulina sobre la frecuencia de hipoglucemias, variables físicas y antropométricas y factores de riesgo cardiovascular en diabetes mellitus tipo 1.

METODOLOGÍA

4- METODOLOGÍA

4.1- Diseño del estudio

No es éticamente planteable la aleatorización de los pacientes de estudio para recibir tratamiento con ISCI o continuar la terapia multidosis, puesto que la terapia con ISCI debe ofrecerse necesariamente a aquellos pacientes con DM tipo 1 que reúnan los criterios actualmente aceptados para la misma. Por tanto, el diseño que se planteó fue el de un estudio cuasi experimental pre-intervención y post-intervención con un grupo control.

4.2- Sujetos de estudio

Se propuso estudiar a 24 diabéticos tipo 1 candidatos a ISCI y 11 controles sanos.

El grupo de estudio está constituido por:

1. Grupo terapia intensiva mediante sistema de infusión continua de insulina (TISCI) que recibían previamente tratamiento con terapia multidosis (TM): constituido, finalmente, por 24 pacientes diabéticos tipo 1. El modelo de ISCI utilizado para todos fue Paradigm 712 (Minimed, Medtronic, Sylmar, CA).
El grupo TISCI está formado por pacientes candidatos a ISCI que recibían tratamiento previo con TM antes de la colocación de ISCI (pre-ISCI) y tras la instauración del tratamiento con ISCI (post-ISCI).
2. Grupo control: constituido por 11 voluntarios sanos, pareados por edad y sexo.

Los sujetos candidatos a terapia con ISCI cumplían los criterios para su indicación establecidos por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía y contemplados en el Plan Integral de Diabetes de Andalucía (**Anexo 1**) y en todos los casos su implantación fue autorizada por la Comisión para la Valoración de Solicitudes de Instauración de Bombas de Infusión Continua de Insulina del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

Todos los participantes incluidos en el estudio han sido adecuadamente informados sobre las características y finalidad del estudio y han firmado el consentimiento informado, previamente su inclusión (**Anexo 2**).

El trabajo cumple los requisitos legales del Comité Ético de Investigación del Hospital Universitario Virgen del Rocío y se ha realizado de acuerdo con la ley de protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal). Este estudio cumple las normas éticas recomendadas por la VI Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (2002) y por el Convenio de Oviedo (1997-2000).

Este trabajo ha sido financiado gracias a las ayudas concedidas por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (Proyecto 174/05).

4.3- Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión establecidos salvo para los integrantes del grupo control fueron:

- Diabetes mellitus tipo 1, según la definición establecida por la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2003).
- Tiempo de evolución de la diabetes mellitus tipo 1 superior a un año.
- Edad entre 15 y 55 años.
- Índice de masa corporal entre 18.5 y 30 kg/m².
- Seguimiento reglado en la Unidad de Diabetes del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario Virgen del Rocío, en los últimos 12 meses.
- Haber recibido los cursos de educación diabetológica avanzada previstos para los pacientes en TM y TISCI impartidos en la Unidad de Diabetes del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario Virgen del Rocío.
- Adecuado grado de adiestramiento (dieta, actividad física, autocontroles) en el manejo de la diabetes.

Los criterios de exclusión para la participación en el estudio:

- Gestación.
- Instauración o modificación del hábito tabáquico durante el tiempo de seguimiento.
- Abuso de alcohol.
- Enfermedad infecciosa o inflamatoria aguda en los últimos tres meses antes de la inclusión en el estudio.
- Instauración o modificación de la dosis de tratamiento crónico con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas de los receptores de

angiotensina II, estatinas, cápsulas de ácidos grasos poliinsaturados n-3, antiagregantes plaquetarios, antiinflamatorios no esteroideos, esteroides y/o suplementos vitamínicos en las últimas seis semanas antes de la inclusión en el estudio o necesidad de instauración de alguno de estos fármacos durante el seguimiento.

- Trastorno psiquiátrico grave o incapacidad mental que imposibilite la comprensión de los términos de la participación en el estudio.
- Hipertensión arterial mal controlada, insuficiencia cardiaca, insuficiencia renal terminal o hepatopatía avanzada.
- Enfermedades del tejido conectivo.

4.5- Diseño del trabajo: planificación de las visitas y seguimiento

El reclutamiento de los pacientes (grupo TISCI) se realizó desde la Consulta Especializada de Diabetes del Hospital Universitario Virgen del Rocío. Se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes candidatos a ISCI durante los años 2006 y 2007 (n=38). Atendiendo a los criterios de inclusión y exclusión definidos en el apartado anterior se incluyeron un total de 29 pacientes del grupo TISCI, de los que completaron el estudio 24. El grupo control estuvo constituido por 11 voluntarios sanos.

El seguimiento de los pacientes pertenecientes al grupo ISCI se prolongó a lo largo de 3 meses realizándose cada una de las visitas en la Unidad de Día de Diabetes. El grupo control fue evaluado en una única visita.

En cada visita, se procedió a la extracción sanguínea de la vena antecubital a las 9 horas A.M., tras 10 horas de ayuno nocturno, de parámetros bioquímicos, de EO e inflamatorios y el registro de variables clínicas y antropométricas.

El seguimiento del grupo TISCI ha seguido el siguiente esquema (**Figura 4**):

- **Primera visita (día -3):** se realizó la historia clínica protocolizada (**Anexo 3**). Se registraron las variables antropométricas y clínicas. Los pacientes cumplimentaron el cuestionario de satisfacción del tratamiento con el tratamiento que recibían en ese momento (TM). Se procedió a la colocación del sensor continuo de glucosa.
- **Segunda visita (día 0):** se procedió a la retirada del sensor continuo de glucosa y a la extracción de las muestras para análisis de los parámetros bioquímicos, de

control glucémico, marcadores de EO y de inflamación. Tras dicha extracción, se procedió a la colocación de la ISCI.

- **Tercera visita (día 30):** se registraron las variables antropométricas y clínicas. Se procedió a la extracción de las muestras para análisis de los parámetros bioquímicos, de control glucémico, marcadores de EO y de inflamación.
- **Cuarta visita (día 60):** se registraron las variables antropométricas y clínicas. Se procedió a la extracción de las muestras para análisis de los parámetros bioquímicos, de control glucémico, marcadores de EO y de inflamación.
- **Quinta visita (día 90):** se procedió a la colocación del sensor continuo de glucosa.
- **Sexta visita (día 93):** se procedió a la retirada del sensor de glucosa, se registraron las variables antropométricas y clínicas, y a la extracción de las muestras sanguíneas para análisis de los parámetros bioquímicos, de control glucémico, marcadores de EO y de inflamación. Los pacientes cumplimentaron el cuestionario de satisfacción con ISCI.

Todas las variables que se especifican se registraron en una base de datos diseñada a tal efecto, para su posterior análisis.

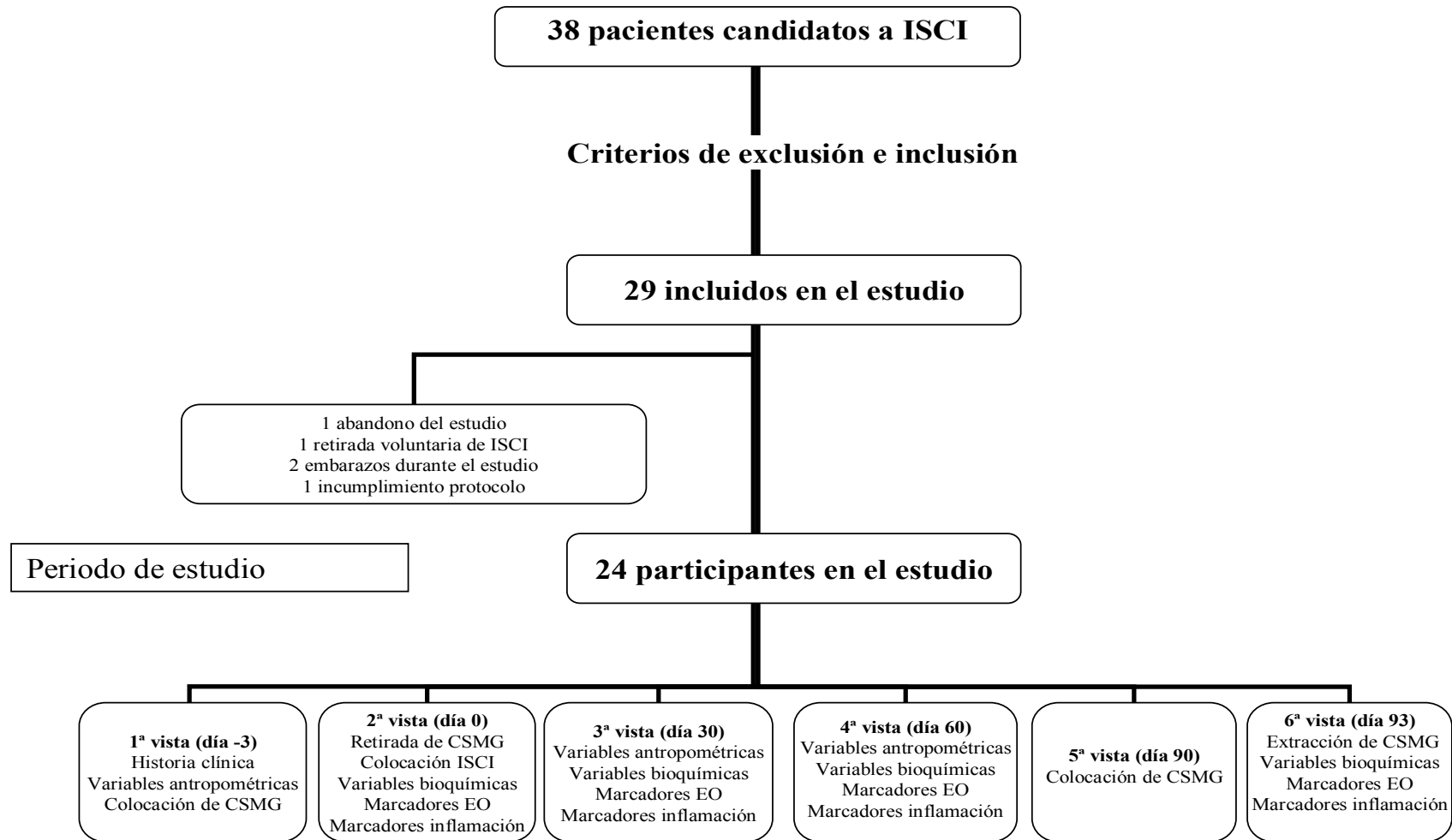


Figura 4. Representación esquemática de la metodología del estudio.

4.5- Protocolo de actuación antes, durante y tras la instauración de ISCI

Antes de la implantación de la ISCI se programó:

- El tratamiento que el grupo pre-ISCI debía realizar el día antes de la colocación de la bomba de insulina.
- El tratamiento con ISCI (tasa basal y bolos) en función de las dosis previas de insulina que recibían en TM.
- El tratamiento alternativo ante posibles averías o interrupciones temporales del tratamiento con ISCI.

Con la finalidad de que no hubiera una influencia excesiva por solapamiento de efectos de la insulina de acción prolongada sobre la tasa basal al colocar la bomba de insulina, se siguió la siguiente pauta:

- a) En aquellos pacientes que recibían tratamiento previo con régimen bolo-basal con NPH como insulina de acción prolongada se mantuvieron los mismos bolos de análogos de insulina rápida y se administró la misma dosis de NPH que previamente tenían establecida después de la cena el día previo.
- b) En aquellos pacientes en tratamiento previo en régimen bolo-basal con insulina basal detemir o glargina: se mantuvieron los mismos bolos de análogos de acción rápida y se redujo de un 33 a un 50 % la dosis del análogo de acción prolongada establecido la noche antes del comienzo de la terapia con ISCI.

La implantación de la ISCI se llevó a cabo en la Unidad de Día de Diabetes, donde los pacientes permanecieron el día de su instauración durante el tiempo que fue necesario hasta asegurar una estabilidad en el control glucémico. Durante el periodo que estuvieron en la Unidad, se les realizó determinaciones horarias de glucemia capilar para el ajuste del tratamiento insulínico.

La dosis total de insulina en ISCI se calculó restando el 15-20 % de la dosis total de insulina que los pacientes recibían en TM. La cantidad de insulina correspondiente a la tasa basal y a los bolos resultó del reparto de la dosis total en un 50 % para la tasa basal y un 50 % para los bolos. Se utilizaron análogos de insulina rápida (insulina lispro o aspártica) para la infusión de ISCI.

El cálculo de la tasa basal se efectuó dividiendo la cantidad de insulina correspondiente a ésta entre las 24 horas, con un reparto inicial ajustado por franjas horarias. En

general, se establecieron 5 ó 6 tasas basales en las siguientes franjas horarias: 0-4 AM, 4-8 AM, 8-12 AM, 12-16 PM, 16-20 PM, 20-24 PM.

La modificación del ritmo basal de 0,05 a 0,1 UI / hora se realizó cuando los valores de glucemia estaban 30 mg/dL por encima o por debajo de los objetivos establecidos durante dos días consecutivos, realizándose el cambio al menos dos horas antes de la franja horaria que se quisiera modificar.

El ajuste de los bolos preprandiales en cada una de las ingestas se realizó teniendo en cuenta los controles de glucemia postprandial y las raciones de hidratos de carbono de cada comida.

Los bolos correctores, antes situaciones de hiperglucemia, se calcularon de acuerdo a la siguiente fórmula: $(\text{Glucemia real} - \text{Glucemia ideal}) / \text{Factor de sensibilidad (FS)}$, en la que se consideró una glucemia ideal para adultos de 100 mg/dL y se calculó el FS según la regla de 1800 ($\text{FS} = 1800 / (\text{dosis total de insulina en 24 horas})$).

Los pacientes fueron adiestrados para poder actuar correctamente antes las siguientes circunstancias: hipo o hiperglucemia, antes y después de la realización de ejercicio físico y enfermedades agudas. Se les suministró material por escrito con la pauta alternativa de insulina a seguir ante fallo técnico de ISCI, así como pautas de desconexión temporal transitoria de la ISCI.

Todos los pacientes acudieron a la Unidad de Día a las 24 y 48 horas de la instauración del tratamiento con ISCI para valoración del funcionamiento del dispositivo, su situación metabólica y modificación del tratamiento si era preciso. Posteriormente fueron revisados a los 7 y 14 días después de la implantación o con periodicidad más frecuente en los casos en los que se estimó oportuno por parte del equipo médico.

4.6- Objetivos de control glucémico durante el seguimiento

El objetivo general de control glucémico fue alcanzar una hemoglobina glicosilada inferior al 7 % y lo más cercana posible al rango de normalidad (4-6 %), individualizándose para cada paciente objetivos diferentes según sus propias características, de acuerdo con la guías de práctica clínica vigentes (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2010).

En términos globales, se estableció como objetivo general, teniendo en cuenta las situaciones especiales, los controles de glucemia capilar propuestos por la Asociación Americana de Diabetes, con el propósito de conseguir la normoglucemia:

- Antes de las comidas: 70-130 mg/dL
- 1-2 horas después del comienzo de las comidas: ≤ 180 mg/dL
- Antes de acostarse: 100-140 mg/dL
- A las 3:00-4:00 de la madrugada: ≥ 90 mg/dL

Si la indicación de ISCI era la presencia de hipoglucemias inadvertidas o frecuentes, los objetivos marcados estuvieron por encima de 100 mg/dL. En las candidatas a ISCI en fase de programación de embarazo, el objetivo de control fue establecido lo más cercano posible a la normoglucemia. En este caso los objetivos de control fueron los propuestos por la ADA en el embarazo: glucemia capilar basal 60-99 mg/dl y el pico de glucemia postprandial entre 110 y 129 mg/dl (Kitzmler JL, Diabetes Care, 2008).

4.7- Educación diabetológica y autocontroles de glucemia capilar

Previamente a la implantación de ISCI todos los pacientes habían recibido educación diabetológica avanzada, así como una formación específica para el manejo técnico de la ISCI (Contenido educativo del programa de Educación Diabetológica Avanzado y del programa de Educación Diabetológica Específica para pacientes que inician tratamiento con ISCI en **Anexos 4 y 5**).

Todos los pacientes estaban adecuadamente adiestrados en la técnica de realización de los autocontroles de glucemia capilar y las modificaciones de la pauta insulínica en diferentes circunstancias. El sistema utilizado para la realización de los autocontroles de glucemia capilar fue un glucómetro marca Accu-Chek® Sensor (Roche Diagnostics). El grupo TISCI se realizó, al menos, cuatro autocontroles de glucemia capilar diarios basales a lo largo del día y antes de acostarse, así como en circunstancias especiales (clínica compatible con hipoglucemia o previamente a la realización de actividad física). La indicación de la realización de un mayor número de autocontroles de glucemia capilar, incluyendo controles postprandiales 1-2 horas tras el comienzo de la comida y control de madrugada, se estableció por parte del equipo médico si existían hipoglucemias inadvertidas, sospecha de hipoglucemias nocturnas, hiperglucemia matutina o glucemias preprandiales en rango de objetivo de control glucémico y HbA_{1c} por encima del objetivo (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2008).

En la fase de programación de embarazo se intensificó el número de controles basales y postprandiales (una hora después del comienzo de la comida) hasta un número de 6 ó 7 diarios.

4.8- Sistemas de monitorización continua de glucosa

Para la monitorización continua de glucosa se utilizó el sistema CGMS System GoldTM (Minimed, Medtronic). El sensor de glucosa se implantó en el grupo TISCI en la Unidad de Día de Diabetes y la monitorización se realizó durante 72 horas de forma ambulatoria. Durante el periodo de monitorización los pacientes llevaron a cabo su actividad diaria (excepto ejercicio físico intenso) y su tratamiento habitual, y no tuvieron información de las mediciones obtenidas por el sensor, al tratarse de un sistema de registro ciego.

Finalizado el periodo de monitorización, los datos recogidos fueron transferidos a un ordenador a través de un módulo de comunicación para su análisis posterior mediante un software que procesó los datos.

La calibración del sistema se llevó a cabo introduciendo, al menos, cuatro determinaciones de glucemia capilar diarias. La media del coeficiente de correlación entre las determinaciones de glucemia capilar y las obtenidas por el sensor fue de $0,92 \pm 0,056$.

En el sensor se definió como umbral de hiperglucemia el valor de glucemia superior a 180 mg/dL, normoglucemia entre 70-180 mg/dL, y como umbral de hipoglucemia inferior a 70 mg/dL. La utilización de estos umbrales se ha realizado en base a los estudios publicados de precisión del sistema CGMS System GoldTM de acuerdo con el método *CG-EGA (Continuous Glucose Error Grid Analysis)* (Clarke WL, Diabetes Care, 2005). Se consideraron para el análisis de los datos sólo las determinaciones obtenidas el segundo día de registro del sensor.

Del periodo de estudio con la monitorización continua de glucemia se obtuvieron los siguientes datos:

- Valor medio de glucosa (mg/dL).
- Desviación estándar de la media de la glucosa (mg/dL).
- Número de excursiones hiper o hipoglucémicas según los umbrales establecidos.
- Tiempo y porcentaje del tiempo en hiperglucemia: periodo en minutos que transcurre con valores por encima del umbral de hiperglucemia y porcentaje del tiempo correspondiente (minutos, % de tiempo del periodo monitorizado).
- Tiempo y porcentaje del tiempo en hipoglucemia: periodo en minutos que transcurre con valores por debajo del umbral de hipoglucemia y porcentaje del tiempo correspondiente (minutos, % de tiempo del periodo monitorizado).

- Tiempo y porcentaje del tiempo en normoglucemia: periodo en minutos que transcurre con valores comprendidos entre los umbrales de hipo e hiperglucemia (minutos, % de tiempo del periodo monitorizado).
- Área bajo la curva preprandial del desayuno (mg/dL x minuto): área del periodo preprandial del desayuno considerando 1 hora antes del inicio de éste.
- Área bajo la curva tras el desayuno (mg/dL x minuto): área del periodo postprandial del desayuno considerando 3 horas después del inicio de éste.
- Incremento del área bajo la curva postprandial del desayuno (mg/dL x minuto): incremento del área sobre el área preprandial del desayuno del periodo de 3 horas que siguen al inicio del desayuno.
- Área bajo la curva preprandial del almuerzo (mg/dL x minuto): área del periodo preprandial del almuerzo considerando 1 hora antes del inicio de éste.
- Área bajo la curva tras el almuerzo (mg/dL x minuto): área del periodo postprandial del almuerzo considerando 3 horas después del inicio de éste.
- Incremento del área bajo la curva postprandial del almuerzo (mg/dL x minuto): incremento del área sobre el área preprandial del almuerzo del periodo de 3 horas que siguen al inicio de éste.
- Área bajo la curva preprandial de la cena (mg/dL x minuto): área del periodo preprandial de la cena considerando 1 hora antes del inicio de ésta.
- Área bajo la curva tras la cena (mg/dL x minuto): área del periodo postprandial de la cena considerando 3 horas después del inicio de ésta.
- Incremento del área bajo la curva postprandial de la cena (mg/dL x minuto): incremento del área sobre el área preprandial de la cena del periodo de 3 horas que siguen al inicio de éste.
- Área bajo la curva del periodo nocturno (mg/dL x minuto): área del periodo de 0:00 AM a 8:00 AM.
- Área bajo la curva del periodo de madrugada (mg/dL x minuto): área del periodo de 4:00 AM a 8:00 AM.

Se establecieron los siguientes periodos del día a evaluar:

- Periodo de 24 horas: considerado como el periodo de tiempo de 24 horas transcurridas las primeras 24 horas tras la colocación del sensor.
- Periodo nocturno: periodo de tiempo comprendido tras finalizar el postprandial de la cena (3 horas después de la cena) hasta el desayuno del día siguiente.
- Periodo de madrugada: periodo de 4.00 a 8.00 horas A.M.

- Periodo antes del desayuno: la hora antes del desayuno.
- Periodo tras el desayuno: las tres horas después del desayuno.
- Periodo antes del almuerzo: la hora antes del almuerzo.
- Periodo tras el almuerzo: las tres horas después del almuerzo.
- Periodo antes de la cena: la hora antes de la cena.
- Periodo después de la cena: las tres horas después de la cena.

4.9- Variables

4.9.1- Variables clínicas

-Género.

-Edad: expresada en años.

-Tiempo de evolución de la diabetes: expresado en años.

-Parámetros antropométricos. Las variables antropométricas se han tomado con el paciente en ropa ligera y sin zapatos.

- Índice de masa corporal: medido como la relación entre el peso del paciente en kilogramos y la talla al cuadrado (expresado en metros).

-Tensión arterial: se ha determinado mediante un esfigmomanómetro Riester Minimus II. Se ha definido hipertensión arterial como la presencia de cifras de tensión arterial en dos determinaciones en situación de reposo ≥ 130 mmHg sistólica o ≥ 80 mmHg de diastólica o por la necesidad de la toma de antihipertensivos para alcanzar estos objetivos.

-Régimen insulínico pre-ISCI. Tipo de análogo de acción rápida (aspártica o lispro) y de insulina de acción prolongada (glargina, detemir o NPH) utilizada antes de la instauración de ISCI en régimen bolo-basal.

-Dosis de insulina: se han calculado en función de las necesidades globales de insulina diarias expresadas en unidades al día (UI/día) y según el peso corporal (UI/kg/día).

-Presencia de complicaciones relacionadas con la diabetes mellitus:

- Retinopatía diabética (RD) (sí/no): se definió el grado de RD mediante la realización de exploración oftalmológica completa que incluía la valoración del fondo de ojo bajo midriasis farmacológica o angiografía fluoresceínica, de acuerdo con la clasificación “*International Clinical Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale*” que clasifica la RD en ausencia de RD, RD no proliferativa (leve, moderada

y severa) y proliferativa y el grado de severidad del edema macular diabético de acuerdo con la “*International Clinical Diabetic Macular Edema Disease Severity Scale*” que lo clasifica en edema macular ausente o presente (leve, moderado o severo) (Fong DS, Diabetes Care, 2004).

- Nefropatía diabética (sí/no). La normoalbuminuria se definió como cifras de albumina inferiores a 30 µg/mg creatinina, la microalbuminuria como cifras entre 30-300 µg/mg creatinina, la macroproteinuria como albuminuria superior a 300 µg/mg creatinina en, al menos, dos muestras de orina recogida al azar. La insuficiencia renal se definió con cifras de aclaramiento de creatinina inferiores a 60 mL/min por 1,73 m² de superficie corporal según la fórmula de Cockcroft-Gault (Cockcroft DW, Nephron, 1976) y estadiada según aclaramiento estimado mediante la fórmula de Cockcroft-Gault: estadio 2 o leve, 60-89; estadio 3 o moderada, 30-59; estadio 4 o severa, 15-29; estadio 5 o terminal, <15. La excreción urinaria de albúmina fue determinada en muestras de orina nocturna mediante inmunturbidimetría láser.
- Neuropatía periférica distal (sí/no). Para la evaluación de la presencia de neuropatía periférica se exploró la sensibilidad a la presión mediante monofilamento de 10 gramos y la percepción vibratoria utilizando un diapasón calibrado de 128 Hz de los miembros inferiores a nivel distal. Se establecieron las categorías de sensibilidad normal, disminuida o ausente.
- Enfermedad macrovascular (sí/no). Se consideró enfermedad macrovascular clínicamente manifiesta la presencia de enfermedad cardiovascular clínica (angina estable o inestable, antecedente de infarto agudo de miocardio, claudicación intermitente con diagnóstico de vasculopatía periférica o antecedente de amputación por este motivo, accidente cerebrovascular isquémico) y/o la necesidad de revascularización o la presencia de otras formas de enfermedad aterosclerótica (equivalentes de riesgo de enfermedad cardiovascular: aneurisma aórtico abdominal y enfermedad arterial carotídea asintomática).

4.9.2- Variables de control y variabilidad glucémica

Variables de control metabólico

Considerado como el porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}), medida mediante HPLC en sangre total (ABX Diagnostic) y sus resultados han sido expresados en %; el nivel superior de normalidad se establece en 6 %.

Variables de variabilidad glucémica

La variabilidad glucémica se ha definido como la amplitud y frecuencia de las excursiones glucémicas, registradas durante 72 horas a través del sensor continuo subcutáneo de CGMS System Gold TM. Para el análisis de los datos, y con el fin de evitar las oscilaciones glucémicas del primer día de la colocación y antes de la retirada, se tuvieron en cuenta los registros de glucemia del segundo día (24 horas) de la colocación del sensor (Monnier L, JAMA, 2006).

Se han utilizado para el análisis de los datos como medidas de variabilidad:

- Desviaciones estándares de la glucemia media (SD).
- Índice MAGE: definido como la media aritmética de los incrementos o decrementos de la glucemia superiores a una desviación estándar de la glucemia media, según el método descrito por Service *et al* (Service FJ, Diabetes, 1970).
- Variación glucémica respecto a la normalidad: obtenida a partir de la media de la glucemia medida en cada punto menos 5,5 mmol/L (99 mg/dL) (Kessler L, Diabetes Care, 2002).
- Rango intercuartílico: diferencia entre el primer y el tercer cuartil (percentil 25 y percentil 75 respectivamente).
- Número de excursiones glucémicas por encima y por debajo de rango.
- Porcentaje de tiempo en hiper e hipoglucemia.

4.9.3- Grado de satisfacción con el tratamiento

Se evaluó el grado de satisfacción con el tratamiento insulínico antes (pre-ISCI) y a los tres meses de la implantación de la ISCI (post-ISCI) mediante el cuestionario *Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire (DTSQ)* de Bradley (Bradley C, Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire, 1994), que consta de 8 preguntas y valora las respuestas en una escala del 0 al 6 para cada ítem (**Anexo 6**).

4.9.4 - Variables bioquímicas. Métodos de valoración

Las muestras de sangre para las determinaciones bioquímicas se tomaron de una vena antecubital tras 10 horas de ayuno y antes de la administración de fármacos y/o insulina.

En la primera visita y de forma mensual se han determinado: hemograma, perfil bioquímico básico (glucosa, creatinina, urea, iones, ácido úrico), lipídico (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos, apolipoproteína-A1 y apolipoproteína-B), hepático (colinesterasa, AST, ALT, GGT, FA y bilirrubina), hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}).

El hemograma se determinó mediante analizador automático multiparamétrico (Cell-DYN 400, Abbott). Los parámetros bioquímicos generales (perfil básico, hepático, y lipídico) se determinaron en autoanalizador modular HITACHI. El colesterol total fue analizado por un método enzimático (CHOD-PAP®, Roche Diagnostics GMBH). Los niveles de HDL-colesterol fueron determinados tras la precipitación de VLDL y LDL con ácido fosfotúngstico y cloruro de magnesio. La fórmula de Friedewald ($\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-colesterol} - (\text{Triglicéridos}/5)$) se aplicó para calcular los niveles de LDL-colesterol (Friedewald, Clin Chem, 1972), salvo en los casos de triglicéridos superior a 400 mg/dL, en los que se determinó por ultracentrifugación. Los niveles de triglicéridos se determinaron por un método enzimático (GPO-PAP®, Roche Diagnostics GmbH). Las apolipoproteínas A1 y B fueron determinadas mediante métodos inmunturbidimétricos (Tina-quant® apolipoproteins A1 y B, respectivamente, Roche Diagnostics GMBH).

4.9.5- Sistemas de antioxidación y marcadores de inflamación. Métodos de valoración

Las variables bioquímicas relacionados con los sistemas de antioxidación (sustratos antioxidantes, enzimas antioxidantes y productos finales de la peroxidación lipídica) y marcadores de inflamación (PCRus) se determinaron en la primera visita y de forma mensual.

- **Determinación de sustratos antioxidantes:**

- **Capacidad antioxidante total del plasma (TAS)**

La capacidad antioxidante total (TAS) se ha cuantificado utilizando el kit de TAS (Randox Lab.) en un analizador Cobas Mira Plus (Dade Boehringer) de acuerdo con la técnica de Uotila *et al* (Uotila JT, Free Radic Biol Med, 1994). Los resultados se han expresado en $\mu\text{mol/L}$.

- **Vitamina E**

Para medir los niveles de vitamina E se utilizó el kit vitamin A/E mediante HPLC (BIO-RAD). Los resultados se han expresado en $\mu\text{g/dL}$.

- **Determinación de enzimas antioxidantes:**

- **Superóxido dismutasa (SOD)**

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD; E.C. 1.15.1.1) se realizó sobre alícuotas de lisado de eritrocitos y el proceso mediante equipo Bioxytech S.A. (SOD-525) Oxis internacional Inc. (Portland, OR, USA). Los resultados obtenidos en la actividad de esta enzima se han expresado como U/ g de hemoglobina.

- **Catalasa**

La actividad de la enzima catalasa se determinó en plasma. Para el análisis de la actividad se utilizó un ensayo comercial (LPO 586 de Bioxytech) Oxis Internacional Inc. (Portland, OR, USA).

Los resultados se han expresado en nmol/mL/min .

- **Determinación de productos finales de peroxidación lipídica: MDA**

Los niveles del producto de lipoperoxidación, malondialdehído (MDA) se determinaron en plasma. Para la determinación de MDA se utilizó un ensayo comercial (LPO 586 de Bioxytech) Oxis Internacional Inc. (Portland, OR, USA). Los valores se han expresado en nmol/L .

- **Cuantificación de proteínas**

Las proteínas se cuantificaron mediante método Bradford suministrado por Sigma, utilizando albúmina sérica como estándar.

- **Determinación de marcadores de inflamación**

- **Proteína C reactiva ultrasensible:** se determinó en suero mediante inmunonefelometría (Dade Behring InC) de manera automatizada en el sistema Dimension Vista TM. Los resultados se han expresado en mg/L .

4.10- Análisis estadístico

Los datos han sido codificados, introducidos y analizados en el programa SPSS (*Statistical Package for Sociological Sciences Software*) versión 15.0 para Windows. Se ha utilizado el paquete Microsoft Office 2007 como procesador de textos y el programa GraphPad Prism 5 para la realización de los gráficos. Los registros procedentes del CGMS han sido descargados mediante el CGMS System SolutionsTM Software.

Para contrastar la normalidad de la distribución se empleó el test de Kolmogorov-Smirnov. En todas las pruebas estadísticas se consideraron como significativos los valores de p inferiores a 0,05. Todos los contrastes de hipótesis fueron bilaterales.

4.10.1- Análisis descriptivo

Se calcularon las frecuencias y porcentajes correspondientes a las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se expresaron como media aritmética \pm desviación típica (en distribuciones normales) o como mediana y rango intercuartílico (en distribuciones no normales).

El cálculo del área bajo la curva se realizó utilizando el programa GraphPad Prism 5, que aplica el método trapezoidal para su cálculo. Para el cálculo del área bajo la curva se tuvieron en cuenta sólo aquellos valores de glucemia por encima de 40 mg/dL.

4.10.2- Comparaciones entre muestras

- Variables cualitativas: las comparaciones entre variables cualitativas se realizaron mediante el test de Chi cuadrado (con corrección mediante test exacto de Fisher cuando estuvo indicado).
- Variables cuantitativas:
 - Muestras independientes: Se utilizó la prueba “t” de Student para contrastar dos muestras independientes y el test de ANOVA para el análisis de más de dos variables. Cuando no se cumplían los criterios de normalidad se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para comparar dos grupos.
 - Muestras apareadas: Se utilizó la prueba “t” de Student para contrastar dos muestras relacionadas y el test de ANOVA de medidas repetidas para el análisis

de más de dos variables. Cuando no se cumplían los criterios de normalidad se utilizó la prueba de Wilcoxon para comparar dos muestras apareadas y el test de Friedman para el análisis de más de dos muestras apareadas. El análisis *post-hoc* se realizó mediante el test de Dunnet y el test de comparación múltiple de Dunn, para distribuciones normales y no normales, respectivamente.

4.10.3- Relación entre variables

Se calculó el coeficiente de correlación lineal r de Pearson para evaluar el grado de asociación de las diferentes variables cuantitativas, previa comprobación de la normalidad de las variables analizadas.

Se realizaron el correspondiente análisis de regresión lineal múltiple para el control de las posibles variables de confusión (fundamentalmente parámetros control metabólico: hemoglobina glicosilada).

Se propuso un subanálisis estratificados según el grado de control glucémico para tratar de desligar los hallazgos de dicho parámetro.

4.11- Métodos de obtención bibliográfica

Para la revisión bibliográfica se usó el sistema MEDLARS (Medical Literature Analysis and Retrieval System) a través de su servicio de información por ordenador PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>), utilizándose varias entradas o encabezamientos MeSH (Medical Subjects Headings) del Index Medicus. Se empleó también la búsqueda a través de The Cochrane Library (<http://thecochranelibrary.org>) y del meta-buscador TripDatabase (<http://www.tripdatabase.com>).

RESULTADOS

5- RESULTADOS

5.1- Características basales de la población de estudio

En la **tabla 2** y **3** se presentan respectivamente las variables clínicas, antropométricas y bioquímicas del grupo TISCI pre-ISCI y del grupo control.

	Grupo TISCI Pre-ISCI	Grupo control	<i>p</i>
n	24	11	-
Sexo (hombre/mujer)	4/20	2/9	ns
Edad (años)	33,54±7,97	32,40±5,41	ns
Peso (kg)	68,95 ±12,54	65,83±10,38	ns
IMC (kg/m ²)	25,41±2,87	23,45±2,82	ns
Tensión arterial (mmHg)			
Tensión arterial sistólica	103,36±14,32	107,78±10,92	ns
Tensión arterial diastólica	62,27±9,72	61,11±5,46	

Tabla 2. Variables clínicas y antropométricas de los grupos TISCI (pre-ISCI) y del grupo control.

	Grupo TISCI Pre-ISCI	Grupo control	<i>p</i>
HbA _{1c} (%)	8,15±0,99	5,03±0,41	0,0001
Creatinina (mg/dL)	0,74±0,13	0,69±0,16	ns
Aclaramiento de creatinina (mL/minx1,73m ²)	119,33±23,01	125,40±64,46	ns
Colesterol total (mg/dL)	181,69±44,97	179,73±33,20	ns
Colesterol LDL (mg/dL)	102,50±37,34	108,80±35,23	ns
Colesterol HDL (mg/dL)	68,71±12,37	62,10±14,20	ns
Triglicéridos (mg/dL)	57 [33-147]	61[34-102]	ns
Apolipoproteína A (mg/dL)	160,13±26,92	152,25±17,79	ns
Apolipoproteína B (mg/dL)	74,79±23,32	82,63±26,80	ns

Tabla 3. Parámetros bioquímicos del grupo pre-ISCI y del grupo control.

5.2- Indicaciones de tratamiento con ISCI

Las indicaciones de tratamiento con ISCI fueron: 8 (33,3 %) programaciones de embarazo, 7 (29,1 %) diabetes inestable o inestabilidad glucémica, 1 (4,2 %) fenómeno del alba, 8 (33,3 %) mal control metabólico.

5.3- Características clínicas, antropométricas y bioquímicas del grupo TISCI pre-ISCI y post-ISCI

La **tabla 4** presenta los datos clínicos basales del grupo TISCI pre-ISCI.

	Grupo TISCI Pre-ISCI
Tiempo evolución de la DM (años)	14,02±9,10
Régimen insulínico en TM [n (%)]	
Análogos de acción rápida y prolongada	22(91,6)
Análogos de acción rápida e insulina NPH	2(8,4)
Complicaciones [n (%)]	8(33,3)
Complicaciones microvasculares	8(33,3)
Retinopatía diabética	7(29,2)
RDNPL	3(12,5)
RDNPM	1(4,2)
RDNS	2(8,3)
RDP	0(0)
EM	1(4,2)
Nefropatía	3(12,5)
Microalbuminuria	3(12,5)
Macroalbuminuria	0(0)
Neuropatía periférica	0(0)
Enfermedad macrovascular	0(0)
Hipertensión arterial [n (%)]	2(8,3)
Dislipemia [n (%)]	4(16,6)
Hábito tabáquico [n (%)]	3(12,5)
Tratamiento farmacológico [n (%)]	15(62,5)
Anticonceptivos orales	3(12,5)
Ácido fólico	6(25)
Yoduro potásico	3(12,5)
Ácido acetilsalicílico 100 mg	4(16,6)
IECA/ARA 2	5(20,8)
Estatinas	4(16,6)
Levotiroxina sódica	4(16,6)

RDNPL: retinopatía diabética no proliferativa leve; RDNPM: retinopatía diabética no proliferativa moderada; RDNS: retinopatía diabética no proliferativa severa; RDP: retinopatía diabética proliferativa; EM: edema macular.

Tabla 4. Características clínicas del grupo TISCI pre-ISCI.

La **tabla 5** presenta los parámetros antropométricos, físicos y requerimientos insulínicos del grupo pre-ISCI en terapia multidosis respecto a post-ISCI al tercer mes de iniciado el tratamiento con ISCI.

	Grupo TISCI Pre-ISCI TM	Grupo TISCI Post-ISCI Mes 3	<i>p</i>
Peso (kg)	68,01±13,14	69,23±12,78	ns
IMC (kg/m ²)	25,41±2,87	25,47±2,85	ns
Tensión arterial (mmHg)			
Tensión arterial sistólica	103,36±14,32	98,68±6,84	ns
Tensión arterial diastólica	62,27±9,72	61,32±6,20	ns
UI/día	51,90±17,63	42,01±14,14	0,0001
UI/kg/día	0,70±0,16	0,56±0,12	0,0001
Insulina basal (UI/día)	28,9±13,57	23,13±9,92	0,0001
Insulina bolos preprandiales (UI/día)	23,10±7,17	18,88±5,99	0,01

Tabla 5. Parámetros antropométricos, físicos y requerimientos insulínicos pre-ISCI y post-ISCI (mes 3).

Resultados

La **tabla 6** muestra los datos bioquímicos pre-ISCI y post-ISCI.

	Grupo TISCI Pre-ISCI TM	Grupo TISCI Post-ISCI Mes 3	<i>p</i>
Ácido úrico (mg/dL)	3,18±0,78	3,49±0,72	0,017
Creatinina (mg/dL)	0,74±0,13	0,77±0,11	ns
Aclaramiento de creatinina (mL/minx1,73m ²)	119,33±23,01	110,96±27,79	ns
Colesterol total (mg/dL)	181,69±44,97	181,87±26,48	ns
Colesterol LDL (mg/dL)	102,50±37,34	98,09±18,92	ns
Colesterol HDL (mg/dL)	68,30±12,49	69,09±12,61	ns
Triglicéridos (mg/dL)	57[33-147]	51[27-150]	ns
Apolipoproteína A (mg/dL)	160,13±26,92	155,86±20,02	ns
Apolipoproteína B (mg/dL)	74,79±23,32	72,09±13,88	ns

Tabla 6. Parámetros bioquímicos pre-ISCI y post-ISCI (mes 3).

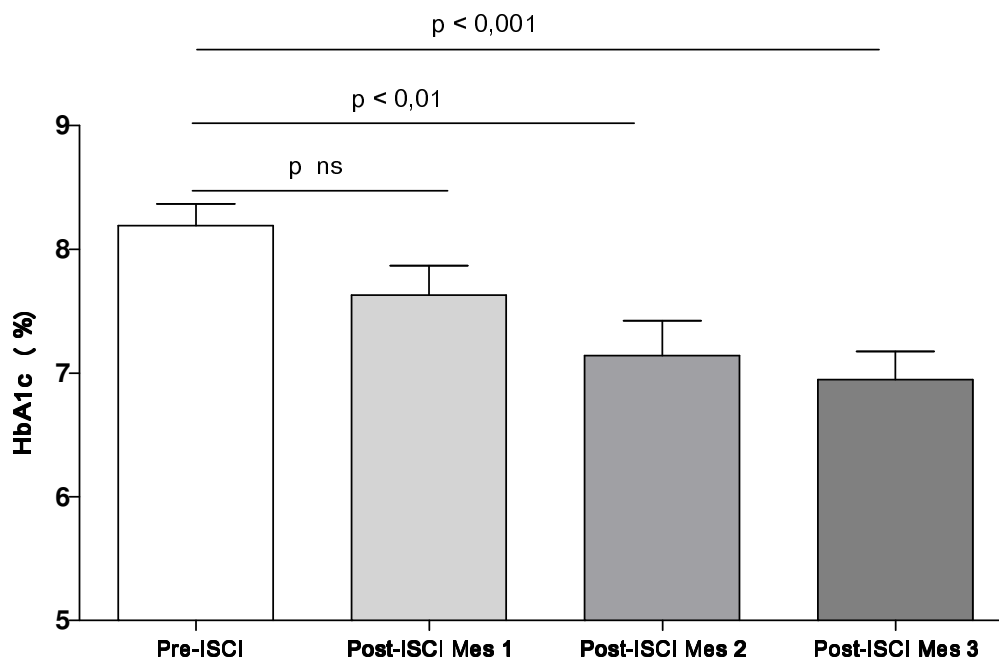
5.4- Variables de control glucémico pre-ISCI y post-ISCI. Evolución a lo largo del seguimiento

Las cifras de HbA_{1c} basales (8,15±0,99 %) descendieron significativamente a partir del segundo mes de tratamiento con ISCI, alcanzado los niveles más bajos, respecto al nivel basal, al final del estudio (6,94±1,12 %). La **tabla 7** y el **gráfico 1** presentan la evolución de las cifras de HbA_{1c} a lo largo del estudio.

	Pre-ISCI TM	Post-ISCI 1 ^{er} mes	Post-ISCI 2 ^o mes	Post-ISCI 3 ^{er} mes
HbA _{1c} (%)	8,15±0,99*	7,59±0,95*	7,12±1,15*	6,94±1,12*

*Expresado como media ±SD.

Tabla 7. Evolución de la hemoglobina glicosilada en el grupo ISCI.



p obtenida mediante el test de comparación múltiple de Dunn. Se ha considerado el valor de HbA_{1c} pre-ISCI como valor de referencia.

Gráfico 1. Evolución de la hemoglobina glicosilada tras la instauración de ISCI.

5.5- Evolución del control glucémico en función de la indicación de ISCI

Por grupos de indicación de ISCI la HbA_{1c} descendió -1,5 % y -1,53 % tras 3 meses de terapia con ISCI en los grupos programación del embarazo (8,00±0,78 pre-ISCI vs 6,50±0,58 % post-ISCI; $p < 0,02$) y mal control metabólico (8,75±1,21 pre-ISCI vs 7,10 ±1,64 % post-ISCI; $p < 0,02$) respectivamente. En el grupo combinado inestabilidad glucémica y diabetes inestable la HbA_{1c} pre-ISCI no se modificó significativamente tras 3 meses de tratamiento (7,82±0,74 % vs 7,15±0,92 %, p ns).

5.6- ISCI y variabilidad glucémica

Las medidas de variabilidad glucémica: SD, rango intercuartílico y variación glucémica respecto a la normalidad descendieron significativamente tras 3 meses de terapia con ISCI.

	Grupo completo	Subgrupos		
		Programación del embarazo	Inestabilidad glucémica y diabetes inestable	Mal control metabólico
SD (mg/dL) Pre-ISCI Post-ISCI	57,72±18,15 49,27±18,73*	52,66±23,10 44,16±9,34	56,28±21,70 49,14±19,36	61,75±12,23 54,12±24,74
Variación glucémica respecto a la normalidad (mg/dL) Pre-ISCI Post-ISCI	68,86±37,09 50,59±38,95**	58,66±40,71 27,55±20,73	66,42±26,63 52,28±26,11	80,12±45,55 69,62±51,90
Rango intercuartílico (mg/dL) Pre-ISCI Post-ISCI	88,89±30,88 67,76±31,16***	78,20±42,15 61,50±17,83	87,07±35,24 68,00±33,86	94,75±13,01 72,83±42,36
MAGE (mg/dL) Pre-ISCI Post-ISCI	126,48±55,95 112,36±44,75	110,89±53,18 101,44±36,81	128,99±71,19 114,18±38,36	138,25±54,72 122,70±58,39

p obtenida mediante comparación de rangos (test de Wilcoxon). * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,04$, pre-ISCI vs. post-ISCI.

Tabla 8. Medidas de variabilidad glucémica antes y después de ISCI global y por grupos de indicación.

Al analizar las modificaciones de las medidas de variabilidad por subgrupos de indicaciones de ISCI pre-ISCI y post-ISCI (programación del embarazo, inestabilidad glucémica y mal control metabólico crónico) no se encontraron diferencias en ninguna de estas variables antes-después de la implantación de la ISCI. Los datos se presentan en la **tabla 8**.

5.7- Monitorización continua de glucosa pre-ISCI y post-ISCI

Al comparar los datos procedentes de la monitorización continua antes y después del tratamiento con ISCI se observó un descenso de las cifras de glucemia media diarias ($168,83 \pm 37,09$ vs $150,59 \pm 38,95$ mg/dL), glucemia media del periodo nocturno ($198,4 \pm 75,57$ vs. $138,4 \pm 30,70$ mg/dL) y del ABC de 24 horas ($245059,70 \pm 55284,09$ vs $210535,71 \pm 56059,53$ mg/dLxmin) pre-ISCI y post-ISCI, respectivamente. No se encontraron diferencias antes- después de ISCI en el periodo de 4:00 a 8:00 am.

Analizando los periodos pre y postprandiales, el único en el que se encontraron diferencias fue en el del desayuno. Tanto las cifras de glucemia media postprandiales como el ABC pre y postprandial del desayuno descendieron significativamente post-ISCI. Estos datos se presentan en la **tabla 9** y en los **gráficos 2 y 3**.

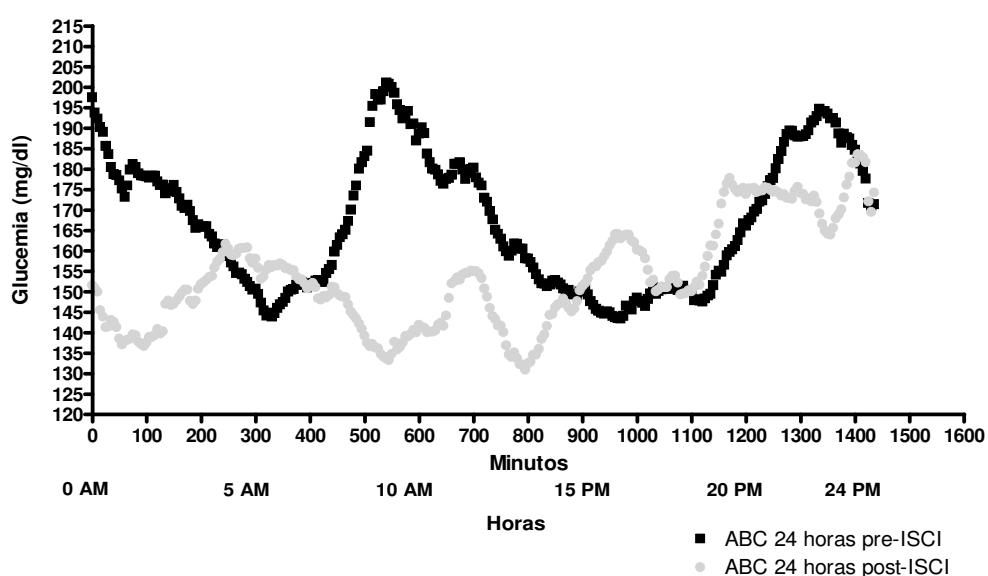


Gráfico 2. Representación del ABC global del grupo TISCI durante el periodo de monitorización de 24 horas pre y post-ISCI

	Pre-ISCI TM	Post-ISCI Mes 3	p
Glucemia media 24 horas (mg/dL)	168,83±37,09	150,59±38,95	0,029
ABC 24 horas (mg/dLxmin)	245059,70±55284,09	210535,71±56059,53	0,01
Glucemia media periodo nocturno (mg/dL)	198,4±75,57	138,4±30,70	0,001
Glucemia 4.00-8.00 horas (mg/dL)	151,4±14,17	147,8±9,49	ns
ABC periodo nocturno (mg/dLxmin)	79238,15±27023,96	66662,00±19438,58	0,055
ABC 4.00-8.00 horas (mg/dLxmin)	35535,00±12902,01	33630,77±11355,72	ns
Glucemia antes del desayuno (mg/dL)	145,30±79,99	124,50±42,33	ns
Glucemia después del desayuno (mg/dL)	177,80±46,32	128,00±51,89	0,01
ABC preprandial desayuno (mg/dLxmin)	9681,14±4039,26	6473,21±1774,78	0,012
ABC postprandial desayuno (mg/dLxmin)	33860,33±11709,31	23935,66±8174,94	0,002
Incremento postprandial del ABC desayuno (mg/dLxmin)	23078,50±9323,78	17341,92±6546,39	0,035
Glucemia antes del almuerzo (mg/dL)	135,40±62,60	112,53±47,59	ns
Glucemia después del almuerzo (mg/dL)	148,60±61,31	128,93±54,31	ns
ABC preprandial almuerzo (mg/dLxmin)	7548,00±3181,03	6336,64±2039,39	ns
ABC postprandial almuerzo (mg/dLxmin)	27238,23±10116,84	24343,88±9850,14	ns
Incremento postprandial del ABC almuerzo (mg/dLxmin)	17797,64±7958,93	15404,78±7623,65	ns
Glucemia antes de la cena (mg/dl)	176,10±102,03	164,00±65,48	ns
Glucemia después de la cena (mg/dL)	188,00±61,49	152,14±78,21	ns
ABC preprandial cena (mg/dLxmin)	9287,25±4104,47	8176,50±2477,08	ns
ABC postprandial cena (mg/dLxmin)	31843,45±12626,85	27203,27±13986,65	ns
Incremento postprandial del ABC cena (mg/dLxmin)	19274,10±8830,17	17901,50±12671,48	ns
Incremento postprandial medio (desayuno, almuerzo y cena) ABC (mg/dLxmin)	20050±1805	16882±390	ns

Tabla 9. Comparación de los registros de monitorización continua de la glucemia pre y post-ISCI.

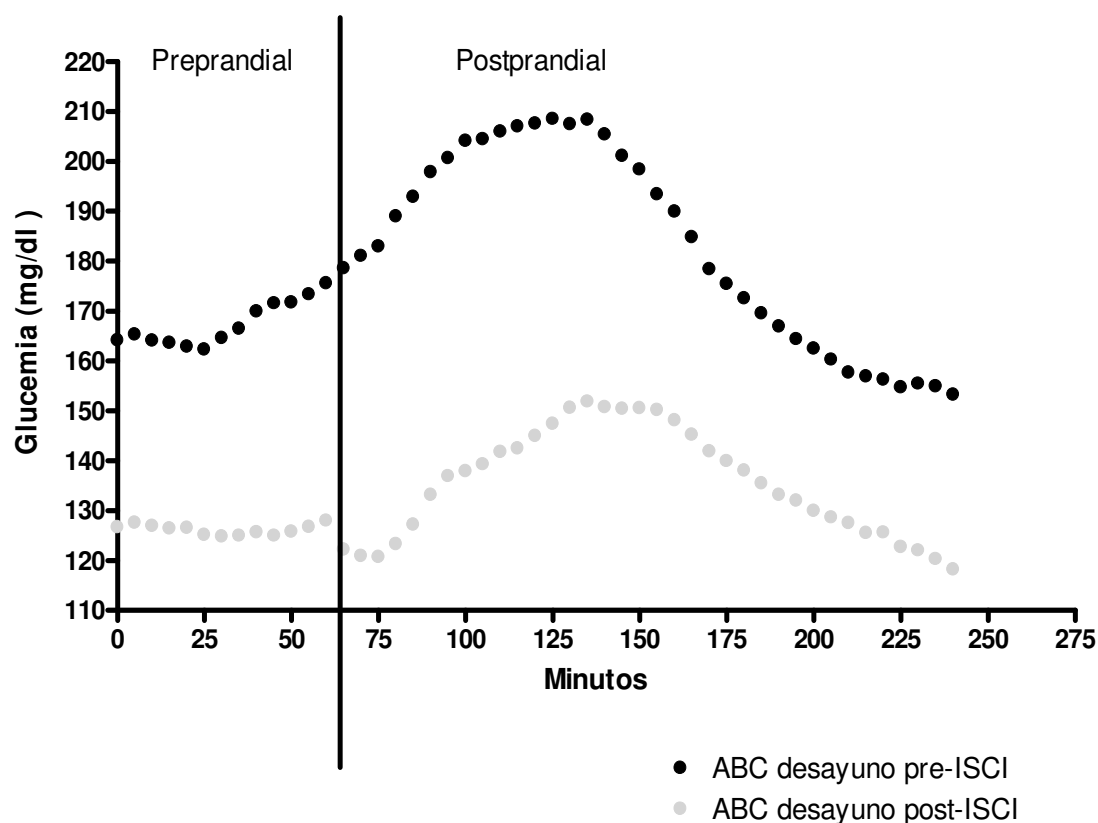


Gráfico 3. Representación global del ABC preprandial y postprandial del desayuno pre-ISCI y post-ISCI.

El tratamiento con ISCI redujo el tiempo total de horas de hiperglucemia ($9,51 \pm 5,22$ pre-ISCI y $6,71 \pm 6,33$ post-ISCI, $p < 0,05$) y el porcentaje de tiempo de hiperglucemia ($40,27 \pm 21,51$ frente a $27,72 \pm 26,08$ % pre y post-ISCI respectivamente, $p < 0,05$), aumentando el tiempo en horas ($12,59 \pm 4,85$ vs $15,12 \pm 5,76$ pre-ISCI vs post-ISCI, $p < 0,05$) y el porcentaje de tiempo ($53,95 \pm 20,36$ vs $64,40 \pm 23,86$ %; pre y post-ISCI respectivamente, $p < 0,05$) de normoglucemia. No se observaron diferencias pre-ISCI frente a post-ISCI en el tiempo total y el porcentaje de tiempo de hipoglucemia. El número absoluto de excursiones tanto hiper como hiperglucémicas no varió con la terapia ISCI. **Tabla 10 y Gráfico 4.**

	Pre-ISCI	Post-ISCI	p*
Número de excursiones hipo e hiperglucémicas	3,63±1,59	3,27±1,72	ns
Número de excursiones hiperglucémicas	2,55±1,33	2,13±1,45	ns
Tiempo en hiperglucemia (horas)	9,51±5,22	6,71±6,33	0,033
Porcentaje del tiempo en hiperglucemia (%)	40,27±21,51	27,72±26,08	0,019
Tiempo en normoglucemia (horas)	12,59±4,85	15,12±5,76	0,03
Porcentaje del tiempo en normoglucemia (%)	53,95±20,36	64,40±23,86	0,025
Número de excursiones hipoglucémicas[†]	1 [0-4]	1 [0-4]	ns
Tiempo en hipoglucemia (horas)[†]	0,5 [0-8]	0,45 [0-6,2]	ns
Porcentaje del tiempo en hipoglucemia (%)[†]	3,5 [0-33]	4,5 [0-26]	ns

[†]Expresado como mediana y rango. *p obtenida mediante comparación de rangos (test de Wilcoxon).

La suma del porcentaje del tiempo en hipoglucemia, normoglucemia e hiperglucemia es inferior al 100% debido a la existencia de interrupciones temporales en los registros de los sensores.

Tabla 10. Tiempo total y porcentaje de tiempo en normo, hipo e hiperglucemia pre-ISCI y post-ISCI.

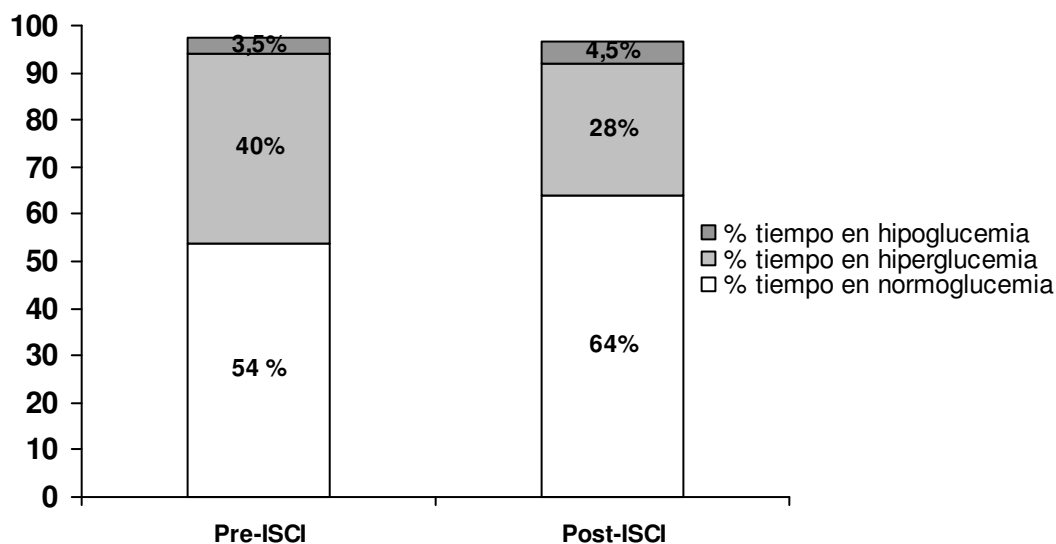
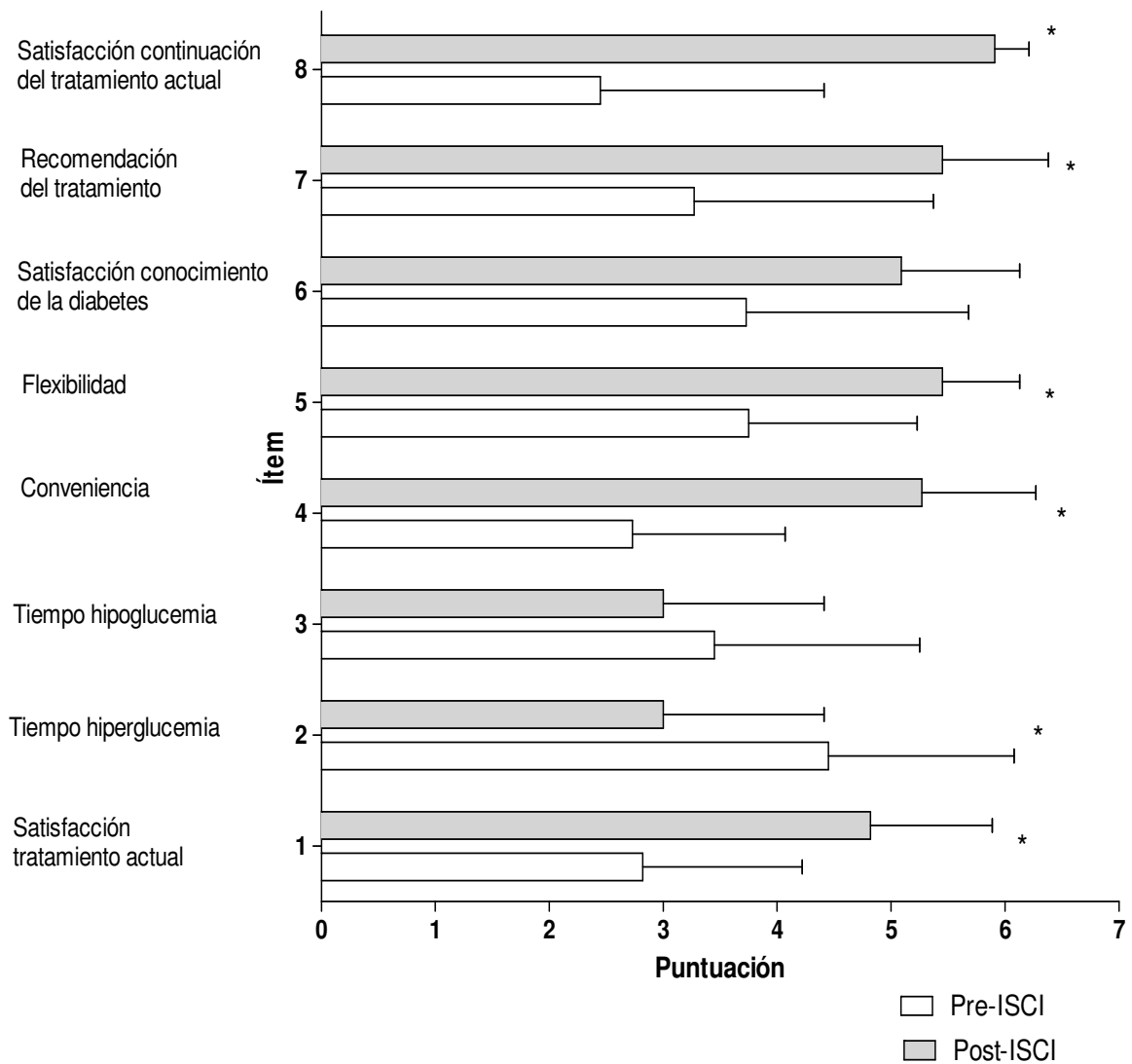


Gráfico 4. Porcentaje de tiempo en hipoglucemia, normoglucemia e hiperglucemia pre-ISCI y post-ISCI.

5.8- Cuestionario satisfacción con el tratamiento pre-ISCI y post-ISCI

En el cuestionario de satisfacción con el tratamiento se observó una variación significativa en la puntuación obtenida en los ítems 1, 2, 4, 5, 7 y 8, ($p < 0,05$ pre vs postISCI, p obtenida mediante comparación de rangos), es decir todos los ítems excepto el 3 y el 6 que evalúan la percepción del tiempo que se permanece en hipoglucemia y el grado de conocimiento de la enfermedad, respectivamente.



* $p < 0.05$, obtenida mediante comparación de rangos (test Wilcoxon).

Gráfico 5. Cuestionario de satisfacción con el tratamiento pre y post-ISCI.

5.9- Parámetros de estrés oxidativo

Los niveles de TAS, SOD, vitamina E, catalasa y MDA fueron similares en el grupo TISCI respecto al grupo control. Tras la intervención, los niveles de SOD descendieron significativamente en el grupo TISCI, sin modificarse otros parámetros de EO. Estos datos se presentan en la **tabla 11**.

	TISCI Pre-ISCI	TISCI Post-ISCI	Grupo control	p
TAS ($\mu\text{mol/L}$)	984,66 \pm 130,50 992,1[873,2-1080,1]	1046,13 \pm 184,06 1048,1[939,5-1076,5]	1079,33 \pm 104,88 1058,4[974,2-1170,8]	*ns †ns
Vitamina E ($\mu\text{g/dL}$)	668,22 \pm 488,90 722,7[50,0-1078,53]	762,04 \pm 604,86 554,2[212,3-1355,6]	874,51 \pm 420,81 844,3[736,8-1107,7]	*ns †ns
SOD (U/gHb)	885,98 \pm 243,30 791,0[746,5-987,9]	791,89 \pm 140,05 799,5 [690,5-901,08]	806,13 \pm 206,73 716,3[703,0-887,0]	*p<0,05 †ns
Catalasa (nmol/mL/min)	1030,31 \pm 388,46 1094,9[752,4-1342,4]	970,97 \pm 345,45 899,21[730,0-1169,0]	857,26 \pm 122,58 844,1[770,6-943,9]	*ns †ns
MDA(nmol/L)	1,69 \pm 0,62 1,48[1,18-2,05]	1,62 \pm 0,66 1,56[1,17-2,05]	1,41 \pm 0,32 1,34[1,18-1,64]	*ns †ns

Datos expresados como media \pm SD y mediana [rango].

**pre-ISCI vs post-ISCI (comparación de rangos, test Wilcoxon).*

†grupo control vs TISCI pre-ISCI (U de Mann-Whitney).

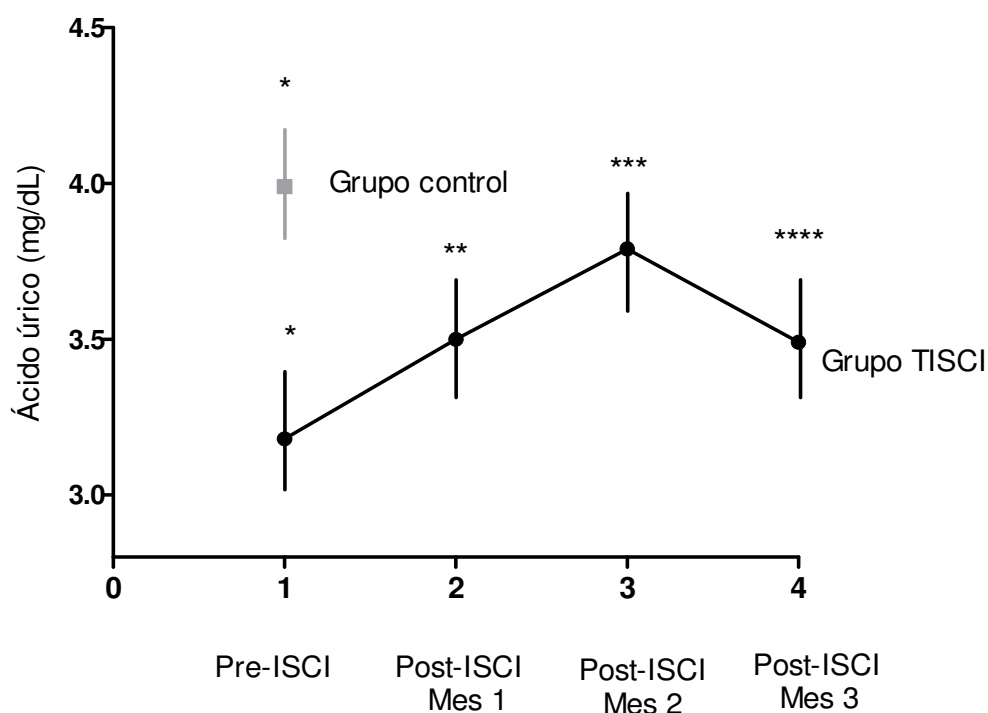
Tabla 11. Parámetros de EO del grupo TISCI antes y después de la intervención y del grupo control.

Al analizar los parámetros de EO teniendo en cuenta factores que pueden influir en sus niveles (sexo, estado de complicaciones microvasculares, tiempo de evolución de la

enfermedad y tratamiento farmacológico) se encontró que los niveles de TAS basales (de la cohorte completa) fueron superiores en los hombres respecto a las mujeres ($1114,82 \pm 88,16$ vs $992,11 \pm 128,01$, $p < 0,05$). No se hallaron estas diferencias entre hombres y mujeres en el análisis post-ISCI. Los niveles de vitamina E basales fueron superiores en aquellos diabéticos con complicaciones microvasculares respecto a aquellos sin complicaciones ($1080,08 \pm 112,51$ vs $541,49 \pm 491,52$; $p < 0,05$).

5.9.1- Ácido úrico

En el grupo TISCI los niveles de ácido úrico basales ($3,18 \pm 0,78$ mg/dL) se elevaron tras un mes de tratamiento ($3,50 \pm 0,78$ mg/dL), alcanzando las cifras más elevadas en el segundo mes de seguimiento ($3,79 \pm 0,93$ mg/dL) y existiendo diferencias pre-ISCI vs post-ISCI en todas las determinaciones ($p < 0,05$). El grupo control presentó niveles de ácido úrico superiores al grupo TISCI pre-ISCI ($3,99 \pm 1,26$ vs $3,18 \pm 0,78$, $p < 0,05$). **Gráfico 6.**



* $p < 0,05$: pre-ISCI vs controles (U Mann Whitney) ; ** $p < 0,006$ pre-ISCI vs post-ISCI mes 1 (test de Wilcoxon) ; *** $p < 0,01$ pre-ISCI vs post-ISCI mes 2 (test de Wilcoxon) ; **** $p < 0,02$ pre-ISCI vs post-ISCI mes 3 (test de Wilcoxon). $p < 0,05$, comparativo de 4 muestras pareadas grupo TISCI : test de Dunn (considerando el valor pre-ISCI como valor de referencia).

Gráfico 6. Evolución de las cifras de ácido úrico en el grupo TISCI y el grupo control.

En el grupo TISCI pre-ISCI las mujeres presentaron cifras de ácido úrico más bajas que los hombres ($2,94\pm 0,59$ vs $4,37\pm 0,49$ mg/dL; $p<0,05$), manteniéndose las diferencias entre sexos post-ISCI, al tercer mes del estudio ($3,32\pm 0,56$ vs $4,35\pm 0,93$ mg/dL en mujeres y hombres respectivamente, $p<0,05$).

En el grupo TISCI previo a la implantación de la terapia con bomba de insulina no se encontraron diferencias en los niveles de ácido úrico en función de otras variables potencialmente influyentes: hipertensión arterial, toma de diuréticos o presencia de algún grado de nefropatía diabética.

5.9.2- Relación entre parámetros de estrés oxidativo

En el análisis univariante la SOD se correlacionó positivamente con MDA ($r=0,720$, $p<0,05$) pre-ISCI.

En el análisis univariante post-ISCI la vitamina E y el MDA se correlacionaron positivamente ($r=0,722$, $p<0,02$).

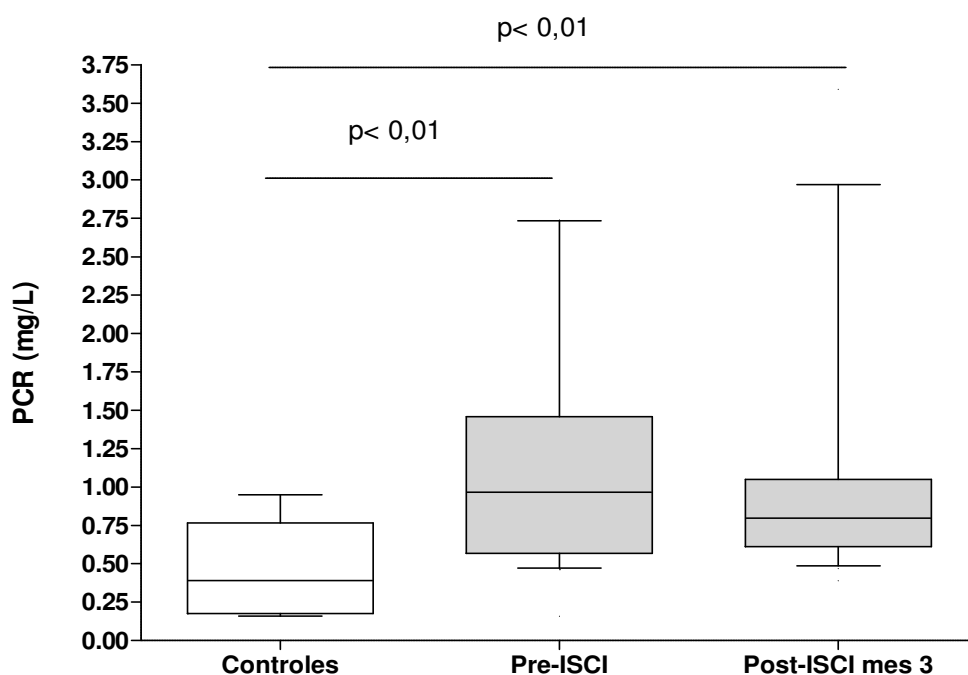
5.10- Parámetros de inflamación: PCRus

Los niveles de PCRus del grupo TISCI no se modificaron durante la terapia con ISCI (**tabla 12**). Como representa el **gráfico 7**, el grupo control presentó cifras de PCRus significativamente inferiores a las del grupo TISCI, tanto antes como después de iniciada la terapia, manteniéndose estas diferencias al final del seguimiento (mes 3).

	Pre-ISCI	Post-ISCI 1 ^{er} mes	Post-ISCI 2 ^o mes	Post-ISCI 3 ^{er} mes	Control
Media±SD	1,18±0,68*	1,51 ±1,51*	1,07±0,78*	1,15±1,04*	0,47±0,3
Mediana [min-max]	0,98 [0,16-3,79]	1,10 [0,16-5,98]	0,89 [0,16-3,15]	0,78 [0,39 -4,81]	0,39 [0,16-0,95]

*Comparaciones de cada grupo con el grupo control, $p<0,05$ (U-Mann Whitney).

Tabla 12. Evolución de PCRus del grupo TISCI pre y post-ISCI y el grupo control.



Mediana [p10-p90]

p ns pre-ISCI vs post-ISCI mes 3 (test de Wilcoxon).

Gráfico 7. Comparación de PCRus del grupo control frente al grupo ISCI

En el grupo TISCI pre-ISCI y post-ISCI (tercer mes) la distribución por quintiles del 1° al 5° de PCRus fue la siguiente: <0.28, 0.28-0.68, 0.68-0.82, 0.82-1.3, >1.3 mg/L pre-ISCI y <0.51, 0.51-0.77, 0.77-0.94, 0.94-1.24, >1.24 mg/L post-ISCI.

5.10.1- Factores influyentes en los niveles de PCRus

En el grupo TISCI pre-ISCI se analizaron variables que pueden influir en los niveles basales de PCRus, es decir: tratamiento farmacológico, sexo y presencia de complicaciones microvasculares. No se encontraron diferencias basales entre hombres ($1,53 \pm 1,52$ mg/L) y mujeres ($1,11 \pm 0,7$ mg/L), ni en función de la presencia ($1,10 \pm 0,65$ mg/L) o no ($1,36 \pm 0,75$ mg/L) de complicaciones microvasculares o de la toma de fármacos que potencialmente pueden influir en las cifras de PCRus (estatinas, IECA/ARA II y ácido acetilsalicílico) ($1,28 \pm 0,83$ vs $1,08 \pm 0,91$ mg/L, tomando fármacos o no, respectivamente).

5.10.2- Variables relacionadas con PCRus

En nuestro estudio los niveles de PCRus en el grupo TISCI pre-ISCI se correlacionaron positivamente con las cifras de tensión arterial sistólica ($r = 0,447$, $p < 0,05$) y diastólica ($r = 0,448$, $p < 0,05$), los requerimientos insulínicos en terapia multidosis ($r = 0,493$, $p < 0,02$) y los niveles de glucemia basal pre-ISCI ($r = 0,430$, $p < 0,05$). Los niveles de PCRus basales se correlacionaron con los de HbA_{1c} pre-ISCI ($r = 0,421$, $p < 0,02$) en la grupo completo de estudio.

5.11- Relación entre parámetros de EO, marcadores de control metabólico y variabilidad glucémica

En el análisis univariante la TAS y los niveles de ácido úrico se correlacionaron negativamente con la HbA_{1c} ($r = -0,475$, $p < 0,01$ y $r = -0,415$, $p < 0,02$, respectivamente), al analizar el grupo completo de estudio previamente a la implantación de la terapia con ISCI.

La SOD del grupo pre-ISCI se correlacionó negativamente con el número global de excursiones ($r = -0,866$, $p < 0,005$) y con el número de excursiones hiperglucémicas ($r = -0,866$, $p < 0,005$).

MDA se correlacionó de forma positiva con MAGE ($r = 0,467$, $p < 0,05$) en el grupo TISCI pre-ISCI. En un modelo de regresión lineal simple que contiene MDA como variable dependiente y MAGE como independiente, los resultados obtenidos reflejan que en una ecuación lineal establecida para predecir el valor de MDA, el valor de MAGE estaría multiplicado por 0.009 (B 0,009; IC 0,001-0,017) y explicaría una proporción pequeña del valor de MDA de forma independiente de otras variables de control glucémico o variabilidad ($p < 0,05$).

5.12- Relación entre parámetros de inflamación y parámetros de control de la diabetes

En el análisis univariante, los niveles de PCRus basales se correlacionaron con los de HbA_{1c} pre-ISCI ($r = 0,421$, $p < 0,02$) en el grupo completo de estudio. En el análisis multivariante no se encontró una asociación independiente entre ambas variables (p ns).

5.13-Relaciones entre parámetros de EO e inflamatorios

En el análisis univariante la SOD y MDA se correlacionaron positivamente con PCRus en el grupo pre-ISCI ($r=0,521$, $p<0,05$ y $r=0,421$, $p<0,05$, respectivamente). En el análisis multivariante no se encontró una asociación independiente entre SOD o MDA y PCRus (p ns).

DISCUSIÓN

6- DISCUSIÓN

La terapia con ISCI en diabetes mellitus tipo 1 puede mejorar el control glucémico y reducir la variabilidad glucémica en grupos seleccionados de pacientes.

La mejoría del control glucémico obtenida a través del tratamiento intensivo en el DCCT demostró enlentecer o prevenir el desarrollo y la progresión de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en el seguimiento posterior del DCCT (DCCT-EDIC).

Independientemente de la conocida importancia del grado de control metabólico en el desarrollo de microangiopatía y macroangiopatía, existe un volumen creciente de datos que vienen a sustentar la hipótesis de que la variabilidad glucémica, por si misma, es capaz de inducir o exacerbar los mecanismos implicados en el desarrollo y la progresión de la enfermedad micro y macrovascular.

La hiperglucemia es capaz de generar un estado proinflamatorio y prooxidante que parece ser el origen de la afectación microvascular y macrovascular a través de diferentes mecanismos fisiopatogénicos. Sin embargo, no se conoce exactamente qué parámetros de EO e inflamación se modifican con la intensificación del tratamiento, reducción de la variabilidad y/o la mejoría del control que puede suponer el tratamiento con ISCI en diabetes mellitus tipo 1.

En este trabajo de investigación se plantea como objetivo intentar dilucidar qué parámetros de EO e inflamación se modifican con los cambios en el control metabólico y la influencia que puede tener la variabilidad glucémica en la modificación de estos parámetros en pacientes diabéticos tipo 1 en los que se inicia tratamiento con ISCI.

6.1- ISCI

6.1.1- ISCI y control glucémico

En este estudio, la reducción de la HbA_{1c} a los tres meses de iniciar el tratamiento fue de -1,18 % sin observarse ganancia de peso. Por grupos de indicaciones de ISCI, la caída observada de la HbA_{1c} varió desde una elevación de +0,6 % en la única indicación de fenómeno de alba hasta descensos de - 1,5 y -1,53 % en los grupos con indicación programación del embarazo y mal control metabólico, no existiendo diferencia en el grupo combinado de diabetes inestable e inestabilidad glucémica.

La mejoría del control glucémico, que reflejaba descensos de la HbA_{1c} con ISCI frente a terapia insulínica subcutánea de -0,95 % y -0,51 %, encontrada en los primeros meta-análisis publicados (Weissberg-Benchell J, *Diabetes Care* 2003; Pickup JC, *Br Med J*, 2002) parece ser inferior en la actualidad. Es conveniente señalar que estos dos meta-análisis incluyen publicaciones de los “años 80” donde los dispositivos de infusión y los glucómetros eran más primitivos técnicamente que los actuales, el manejo por parte de los profesionales no contemplaba la optimización del tratamiento de la diabetes ni la terapia intensiva, los pacientes no realizaban los autocontroles que un sistema ISCI requiere y aún no se habían comercializado los análogos de insulina, lo que refleja diferencias sustanciales con la práctica clínica actual.

Para poder sacar conclusiones es conveniente analizar estudios que comparen ambos regímenes de tratamiento (TM e ISCI) optimizados y, si es posible, con la utilización de análogos de insulina tanto de acción rápida como prolongada. En este sentido, cuatro meta-análisis publicados recientemente (Jeitler K, *Diabetologia*, 2008; Pickup JC, *Diabet Med*, 2008; Monami M, *Acta Diabetol*, 2010; Fatourechí MM, *J Clin Endocrinol Metab*, 2009) que analizan un total de 17, 22, 11 y 15 ensayos clínicos en diabetes mellitus tipo 1 encuentran, respectivamente, una diferencia global de -0,4 % de HbA_{1c}, en seis de estos ensayos en el primero, -0,61 % en el segundo, -0,3 % en el tercero y -0,2 % en el cuarto a favor de ISCI frente a TM (con o sin análogos de insulina). Otro meta-análisis más pequeño que incluye tres ensayos clínicos comparando análogos de insulina preprandial e insulina NPH en TM frente a ISCI concluye que sólo se obtuvo un mejor control glucémico en aquellos pacientes con peor hemoglobina glicosilada basal (Retnakaran R, *Diabetes Care*, 2004). Así, cuando se compara el régimen bolo-basal incluyendo análogos de insulina de acción rápida preprandial e insulina basal frente a ISCI con análogos de insulina rápida los resultados respecto a la mejoría del control glucémico son más discretos o desaparecen.

En adultos con diabetes mellitus tipo 1, los ensayos clínicos que comparan directamente TM con análogos de insulina frente a ISCI encuentran escasas diferencias o ninguna entre ambos tratamientos en términos de reducción de la HbA_{1c} (Cummins E, *Health Technol Assess*, 2010; Bolli G, *Diabetes Care*, 2009; Hirsch IB, *Diabetes Care*, 2005; Bolli GB, *Diabetes*, 2004).

En contraste con lo hallado por los ensayos clínicos, múltiples estudios observacionales encuentran diferencias que oscilan de 0,2 a 1,4 % de reducción de la HbA_{1c} tras iniciar el tratamiento con ISCI en pacientes tratados previamente con análogos de insulina en

TM. Estos estudios observacionales pueden acarrear un mayor riesgo de sesgos pero, probablemente, representen mejor la población de diabéticos tipo 1 susceptibles de ISCI y similares a la de este estudio, analizan a un mayor número de pacientes y son de mayor duración que los ensayos clínicos mencionados anteriormente (Cummins E, Health Technol Assess, 2010; Nacional Institute for Clinical Excellence, Guidance on the use of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes, 2008).

El conflicto aparente entre estudios observacionales y ensayos clínicos puede deberse a la mayor probabilidad de existencia de un sesgo de selección en los primeros. Es posible que los estudios observacionales estén enriquecidos con casos en los que se haya considerado que el tratamiento subcutáneo intensivo haya fracasado por diversas razones. Por el contrario, es posible hipotetizar que los ensayos clínicos hayan sido multicéntricos y en un contexto más libre de estos sesgos. En el primer caso, se trata con frecuencia de estudios descriptivos, centrados en pacientes problemáticos para la práctica común, parecidos a los incluidos en el presente estudio. En el segundo es posible asumir condiciones más próximas a la práctica común, en las que las ventajas de la ISCI parecen ser más cuestionables, a la luz de la evidencia actual.

Como se ha expuesto previamente, la reducción de la HbA_{1c} en nuestro estudio fue superior a la obtenida en los ensayos clínicos que comparan directamente terapia intensiva multidosis con o sin análogos frente a ISCI en periodos de tiempo similares (Hirsch IB, Diabetes Care, 2005; DeVries JH, Diabetes Care, 2002; Hanaire-Broutin H, Diabetes Care, 2000) o de mayor duración (Hoogma RP, Diabet Med, 2006; Tsui E, Diabetes Care, 2001) y también superior a la observada en algunos estudios observacionales (Harmel AP, Diabetes Care, 2004; Lepore G, Diabetes Care, 2003). La significativa reducción de la HbA_{1c} observada globalmente nuestro estudio en pacientes previamente tratados con TM con análogos y adiestrados en el manejo de la enfermedad podría deberse, en parte, al refuerzo educativo que supone el curso estructurado pre-ISCI, a las indicaciones del tratamiento y al mayor nivel basal de HbA_{1c} de partida respecto a otros estudios. A este respecto, hasta un tercio de las ISCI estuvieron indicadas por programación del embarazo, grupo en el que los objetivos de control metabólico son más estrictos y la motivación para la consecución de un buen control metabólico también juega un papel esencial. El descenso observado en el grupo mal control metabólico en el subgrupo ISCI con esta indicación, que partía de una HbA_{1c} de 8,63 %, está en consonancia con lo descrito en otras publicaciones. Así, está descrito que el grupo de pacientes que obtienen con ISCI una mayor reducción de la

HbA_{1c} son aquéllos que tienen cifras más elevadas de ésta antes de iniciar la terapia (Shalitin S, Diabet Med, 2010; Pickup JC, Diabet Med, 2008; Retnakaran R, Diabetes Care, 2004). Igualmente, el cambio en la HbA_{1c} observado al pasar de un régimen bolo-basal con análogos de insulina a ISCI parece depender, principalmente, de la HbA_{1c} de partida (Pickup JC, Diabetes Care, 2008; Pickup JC, Diabet Med, 2008). Este fenómeno de regresión a la media es común en diferentes estrategias terapéuticas de intervención.

6.1.2-ISCI y variabilidad glucémica

En este estudio, la variabilidad glucémica fue determinada por diversos métodos (desviación estándar (SD) de la glucemia media, índice MAGE, rango intercuartílico, porcentaje del tiempo en hipo e hiperglucemia, variación glucémica respecto de la normalidad y área bajo la curva postprandial e incremento de ésta), puesto que no existe un parámetro de medición de la variabilidad glucémica considerado *gold standard*.

Globalmente, el tratamiento con ISCI redujo la variabilidad glucémica si se aplicaban las siguientes medidas de variabilidad: SD de la media, la variación glucémica respecto a la normalidad, rango intercuartílico y tiempo en horas y porcentaje de tiempo en hiperglucemia (>180 mg/dL) con un aumento paralelo del tiempo en normoglucemia.

La variabilidad glucémica es un fenómeno complejo que incluye variabilidad intradía e interdía. La complejidad del fenómeno justifica la ausencia de una única medida que integre todos sus componentes. Los componentes de la variabilidad intradía hacen referencia a las fluctuaciones glucémicas verticales a lo largo del día; el componente interdía se define como las variaciones glucémicas día a día, es decir, la variabilidad glucémica en un eje horizontal tiempo dependiente. De esta manera, la variabilidad glucémica en los pacientes diabéticos es un cómposit del componente vertical y horizontal (Monnier L, J Diabetes Sci Technol, 2008). Otra de las razones que explican la complejidad de la variabilidad glucémica es el hecho de que es una combinación de fluctuaciones mayores y menores, desconociéndose si el potencial efecto deletéreo que pudiera tener la variabilidad glucémica es similar en ambos tipos de fluctuaciones o si, por el contrario, sólo las oscilaciones mayores son capaces de activar estos mecanismos. La mayoría de los autores consideran la variabilidad glucémica como el estándar de la variación glucémica intradía, que refleja las oscilaciones de la glucemia

en un paciente diabético como consecuencia de una autorregulación disminuida o ausente y de la terapia insulínica (Siegelaar SE, *Endocr Rev*, 2010).

Teniendo en cuenta estas premisas y las dificultades de partida en relación a cuál es la medida ideal que refleje mejor la variabilidad glucémica, está descrito que el tratamiento con ISCI frente a la TM puede reducir la variabilidad glucémica utilizando como medida la SD (Hoogma RP, *Diabet Med*, 2006; Pickup J, *Br Med J*, 2002) o MAGE (Bruttomesso D, *Diabet Med*, 2008). Sin embargo, las diferencias detectadas en términos de variabilidad glucémica dependen fundamentalmente del método de variabilidad utilizado para su cuantificación, como se demostró en el estudio de Bruttomesso *et al*, en el que el cambio de régimen bolo-basal a ISCI se asoció con reducción en algunas medidas de variabilidad como MAGE, pero no en otras como SD o ADRR (Bruttomesso D, *Diabet Med*, 2008). Las diferencias observadas en relación a variabilidad glucémica entre la SD y otros métodos son debidas a que, aunque todos reflejan variabilidad glucémica, la información que aportan es diferente y, posiblemente, también complementaria. El descenso en la SD refleja una disminución de las fluctuaciones menores, fenómeno que puede estar influido por el descenso de la glucemia media post-ISCI, al comportarse los valores de glucosa con asimetría. Sin embargo el índice MAGE, al evaluar la amplitud de las excursiones cuya magnitud es superior a una SD, no se ve tan influenciado por los cambios en la glucemia media y está reflejando la variabilidad glucémica generada por las oscilaciones de mayor entidad, que en nuestro caso no se modificaron.

Al dividir por subgrupos según la indicación de ISCI, ningún subgrupo presentaba diferencias basales en ninguna de las medidas de variabilidad glucémica utilizadas ni se obtuvo descenso de ésta con ninguna de las medidas analizadas. Es preciso recalcar que las conclusiones relacionadas con la reducción de la HbA_{1c} o de la variabilidad por subgrupos de indicación, están matizadas por el tamaño de la muestra y que, probablemente, una mayor muestra por subgrupos permitiría observar cambios en reducción de variabilidad y/o mejoría del control glucémico en algunas indicaciones.

Por franjas horarias se observó un descenso de la glucemia media de 24 horas y del área bajo la curva correspondiente, así como de la glucemia media del periodo nocturno, no modificándose la del periodo de madrugada, si bien sólo un paciente tenía indicación de ISCI por fenómeno de alba. El único periodo postprandial que se modificó fue el del desayuno. Los principales beneficios por franjas horarias obtenidos en este grupo de pacientes son similares a los descritos en un ensayo clínico que

compara ISCI frente a TM con análogos en población de diabéticos tipo 1 adultos, en el que se describe que ISCI aporta beneficios en el periodo nocturno y que logra aumentar el tiempo de normoglucemia, con descenso de las excursiones hiperglucémicas (Hirsch IB, Diabetes Care, 2005).

La utilidad desde el punto de vista clínico de completar la información del control metabólico con medidas de variabilidad es un aspecto que genera un intenso debate en la actualidad. En la práctica clínica, la utilización de medidas de variabilidad glucémica puede permitir conocer algo más sobre el comportamiento de la enfermedad, adicional a la información que aporta la HbA_{1c} sobre el grado de control metabólico global del paciente. En este sentido, puede diferenciar a igual nivel de HbA_{1c} diferentes problemas clínicos y tener implicaciones terapéuticas. Un nivel elevado de HbA_{1c} puede estar reflejando un mal control metabólico estable o una inestabilidad glucémica importante. Por estos motivos, algunos autores van más allá y proponen incluir la corrección de la variabilidad como un objetivo de control en la diabetes. Así, Hirsch *et al* plantean establecer como objetivo de control glucémico que la desviación estándar sea inferior a la mitad de la glucemia media (es decir: $SD \times 2 < \text{media de la glucemia}$), siendo ideal que ésta sea un tercio de la glucemia media ($SD \times 3 < \text{media de la glucemia}$). Estos autores consideran que hay que tener en cuenta los siguientes factores para interpretar correctamente la variabilidad glucémica a partir de la SD de la media: se requieren al menos cinco determinaciones (preferiblemente 10) de glucemia capilar y, además, es necesario interpretarlo de acuerdo con la glucemia media, ya que si los niveles de glucemia media son muy altos o muy bajos precisan ser corregidos independientemente de la desviación estándar (Hirsch IB, Diabetes Technol Ther, 2005).

Por otro lado, está descrito que la variabilidad glucémica interdía, medida como SD de la glucemia media, no parece contribuir de forma significativa a las cifras de HbA_{1c} (McCarter RJ, Diabetes Care, 2006; Derr R, Diabetes Care, 2003). Sin embargo, sí se ha demostrado que en pacientes tratados con TM la variabilidad glucémica intradía individual puede ser un predictor importante de las cifras de HbA_{1c}; esto significa que una mayor variabilidad glucémica puede condicionar cifras más elevadas de HbA_{1c}. Los diabéticos tipo 1 con mayor inestabilidad glucémica pueden mantener cifras más elevadas de glucemia en un intento de evitar la aparición de eventos hipoglucémicos, que en muchas ocasiones son impredecibles (Pickup JC, Diabetes Metab Res Rev, 2006).

Los métodos propuestos en la literatura como medidas de evaluación de la variabilidad tienen sus limitaciones en relación a la información aportada. Los recuentos de los episodios hipo e hiperglucémicos sólo tienen en cuenta su frecuencia pero no la magnitud de éstos. La determinación de la SD se puede ver limitada al no seguir los niveles glucémicos y sus fluctuaciones una distribución normal o lineal necesariamente, y va a estar más influida por las excursiones hiperglucémicas, teniendo escasa capacidad de predecir eventos hipoglucémicos. A pesar de lo limitado de este parámetro, ha sido elegido por una mayoría de estudios que abordan la cuestión. De hecho es la medida empleada en varios estudios en los que la variabilidad glucémica ha sido relacionada con resultados finales de mortalidad en pacientes críticos (Krinsley JS, Crit Care Med, 2008; Egi M, Anesthesiology 2006). El índice MAGE tiene en cuenta sólo aquellas fluctuaciones que exceden una SD, por lo que los pacientes con amplias SD pueden presentar un bajo índice y tener fluctuaciones importantes y frecuentes (Ruiz de Adana MS, Av Diabetol, 2008; Kovatchev BP, Diabetes Care, 2006).

Puesto que no existe un método de referencia de medición de la variabilidad glucémica, hasta encontrar la medida *gold standard* de la variabilidad glucémica la utilización de más de un método de determinación de variabilidad (por ejemplo: SD y MAGE) podrá aportar una información más completa sobre variabilidad glucémica de los pacientes, por lo que parece útil su determinación simultánea. Algunos autores (Monnier L, J Diabetes Sci Technol, 2008; Rodbard D, Diabetes Technol Ther, 2009) proponen incorporar una medida adicional de variabilidad a estas dos anteriores. La medida propuesta ha sido la determinación de MODD como medida que refleja mejor la variabilidad interdía, si bien esta medida ha sido escasamente utilizada en la literatura y tiene como problema principal la interferencia por posibles diferentes horarios de ingesta.

La valoración de la corrección de la variabilidad como un objetivo adicional de control metabólico podría ser especialmente interesante en diabéticos tipo 1 que tengan una HbA_{1c} dentro de objetivo de control metabólico en tratamiento con TM en los que la indicación principal sea una marcada inestabilidad glucémica. En estos pacientes no es esperable encontrar un descenso significativo de la HbA_{1c} al iniciar el tratamiento con ISCI. En este subgrupo de pacientes el mayor cambio objetivable tras la instauración de ISCI se centrará en la reducción de la variabilidad glucémica. Por tanto, al iniciar la terapia con ISCI, el establecimiento de un objetivo de reducción de variabilidad podría permitir observar un potencial beneficio adicional de este tratamiento.

Hasta que no se defina el método *gold standard* de medición de la variabilidad y se conozca su contribución específica en el desarrollo de las complicaciones diabéticas no será incluida como objetivo de control en las recomendaciones de las sociedades científicas y grupos de consenso, no siendo tampoco posible la recomendación sistemática de su determinación en el contexto de la indicación o implantación de la terapia con ISCI.

6.1.3- ISCI y eventos hipoglucémicos

En este estudio no se encontraron diferencias, en los registros del sensor pre-ISCI vs post-ISCI, en el número de episodios hipoglucémicos así como tampoco en el tiempo total y porcentaje de tiempo con cifras de glucemia inferiores a 70 mg/dL.

Algunos ensayos clínicos y meta-análisis reportaron hace años que el tratamiento con ISCI podía reducir el número de eventos hipoglucémicos de forma significativa (Hoogma RP, Diabet Med, 2006; Weissberg-Benchell J, Diabetes Care, 2003). Sin embargo, en los tres últimos años se han publicado dos meta-análisis y una revisión sistemática en los que se reporta que la incidencia de eventos hipoglucémicos leves y severos es similar entre ambos grupos de tratamiento (TM vs ISCI), al menos en población adulta (Cummins E, Health Technol Assess, 2010; Fatourechí MM, J Clin Endocrinol Metab, 2009; Jeitler K, Diabetologia, 2008). Es importante destacar que la mayoría de los ensayos clínicos incluidos en estas tres publicaciones no estaban diseñados para detectar diferencias en términos de reducción de hipoglucemias globales o severas por el tamaño muestral, el bajo número de eventos o la corta duración del ensayo, por lo que los resultados, aunque no resultan significativos, no son concluyentes. Las diferencias encontradas entre las primeras publicaciones y las más recientes se deben, probablemente, a la introducción de los análogos de insulina.

Diversos estudios observacionales (Linkeschova R, Diabet Med, 2002) o con diseño antes-después (Gimenez M, Diabetes Technol Ter, 2010) sí han relacionado la terapia con ISCI con un descenso significativo en la tasa de hipoglucemias severas, así como una mejoría en la capacidad de percepción de las mismas.

En nuestro caso, los datos van en consonancia con lo publicado más recientemente en la literatura científica. Es conveniente destacar que el hecho de que ningún paciente tuviera la indicación exclusiva de ISCI por hipoglucemias podría justificar la ausencia de diferencias en este parámetro. El tiempo de duración del estudio también puede

haber contribuido a estos hallazgos ya que periodos superiores de tiempo con ISCI podría contribuir hipotéticamente a mejorar la capacidad de respuesta a las hipoglucemias y, secundariamente, a disminuir la tasa global de hipoglucemias severas.

6.1.4- ISCI y grado de satisfacción con el tratamiento

En nuestro estudio se observaron cambios en todos los ítems del cuestionario de satisfacción con el tratamiento excepto en los referidos a la percepción del tiempo en hipoglucemia con ISCI respecto a la terapia previa TM y al grado de conocimiento de la enfermedad antes y después.

La ausencia de diferencia en la percepción del beneficio de ISCI sobre la frecuencia de hipoglucemias es consistente con el hecho de que no se modificó significativamente el número de eventos hipoglucémicos ni el porcentaje en hipoglucemia tras tres meses con la terapia.

La incorporación de los pacientes candidatos a ISCI a cursos específicos de enseñanza de la bomba, en los que se abordan muchos aspectos relacionados con la enfermedad y el manejo de ésta, nos hacía presuponer que supondría un cambio en la percepción del conocimiento de la enfermedad, aspecto que sin embargo no se reflejó en el ítem específico del cuestionario.

A pesar de que la observación y experiencia clínica sugieren que la terapia con ISCI supone un beneficio significativo en la calidad de vida de los diabéticos tipo 1, no existe una evidencia científica que soporte tal punto de vista (Cummins E, Health Technol Assess, 2010; Barnard KD, Diabet Med, 2007). Las razones para ello son diversas: empleo de cuestionarios validados pero diferentes por parte de los distintos estudios, limitando la comparabilidad, problemas derivados de la calidad metodológica por parte de algunos estudios, y el hecho de que la mayoría de éstos sean observacionales (Giménez M, Diabet Med, 2007; Hammond P, Prim Care Diabetes, 2007).

6.2- SISTEMAS DE MONITORIZACIÓN CONTINUA DE GLUCEMIA

La utilización de un sistema de monitorización continua de glucosa permitió extraer datos para el cálculo de las medidas de variabilidad glucémica y estudiar el

comportamiento pre-ISCI y post-ISCI por franjas horarias, en periodos pre y postprandiales, así como el tiempo y porcentaje de éste en normo, hipo e hiperglucemia. En este estudio, la monitorización tras tres meses de tratamiento con ISCI permitió observar un descenso de la glucemia media de 24 horas, del periodo nocturno y postprandial del desayuno, así como del tiempo en horas y porcentaje de tiempo en hiperglucemia (>180 mg/dL) con un aumento paralelo del tiempo en normoglucemia.

Los resultados observados con la monitorización pre y post-ISCI son similares a los publicados en un estudio aleatorizado, abierto y cruzado llevado a cabo en 100 diabéticos tipo 1 monitorizados con el sistema CGMS[®], la mitad de ellos en tratamiento con ISCI y la otra mitad en TM con análogos de insulina basal y preprandial. En este trabajo se observa en el grupo ISCI una reducción del tiempo en hiperglucemia (>140 mg/dL, expresado como ABC) en el grupo ISCI frente a TM (Hirsch IB, Diabetes Care, 2005).

Los datos obtenidos del sensor pre-ISCI no se utilizaron como herramienta para la modificación del tratamiento a lo largo del seguimiento, por lo que la mejoría del control glucémico global, las modificaciones en parámetros de variabilidad y en las distintas franjas horarias no se puede atribuir a la monitorización previa a la instauración de ISCI y sí a esta terapia.

6.2.1- Monitorización continua de glucemia y control glucémico

La mejoría del control metabólico observada tras 3 meses de ISCI no se puede atribuir a la monitorización, porque como se ha comentado previamente los registros procedentes de CGMS[®] fueron analizados al concluir el estudio y los pacientes no dispusieron de esta información. La información utilizada para las modificaciones terapéuticas estuvo basada en las determinaciones de glucemia capilar aportadas por los participantes en cada visita.

La monitorización utilizada en este estudio es de carácter retrospectivo. Este tipo de monitorización permite en la práctica clínica comprender el efecto de la terapia insulínica, la dieta y el ejercicio sobre la glucemia y puede ser una herramienta útil para modificaciones del tratamiento y como enseñanza a los pacientes. Sin embargo, al ser un sistema ciego y no disponer de alarmas para situaciones de hiper o hipoglucemia, no permite la intervención a tiempo real del paciente. Los resultados publicados en la

literatura respecto al impacto de la utilización de estos sistemas sobre el control glucémico son limitados. Al menos en población pediátrica o en grupos pequeños de diabéticos tipo 1 adultos no se ha encontrado que la monitorización con sistemas retrospectivos se asocie a una mejoría del control metabólico en términos de reducción de la HbA_{1c}, al compararlo con monitorización estándar de glucemia capilar (Cosson E, *Diabetes Metab*, 2009; Golicki DT, *Diabetologia*, 2008). En diabéticas gestantes la monitorización continua de glucemia con un sistema ciego frente a un seguimiento convencional supuso una mejora en la HbA_{1c} del tercer trimestre, en la tasa de macrosomías y en el peso al nacer en las portadoras de este sistema (Murphy HR, *Br Med J*, 2008).

La indicación y utilidad de estos sistemas retrospectivos tendrá que ser evaluada a medio plazo, máxime teniendo en cuenta algunos resultados obtenidos con sistemas de monitorización continua a tiempo real. Los dispositivos de monitorización a tiempo real permiten la intervención directa del paciente y parece que podrían suponer una nueva estrategia para la intensificación y mejoría del control metabólico en pacientes seleccionados. Recientemente, se han publicado varios ensayos clínicos multicéntricos (Bergenthal RM, *N Engl J Med*, 2010; Raccach D, *Diabetes Care*, 2009; O'Connell MA, *Diabetologia*, 2009; The Juvenile Diabetes Research Foundation (JRDF) Continuous Glucose Monitoring Study Group, *N Engl J Med*, 2008) que evalúan el impacto de la monitorización continua de glucemia a tiempo real sobre el control metabólico en diabéticos tipo 1 portadores de bomba de insulina en diferentes contextos clínicos y con diseños diferentes. En el estudio JDRF, el uso de sistemas de monitorización continua de glucosa frente a determinaciones de glucosa capilar, demostró mejoría del control metabólico (- 0,5 % HbA_{1c}) a las 26 semanas de seguimiento en el subgrupo de población mayor de 25 años con una HbA_{1c} inicial de 7.6 % (The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group, *N Engl J Med*, 2008). En otros dos ensayos la reducción de HbA_{1c} con estos dispositivos se situó alrededor de - 0.4% (Raccach D, *Diabetes Care* 2009; O'Connell MA, *Diabetologia*, 2009). Recientemente, se ha publicado el ensayo clínico STAR-3. En este estudio la terapia con bomba de insulina acoplada a monitorización continua de glucemia a tiempo real se asoció con una reducción de la HbA_{1c} al año de 8.3 % a 7.5 % frente a la reducción de 8.3 % a 8.1% en el grupo tratado con terapia multidosis de insulina con autocontrol de glucemia capilar estándar, sin aumentar la tasa de hipoglucemias (Bergenthal RM, *N Engl J Med*, 2010). Un aspecto que se

destaca en estos estudios es el hecho de que el efecto sobre el control metabólico depende de forma importante del tiempo de utilización del sensor y que la mejoría del control glucémico no se asoció con un aumento de la tasa de hipoglucemias (Raccah D, Diabetes Care 2009; O'Connell MA, Diabetologia 2009; The Juvenil Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group, N Engl J Med, 2008).

En base a estos estudios y otros publicados previamente, aunque en grupos con peor control metabólico (Deiss D, Diabetes Care, 2006), es posible que la monitorización continua de glucemia a tiempo real pueda mejorar el manejo de la diabetes y su control permitiendo a tiempo real el ajuste del tratamiento insulínico y de la ingesta en función de la glucemia y mediante la observación de la tendencia de la glucemia. No obstante, los resultados publicados respecto a la monitorización a tiempo real, su impacto sobre el control metabólico y su coste efectividad no son del todo concluyentes. En uno de los primeros ensayos clínicos *treat-to-target*, que evaluó la eficacia clínica de la monitorización a tiempo real *versus* la monitorización estándar de la glucemia capilar en portadores de ISCI, se encontraron reducciones de HbA_{1c} similares en ambos grupos (Hirsch IB, Diabetes Technol Ther, 2008). En otro ensayo clínico publicado en 2009, la comparación directa de diferentes sistemas de monitorización de la glucemia (sistema retrospectivo, sistema a tiempo real y monitorización estándar de glucemia capilar) no se tradujo en mejoría del control glucémico en ninguno de los grupos monitorizados continuamente y no resultó costo-efectivo en pacientes diabéticos insulinizados no seleccionados (Newman SP, Health Technol Assess, 2009).

Teniendo en cuenta que es una tecnología de reciente introducción y las limitaciones que conlleva por su coste y necesidad de adiestramiento, son necesarios estudios a más largo plazo para identificar a aquellas poblaciones seleccionadas en las que la terapia pueda ser costo-efectiva, así como el impacto de estos sistemas sobre el control metabólico y otras variables de importancia (hipoglucemias, satisfacción con el tratamiento, calidad de vida, etc.) en poblaciones seleccionadas de diabetes mellitus tipo 1.

6.2.2- Limitaciones del uso y la información aportada por CGMS®

En nuestro estudio, durante las 48 monitorizaciones, se objetivaron un total de 11 interrupciones en algún momento del registro, principalmente en las últimas 24

horas de colocación del sensor. Utilizando la misma metodología aplicada en otras publicaciones y para evitar los problemas derivados del deterioro en la calidad de la medición, se han empleado los datos procedentes del registro de las 24 horas situadas entre la colocación y la retirada del mismo. Así quedan excluidos los valores erróneos relacionados el fenómeno descrito en nuestra serie (Monnier L, JAMA, 2006).

Está descrito que la calidad de la señal emitida por el sensor es un determinante crucial en la aproximación y duración de los registros. Se ha constatado un deterioro en la calidad de la medición del CGMS[®] con trazados más irregulares y oscilaciones importantes a partir de las 36 horas de registro e interrupciones prematuras del trazado o fallo en encontrar los criterios de aproximación durante la parte final de los mismos (Metzger M, Diabetes Care, 2002; Melki V, Diabetes Metab, 2006). Como se ha comentado previamente, la eliminación de las últimas 24 horas del registro ha permitido obviar este problema en este estudio.

En el grupo TISCI la concentración media de glucosa obtenida de la monitorización continua de glucosa antes y después de la colocación de la ISCI (168 mg/dL y 150 mg/dL pre-ISCI y post-ISCI, respectivamente) es inferior a la media de glucosa esperable sobre la base del valor de HbA_{1c} encontrado en ese periodo de tiempo (8,15 % pre-ISCI y 6,94 % post-ISCI). Estas cifras de HbA_{1c} se corresponderían, según estudios recientes, con glucemias medias de aproximadamente 185 y 150 mg/dL pre y post-ISCI respectivamente (Nathan DM, Diabetes Care, 2008). Esta aparente incoherencia de las cifras medias de glucemia pre-ISCI, se puede explicar en parte por el hecho de que los sistemas de monitorización pueden infraestimar los valores reales de glucemia cuando éstos se comparan con el método de referencia. Las diferencias absolutas publicadas al comparar los valores de glucosa obtenidos mediante monitorización continua de glucosa con determinaciones de glucemia plasmática se sitúan entre el 10 y el 20 %, puesto que no mide la glucosa en sangre sino una extrapolación a partir de la glucosa en el líquido intersticial (Guerci B, Diabetes Care, 2003). Por otro lado, es necesario también tener en cuenta que los días de monitorización, aunque el sistema es ciego, puede condicionar un sesgo al sentirse los pacientes observados y que esto conlleve unas cifras de glucemia más bajas de las habituales. Independientemente de lo expuesto con anterioridad, el coeficiente de correlación de los datos del sensor con las cifras de glucemia capilar fue de $0,92 \pm 0,056$, lo que apoya la validez y precisión de los datos.

Otra limitación respecto al uso de CGMS[®] es que, respecto a lo datos de cuantificación de variabilidad que proporciona, no existen aún estándares publicados con el uso de valores de glucosa intersticial, por lo que la interpretación de los datos se debe realizar con cautela.

Los sistemas de monitorización disponibles en el mercado miden glucosa intersticial. Hay que considerar que no existe una correlación exacta entre la glucosa del líquido intersticial y la plasmática y que entre ambas existe un retraso fisiológico. Considerar este concepto es fundamental a la hora de interpretar los datos por parte de los pacientes en los dispositivos a tiempo real, pero no en nuestro caso. Por término medio, este desfase es inferior a cinco minutos en estado basal o preprandial. Durante fluctuaciones importantes de la glucemia (picos hiperglucémicos, periodo postprandial o hipoglucemias), el desfase entre la variación en la glucemia en plasma y la observada en el tejido intersticial es aún mayor. La media de esta diferencia puede oscilar de 4 a 10 minutos tras la ingesta (Boyne MS, Diabetes, 2003). Los niveles de glucosa en el tejido intersticial se modifican más lentamente que los de la glucemia plasmática, pudiendo ser inferiores cuando los niveles de glucosa plasmática se están elevando y superiores (Clarke WL, Diabetes Care, 2005) cuando éstos están descendiendo, observándose un retraso con una recuperación incompleta en los niveles medidos por el sensor en los periodos de transición de hipoglucemia a hiperglucemia (Monsod TA, Diabetes Care, 2002). Esto supone una clara limitación de los sistemas a tiempo real, puesto que continúa siendo necesaria la confirmación de los valores con glucemia capilar antes de realizar cualquier modificación en el tratamiento. El uso de sistemas retrospectivos, como el empleado en este estudio, obvia esta limitación aportando la información *a posteriori*, lo que permite valorar los registros en su conjunto y no estimaciones puntuales.

A pesar de que el volumen de datos que aporta el sensor es muy superior a lo que es posible obtener con autocontroles de glucemia capilar, la correlación entre los datos proporcionados por los registros del CGMS[®] y los obtenidos con la práctica de ocho o más lecturas convencionales es buena en lo que se refiere a la media de la glucemia y la HbA_{1c}, además de parámetros de variabilidad como SD, MAGE y media de las diferencias diarias. No obstante, el CGMS[®] parece detectar mejor los picos hiperglucémicos postprandiales y contribuye a descubrir hipoglucemias no sospechadas, especialmente nocturnas, si bien tiende a sobreestimar la frecuencia y

duración de los valores bajos de glucemia en esta franja horaria (Sachedina M, Diabet Med, 2003).

Estos sistemas tienen poca especificidad y sensibilidad en la identificación de hipoglucemias diurnas y nocturnas (The Diabetes Research in Children Network (DirectNet) Study Group, Diabetes Care, 2004). Se ha descrito una sobreestimación de detección de hipoglucemias en el periodo nocturno con el sensor, que parece pudiera estar relacionada con un menor flujo intersticial nocturno (Zung A, Pediatrics, 2002). Diferentes sociedades científicas, de acuerdo con la evidencia científica disponible, han recomendado la incorporación de los sensores en el manejo de la diabetes mellitus tipo 1 en diferentes situaciones clínicas y en grupos seleccionados. En estas recomendaciones no se especifica el tipo de dispositivo (sistemas retrospectivos o a tiempo real). Por ejemplo, la Asociación Americana de Diabetes recomendó su incorporación en conjunción con terapia insulínica intensiva como herramienta útil para mejorar el control metabólico en adultos seleccionados y como herramienta suplementaria en aquellos sujetos con hipoglucemias inadvertidas y/o episodios frecuentes de hipoglucemias (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2009). La Sociedad Española de Diabetes (SED) estableció en un documento de posicionamiento del grupo de Nuevas Tecnologías las situaciones clínicas y experimentales en las que los sistemas de monitorización continua de glucosa podía presentar un especial interés (Ruiz de Adana M, Av Diabetol, 2009). La ISPAD (International Society of Pediatric Diabetes) considera la utilidad de los sistemas de monitorización a tiempo real o retrospectivos en el ajuste y manejo inicial de la terapia con bombas de insulina y en la identificación de hipoglucemias asintomáticas e hiperglucemia postprandial (ISPAD, Clinical Practice Consensus Guidelines, Pediatric Diabetes, 2009).

6.3- ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES MELLITUS

El estrés oxidativo se ha implicado en la patogénesis de las complicaciones micro y macrovasculares de la diabetes mellitus. En este estudio se han analizado enzimas y sustratos antioxidantes implicados en el proceso de antioxidación de distintas localizaciones (intracelulares: catalasa y superóxido dismutasa), intramembrana (vitamina E) y extracelulares (ácido úrico y TAS) y un producto final de lipoperoxidación lipídica (MDA). Esto nos ha permitido conocer el comportamiento y

modificaciones de estos mecanismos de defensa antioxidantes antes y después de la terapia con ISCI, así como de sus productos finales, comparándolo frente a un grupo control.

6.3.1- Sistemas de antioxidación intracelulares: SOD y catalasa

La actividad de la SOD en el grupo TISCI pre-ISCI descendió a los tres meses de la implantación de ISCI, sin encontrarse diferencias entre el grupo control y el grupo ISCI antes de la intervención terapéutica (situación basal).

La actividad vascular de la SOD es muy importante como elemento regulador del balance NO/O_2^- (Rojas R, Arch Med Res, 2006). La SOD es una enzima antioxidante cuya función principal es la reducción de las concentraciones intracelulares de anión superóxido. Se ha descrito que las células vasculares endoteliales sometidas a EO con concentraciones no letales de hidroperóxidos cambian su expresión de enzimas antioxidantes, entre ellas SOD, lo que sugiere un mecanismo de adaptación a esta situación de oxidación (Lu D, Am J Physiol, 1993). En modelos experimentales de ratas diabéticas, se han encontrado niveles elevados de expresión de RNAm de esta enzima a nivel renal, normalizándose tras la corrección de la hiperglucemia con insulina (Sechi L, Diabetologia, 1997). En modelos murinos de diabetes tipo 1 y tipo 2, la sobreexpresión de esta enzima disminuye la albuminuria y el daño renal, concluyéndose que el incremento de su actividad atenúa, experimentalmente, el daño renal (DeRubertis FR, Diabetes, 2004; Craven PA, Diabetes, 2001). Sin embargo, existen datos en la literatura discordantes respecto a la relación entre la hiperglucemia y la actividad de la SOD. Se ha encontrado tanto una sobreexpresión de la enzima (Martín-Gallán P, Free Radical Biology and Medicine, 2003; Domínguez C, Diabetes Care, 1998) como una menor actividad de la misma (Hartnett EM, Diabetes Care, 2000; Vucic M, European J Clin Chem Biochem, 1997) en diferentes estadios evolutivos de la diabetes mellitus tipo 1. Una glicación no enzimática de la SOD en fases más evolucionadas de la enfermedad podría justificar el descenso progresivo observado de su actividad en algunos estudios clínicos (Hartnett EM, Diabetes Care, 2000; Domínguez C, Diabetes Care, 1998). De hecho, algunas publicaciones relacionan directamente el descenso de la actividad de la SOD extracelular con la glicación de esta enzima y no con un descenso de su síntesis (Ciechanowski K, Arch Med Res, 2005).

Al tratarse de un sistema enzimático de antioxidación esencial a nivel intracelular para detoxificar al que es, potencialmente, el radical libre iniciador común del daño en la diabetes ($O_2^{\cdot -}$) el encontrar niveles reducidos de esta enzima en la diabetes supone un elemento pernicioso. De hecho, la sobreexpresión experimental de la isoforma MnSOD consigue una menor producción de ROS a igual nivel de hiperglucemia (Nishikawa T, Nature, 2000), lo que sostiene aun más su papel como enzima antioxidante fundamental en la detoxificación de ROS en la diabetes mellitus.

En nuestro conocimiento no se ha reportado que una intervención que suponga una mejoría del control glucémico se relacione con modificaciones directas en la actividad de esta enzima. La mejoría del control glucémico tras la introducción de antidiabéticos orales en un estudio de intervención en diabetes mellitus tipo 2 no se asoció con modificaciones en la actividad de esta enzima (Aydin A, Clin Biochem, 2001).

La variabilidad de los hallazgos reportados en relación al grado de expresión de SOD en la diabetes tiene un punto de concordancia con los resultados del presente estudio. Si bien no se encontraron diferencias respecto al grupo control, sí se objetivó un descenso significativo en el grupo TISCI tras la intervención. Al observarse una correlación negativa fuerte pre-ISCI entre SOD y el número de excursiones glucémicas, podría especularse que el descenso de la actividad de la enzima podría estar en relación con un menor número de estas excursiones glucémicas. Sin embargo el número de excursiones hiperglucémicas que se correlacionaron negativamente con SOD basalmente no mejoraron con ISCI. Igualmente, no se ha hallado relación de esta enzima con otros parámetros de variabilidad glucémica o de control metabólico, lo que dificulta justificar esta hipótesis.

La actividad enzimática de la catalasa fue similar en el grupo TISCI y en el grupo control, no observándose modificaciones en los niveles de actividad de esta enzima tras la intervención. Los datos disponibles en la literatura de estudios *in vivo* acerca del grado de actividad de esta enzima en la diabetes son escasos y algunos reportan niveles más bajos de actividad de la enzima en los pacientes diabéticos respecto a los controles, tanto en diabetes mellitus tipo 1 como tipo 2 (Dave GS, Cell Mol Biol, 2007). *In vitro*, se ha constatado un aumento de la expresión de RNAm y de la actividad de esta enzima en fibroblastos de pacientes diabéticos sin nefropatía sometidos a concentraciones elevadas de glucemia, no objetivándose este aumento de expresión y actividad de esta enzima en fibroblastos de diabéticos con nefropatía, en

los que se observa un fallo en este mecanismo de defensa antioxidante (Ceriello A, Diabetes, 2000). Sin embargo, las complejas interrelaciones entre los mecanismos de defensa antioxidante intracelulares no permite otorgar a esta enzima un papel predominante como mecanismo de defensa intracelular, más aun teniendo en cuenta que esta enzima cataliza la reacción de transformación de peróxido de hidrógeno, el cual no es una ROS intensamente reactiva y además su expresión es predominante cuando el peróxido de hidrógeno está a altas concentraciones y no en otras condiciones (Winterbourn CC, Free Radic Biol Med, 1993).

El hecho de no haber encontrado en este trabajo diferencias entre el grupo TISCI y los controles permite suponer que son otros los mecanismos de defensa antioxidantes predominantemente activos en el grupo TISCI.

6.3.2- Sistemas de antioxidación intramembrana: vitamina E

En nuestro estudio, no encontramos diferencias en los niveles basales de vitamina E pre-ISCI frente a los controles. Por otro lado, los niveles de vitamina E no se modificaron en el grupo TISCI tras la intervención.

La vitamina E se ha propuesto como el mayor antioxidante lipídico soluble que protege las membranas biológicas de la peroxidación lipídica (Scholz RW, Free Radic Biol Med, 1997). Los datos publicados respecto a los niveles de vitamina E en la diabetes son dispares. Nuestros datos van en concordancia con los publicados en varios trabajos, no habiéndose encontrado diferencias en los niveles de vitamina E en diabetes mellitus tipo 1 frente a los controles (Domínguez C, Diabetes Care, 2008; VanderJagt DJ, Clin Biochem, 2001; Jain SK, Diabetes Care, 2000; Tsai EC, Diabetes, 1994). En otras publicaciones los niveles de vitamina E en la diabetes, en concreto en diabetes tipo 2, han sido significativamente inferiores a los de la población control (Nourooz-Zadeh J, Diabetologia, 1997).

En nuestra población de estudio los niveles de vitamina E basales fueron superiores en aquellos diabéticos con complicaciones microvasculares respecto a aquéllos sin complicaciones. Este dato podría resultar paradójico y va en contra con los escasos datos publicados en la literatura a este respecto. Un estudio halló niveles más bajos de vitamina E en sujetos diabéticos con complicaciones como la polineuropatía frente a aquéllos que no la presentaban (Ziegler D, Diabetes Care, 2004). La explicación de este fenómeno es discutible. Aunque *a priori* podría esperarse niveles iguales o más bajos

de vitamina E en los diabéticos con complicaciones, el papel de la vitamina E como defensa antioxidante en el desarrollo o prevención de las complicaciones no está dilucidado. De hecho, algunos estudios de intervención con vitamina E no han podido demostrar el papel de ésta en la prevención del desarrollo de nefropatía diabética o en resultados de enfermedad cardiovascular (Lonn E, MICRO-HOPE Study, Diabetes Care, 2002)

El encontrar niveles similares de vitamina E en el grupo TISCI respecto al grupo control podría estar reflejando que otros mecanismos de antioxidación intracelulares o extracelulares están actuando eficazmente, no siendo necesario un excesivo consumo de vitamina E para inhibir la peroxidación lipídica o bien que este sistema es secundario en los procesos de antioxidación.

6.3.3- Sistemas de antioxidación extracelulares: ácido úrico y capacidad antioxidante total del plasma

Nuestro grupo de estudio (TISCI) presentaba basalmente cifras de ácido úrico inferiores a la de los controles. Tras la instauración de ISCI las cifras de ácido úrico fueron elevándose hasta alcanzar un pico máximo en la determinación del segundo mes, desapareciendo las diferencias respecto al grupo control a partir del primer mes del inicio de la terapia con ISCI. Las mujeres del grupo TISCI presentaron niveles de ácido úrico inferiores a la de los hombres tanto pre como post-ISCI. Se observó una correlación inversa entre los niveles de ácido úrico y los de hemoglobina glicosilada previo a la implantación de ISCI, incluyendo el grupo completo de estudio.

Nuestros datos están en concordancia con lo publicado hasta ahora en la literatura. Está descrito que los diabéticos tipo 1 presentan niveles de ácido úrico inferiores a los controles sanos (Pitocco D, Diabetes Metab Res Rev, 2008; Waring WS, Diabetes, 2006; Golembieswska E, Arch Med Res, 2005; Hoeldtke RD, Diabetes, 2002; Marra G, Diabetes Care, 2002; Maxwell SRJ, Eur J Clin Invest, 1997). Este descenso de ácido úrico se ha relacionado tanto con un mayor aclaramiento de ácido úrico renal como consecuencia de la hiperfiltración glomerular o secreción tubular (Golembieswska E, Arch Med Res, 2005), como con modificaciones por la situación de estrés oxidativo sin relación con cambios en el filtrado glomerular (Pitocco D, Diabetes Metab Res Rev, 2008), o ambos mecanismos (Hoeldtke RD, Diabetes, 2002). Las diferencias existentes en los niveles de ácido úrico entre sexos se han observado en otros estudios y esto

parece relacionarse con el efecto uricosúrico de los estrógenos (Marra G, Diabetes Care, 2002).

Los niveles de ácido úrico descendidos como consecuencia de una mayor eliminación renal o como mecanismo compensatorio a una situación de mayor estrés oxidativo y nitrosativo, podrían aumentar la susceptibilidad al daño por EO en esta población (Waring WS, Diabetes 2006; Hoeldtke RD, Diabetes, 2002).

En nuestro estudio, al analizar la evolución del aclaramiento de creatinina previo a la instauración de ISCI y durante los tres meses de tratamiento no se observaron diferencias en éste. Aunque no se ha analizado específicamente el aclaramiento de ácido úrico ni su fracción-excreción para valorar tanto su filtración como su secreción tubular, el hecho de que no se haya modificado el aclaramiento de creatinina permite asumir que tampoco lo ha hecho el de ácido úrico y que éste no es el mecanismo principal de su elevación. Por otro lado, la insulina disminuye el aclaramiento a nivel del túbulo distal de sodio y ácido úrico. En este caso, las modificaciones de la dosis de insulina tras la instauración de la ISCI no justifican la elevación de los niveles de ácido úrico, puesto que hubo una reducción de la dosis de ésta tras instaurar ISCI. El hecho de haber encontrado una correlación inversa entre ácido úrico y hemoglobina glicosilada podría avalar la hipótesis del consumo de éste como antioxidante en situaciones de hiperglucemia.

Como hemos comentado con anterioridad, el origen de la hipouricemia en diabetes mellitus tipo 1 no se conoce con exactitud y probablemente sea multifactorial, estando implicadas tanto la situación de mayor EO de la diabetes y su acción como antioxidante, como su mayor excreción renal. El hallazgo de niveles bajos de ácido úrico en diabéticos tipo 1 sin complicaciones micro o macroangiopáticas y en poblaciones de diabéticos tipo 2 en estadios precoces de la enfermedad también podría estar reflejando, indirectamente, un menor grado de disfunción endotelial y la hiperuricemia en estadios más evolucionados de la enfermedad podría reflejar un mayor grado de disfunción endotelial (Pitocco D, Diabetes Metab Res Rev, 2008). Por otro lado, la repercusión y el significado de la uricemia sobre el desarrollo de complicaciones micro y macroangiopáticas se desconoce. Se ha descrito que, en estadios precoces de diabetes tipo 1, los niveles bajos de ácido úrico se han asociado con múltiples cambios de la función nerviosa autónoma (Hoeldtke RD, Diabetes, 2002). Otros estudios asocian niveles normales o elevados de ácido úrico con descenso

de la tasa de filtración glomerular en diabéticos tipo 1 normoproteinúricos (Rosolowsky ET, Clin J Am Soc Nephrol, 2008) y más recientemente se ha asociado los niveles de ácido úrico próximos al inicio de la enfermedad con el desarrollo posterior de macroalbuminuria persistente (Hovind P, Diabetes, 2009). Un estudio de intervención que emplea ácido úrico en una población de diabéticos tipo 1 y fumadores demuestra un aumento de la TAS y una mejora de la respuesta vasodilatadora ON dependiente (Waring WS, Diabetes 2006), lo que apoyaría la idea de que el descenso de ácido úrico es consecuencia de una situación de mayor EO y puede ser reflejo del grado de disfunción endotelial.

Aunque el ácido úrico tiene un demostrado efecto antioxidante, existe controversia y debate respecto a su papel en el proceso aterosclerótico, habiéndose identificado en estudios epidemiológicos una relación entre niveles elevados de ácido úrico y enfermedad cardiovascular (Tuttle KR, Am J Cardiol, 2001; Lehto S, Stroke, 1998). Se desconoce si la hiperuricemia en este contexto se desarrolla como un mecanismo de compensación o es un factor coincidente. Estudios poblacionales prospectivos apuntan que la relación entre los niveles elevados de ácido úrico y el riesgo cardiovascular no persiste tras ajustar por otros factores de riesgo (Feig DI, N Engl J Med, 2008). Sin embargo, otros estudios controlando por factores de riesgo cardiovascular clásicos sí sugieren que la hiperuricemia podría incrementar el riesgo cardiovascular de forma independiente (Liese AD, Epidemiology, 1999). Dos revisiones sistemáticas que evalúan la asociación entre ácido úrico y desarrollo de enfermedad cardiovascular extraen como conclusiones que en aquellos sujetos de bajo riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) los niveles de ácido úrico son, como mucho, predictores débiles de ECV. Sin embargo, en sujetos de alto riesgo (hipertensos, diabéticos, pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva o enfermedad coronaria establecida), los niveles de ácido úrico pueden ser predictores de ECV de forma independiente a otros factores de riesgo (Baker JF, Am J Med 2005). Aunque no se puede inferir una relación causa-efecto de estos observacionales, la discrepancia existente entre los sujetos con bajo y alto riesgo podría estar reflejando significados diferentes del exceso de ácido úrico en distintas circunstancias. Por otro lado, los trabajos que demuestran mejoría de la disfunción endotelial con alopurinol (que actúa inhibiendo la enzima xantina oxidasa y, secundariamente, disminuyendo los niveles de ácido úrico) podrían estar relacionados sólo con la inhibición de esta enzima, la cual es una fuente de generación de EO a nivel

endotelial, y no por efecto directo de la reducción de ácido úrico (Descro MC, Diabetes, 2002).

Si la elevación de ácido úrico puede ser un candidato que establezca un nexo de unión entre la enfermedad micro y macrovascular, mediante el desarrollo de disfunción endotelial, en la diabetes mellitus tipo 1 es algo que habrá que dilucidar. El hecho de que el ácido úrico pudiera estar reflejando el grado de disfunción endotelial y de EO se basa en algunas demostraciones. Ésto podría justificar el significado de la uricemia en poblaciones de bajo y alto riesgo de enfermedad cardiovascular puesto que estaría aportando información sobre el grado de disfunción endotelial y el estado de otros mecanismos de defensa antioxidantes. De esta manera:

-El ON es capaz de inhibir la actividad de la enzima xantina deshidrogenasa, disminuyendo la producción de ácido úrico. En la diabetes el exceso de producción de anión superóxido, derivado de la hiperglucemia, es compensado con un aumento de generación de ON a través de la iONS. El exceso de producción de anión superóxido de forma crónica conduce a la generación de peroxinitrito y secundariamente nitrotirosina, y como consecuencia, la oxidación de la tetrahidrobiopterina (cofactor de eNOS e iNOS) en hidrobiopterina generándose anión superóxido en lugar de ON. De esta manera la enzima xantina oxidasa podría perder parte de su inhibición y aumentar así la generación de ácido úrico, reflejando esto una menor capacidad de producción de ON y consecuentemente un mayor daño endotelial (**Figura 5**). La elevación observada de ácido úrico en este estudio tras la implantación de ISCI podría estar indirectamente relacionada con el descenso de la hiperglucemia a través de estas vías e implicar un menor grado de agresión oxidativa. El nivel de este antioxidante previo a la implantación de ISCI podría estar indicando el consumo existente durante la fase de mayor grado de hiperglucemia y oxidación y su elevación posterior la recuperación tras aliviar parcialmente esta situación. Es importante destacar que el diseño no experimental de este estudio no permite confirmar que los cambios en los niveles de ácido úrico se deban a los mecanismos propuestos previamente, exponiéndose una hipótesis que podría justificar los hallazgos.

Relativo a la capacidad antioxidante total del plasma, no se encontraron diferencias en los niveles de TAS entre el grupo control y el grupo TISCI, y en estos últimos tampoco se hallaron diferencias antes-después.

En algunos trabajos se han descrito niveles descendidos de TAS en la población diabética (Penebad CR, Clin Chem, 1994; Firoozai M, Diabetes Res Clin Prac, 2007; Valabhji J, Diabetes Care, 2001) y en concreto en diabéticos tipo 1 con buen control glucémico (Santini S, Diabetes, 1997), así como en grupos de poco tiempo de evolución y sin complicaciones microvasculares (Marra G, Diabetes Care, 2002). En varias publicaciones se ha sugerido la posible relación existente entre la TAS y el desarrollo de enfermedad cardiovascular en DM tipo 1 (Costacou T, J Diabet Complications, 2006) y de la TAS con su capacidad de predecir estadios precoces de aterosclerosis, independiente de otros factores de riesgo cardiovascular clásicos (Valabhji J, Diabetes Care, 2001), si bien el diseño de estos estudios no permitió establecer una relación causal.

La correlación negativa encontrada entre TAS y HbA_{1c}, ha sido reportada en algunos trabajos (Firoozai M, Diabetes Res Clin Prac, 2007), si bien esta relación no ha sido hallada en otras publicaciones (Marra G, Diabetes Care, 2002). En nuestro caso, al igual que sucede con el ácido úrico, un peor control metabólico parece suponer un mayor consumo de antioxidantes a nivel extracelular reflejado en ambos parámetros.

En nuestro caso, en el grupo pre-ISCI era esperable haber encontrado niveles descendidos de TAS respecto al grupo control, puesto que su principal determinante son los niveles de ácido úrico (Maxwell SRJ, Eur J Clin Invest, 1997) y que el comportamiento de ésta hubiera sido similar al del ácido úrico en nuestro grupo de estudio. El comportamiento de otros componentes de la TAS como el ácido ascórbico, la bilirrubina y proteínas como la albúmina que no se han determinado en este estudio explican probablemente estas diferencias.

6.3.4- Productos finales de la lipoperoxidación lipídica: Malondialdehído

No se encontraron diferencias entre los niveles de MDA en el grupo TISCI (pre o post-ISCI) y el grupo control.

En la diabetes mellitus tipo 1, los niveles reportados de diferentes productos finales de lipoperoxidación lipídica respecto a la población general son variables. Si bien en la mayoría de los estudios estos productos están elevados (Dave GS, Cell Mol Biol 2007; Flores L, Metabolism, 2004; Nourooz-Zadeh J, Diabetologia, 1997). Es importante reseñar que existen múltiples productos de peroxidación lipídica y que su interpretación

o su papel como marcador de enfermedad micro-macrovascular o daño endotelial no está establecido.

Los estudios que examinan los niveles de MDA reflejan tanto niveles similares en población diabética respecto al grupo control (VanderJagt DJ, Clin Biochem, 2001) como niveles claramente superiores (Firoozai M, Diabetes Res Clin Pract, 2007; Seckin D, Diabetes Res Clin Pract, 2006; Martín Gallán P, Free Radic Biol Med, 2003; Jain SK, Diabetes Care, 2000; Domínguez C, Diabetes Care, 1998). Las diferencias encontradas en los estudios pueden venir en parte derivadas de la falta de especificidad de los métodos de determinación desarrollados entre 1970 y 1995 y aplicados en algunos de estos estudios (Seckin D, Diabetes Res Clin Pract, 2006; Firoozrai M, Diabetes Res Clin Pract, 2007). La determinación de las concentraciones de MDA y de sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúico (TBARS) obtenidas con estos métodos varían en un rango muy amplio (desde 0 a 50 $\mu\text{mol/L}$), pudiendo esto estar relacionado con la simple oxidación durante el proceso analítico. El test de ácido tiobarbitúico (TBA) se considera inaceptable en la investigación actual porque se ha constatado que la mayoría del material que reacciona con TBA en los fluidos orgánicos no está relacionado con la peroxidación lipídica. De esta manera, los datos obtenidos en los estudios que aplican este método deben ser cuestionados.

Otro problema importante de este parámetro y otros derivados de la peroxidación lipídica (hidroperóxidos lipídicos y los aldehídos) es que pueden ser absorbidos por la dieta. Algunas comidas contienen aductos de MDA-amino-ácidos que pueden ser absorbidos y eliminados posteriormente por orina. La medición urinaria de MDA puede estar muy influenciada por la dieta por lo que se recomienda que no se utilice este parámetro como índice de peroxidación lipídico orgánico a menos que la dieta esté estrictamente controlada (Dalles-Done, Clin Chem, 2006). En la mayoría de los trabajos que determinan MDA no se hace referencia al grado de control dietético con el objetivo de evitar esta interferencia. Este aspecto tampoco se controló en este estudio por lo que los resultados obtenidos pueden estar influidos en este sentido y son debatibles.

6.3.5- Relación de los parámetros de estrés oxidativo con la hiperglucemia

El hecho de que el grupo TISCI pre-ISCI tuviera cifras más bajas de ácido úrico y así como lo observado tras la mejoría del control glucémico respecto a SOD, da pie a desarrollar la siguiente teoría especulativa (**Figura 5**):

La hiperglucemia genera un exceso de anión superóxido que en sujetos diabéticos tipo 1 es detoxificado principalmente a nivel intracelular por medio de la SOD. El exceso de anión superóxido que difunde al medio extracelular se une a ON generándose anión peroxinitrito, que secundariamente es capaz de inducir la expresión de iNOS para generar más ON. En presencia de eNOs e iNOs intactas se genera suficiente cantidad de ON capaz de inhibir la enzima xantina oxido-reductasa disminuyendo la producción de ácido úrico. Simultáneamente el anión peroxinitrito también es capaz de inhibir a la xantina oxido-reductasa y puede ser degradado a su vez por el ácido úrico, lo que contribuye a su descenso por consumo. La corrección de la hiperglucemia generaría una menor liberación de anión superóxido y secundariamente sería necesaria una menor actividad de la SOD para detoxificar. La difusión de anión superóxido va a ser menor a nivel extracelular por lo que va a haber menor inducción de expresión de eNOS e iNOS y menor formación de peroxinitrito. Esto puede explicar una menor inhibición de la enzima xantina oxido-reductasa y mayor producción secundaria de ácido úrico.

Por tanto, las modificaciones de ácido úrico en relación a la hiperglucemia antes de la implantación de ISCI en este estudio podrían estar justificadas por dos mecanismos principales:

Mecanismo 1: niveles adecuados de ON e inhibición secundaria de la enzima xantina deshidrogenasa.

Mecanismo 2: exceso de formación de peroxinitrito que es degradado por ácido úrico, con el consumo secundario de éste.

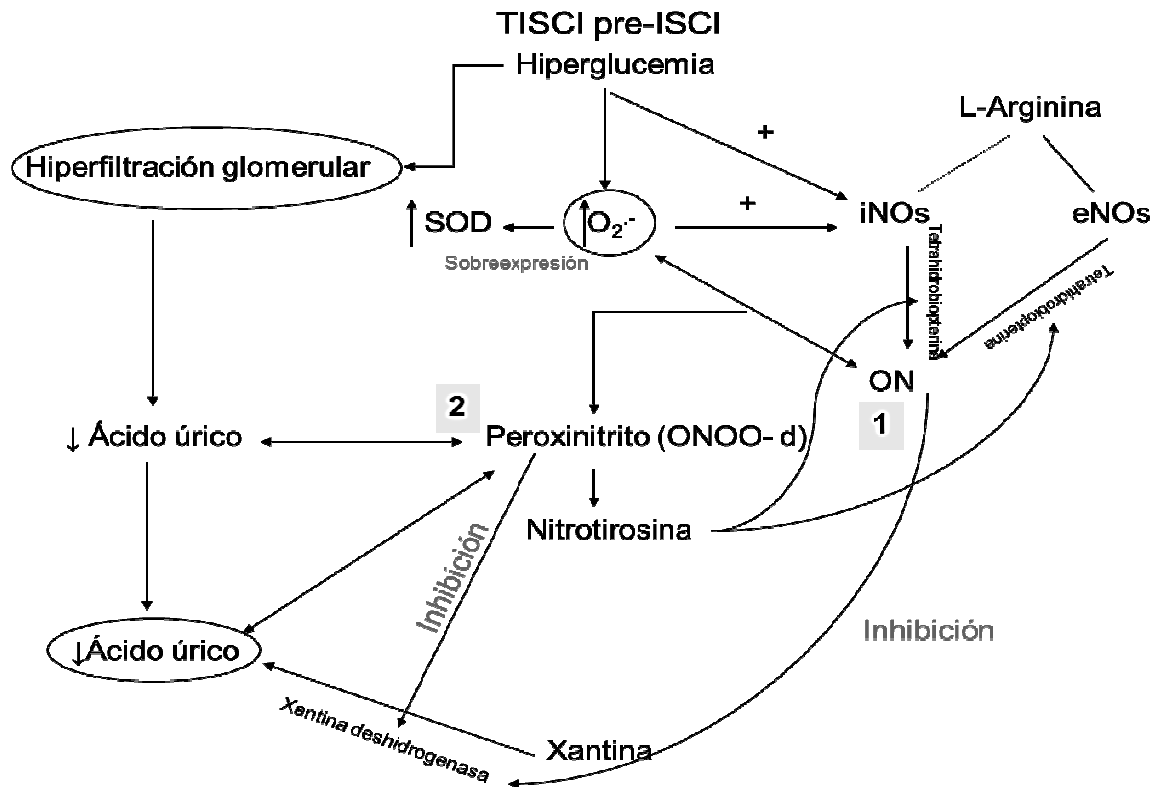


Figura 5. Teoría especulativa de relación entre mecanismos de antioxidación en situación de hiperglucemia.

Los números 1 y 2 (gris) hacen referencia a los mecanismos principales que podrían justificar el descenso de ácido úrico en este estudio.

6.3.6- Relación de los parámetros de estrés oxidativo con el grado de control glucémico

En nuestro estudio se encontró una correlación negativa entre los niveles de ácido úrico y TAS y la HbA_{1c} en el grupo completo de estudio en situación basal. No se hallaron otras asociaciones entre parámetros de EO y de control metabólico en el grupo ISCI pre o post-intervención.

La hiperglucemia se considera un elemento clave de la inducción de EO en la diabetes y del posterior desarrollo de complicaciones micro-macrovasculares. Aunque múltiples estudios experimentales demuestran que la hiperglucemia genera EO, la relación existente entre el grado control glucémico y EO es débil en algunos.

Pocos estudios *in vivo* de población diabética han relacionado directamente los grados de hiperglucemia con diferentes niveles de inducción de EO. El efecto directo del

control glucémico sobre el EO ha demostrado ser inconsistente en la literatura, habiéndose reportado tanto datos a favor (Flores L, *Metabolism*, 2004; Hoeldtke RD, *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; Davi G, *Circulation*, 1999) como en contra (Hartnett EM, *Diabetes Care*, 2000).

Los estudios de intervención con diferentes estrategias para mejorar el control glucémico y su repercusión en el estado de EO son escasos, reflejan situaciones clínicas muy diversas, utilizan diferentes parámetros y están realizados en subgrupos pequeños de población: con terapia insulínica intensiva al inicio de la enfermedad (Flores L, *Metabolism*, 2004; Hoeldtke RD, *J Clin Endocrinol Metab*, 2003), en programas de intensificación del control metabólico en población pediátrica (Shamir R, *Pediatr Diabetes*, 2008), o tras la instauración de la terapia con sistemas de infusión continua de insulina (Berg TJ, *Diabetes Care*, 1998). Estos trabajos han objetivado reducciones de parámetros de EO, habiéndose relacionado con el grado de control metabólico conseguido al final de la intervención.

El hecho de que la relación entre el grado de control metabólico y el de EO no sea reproducible en todos los estudios podría estar justificado por varios hechos:

- Aunque la HbA_{1c} es un buen indicador del control glucémico global, refleja mínima y parcialmente las fluctuaciones glucémicas por lo que podría no reproducir de forma fiel el estado de EO de estos pacientes, a diferencia de lo demostrado en modelos experimentales. En estos modelos se ha confirmado que la exposición de cultivos celulares a concentraciones crecientes de glucemia y alternantes es capaz de inducir diferentes grados de generación de productos de EO (Quagliaro L, *Diabetes*, 2003).

- Los parámetros de EO utilizados son muy variables. Aunque *a priori* la medición de isoprostanos urinarios podría ser la medida que mejor integre la producción de EO en un periodo de tiempo, la mayoría de las publicaciones valoran EO mediante parámetros indirectos, como por ejemplo la actividad de la enzima SOD. Esta enzima puede ser rápidamente inducida cuando el organismo está expuesto a EO. Sin embargo, las adaptaciones que se producen en ésta y otros sistemas enzimáticos en situaciones de corrección de hiperglucemia se desconocen.

- Las situaciones clínicas reflejadas en los estudios son heterogéneas. El grado de EO observado al inicio de la enfermedad en algunas publicaciones (Flores L, *Metabolism*, 2004; Hoeldtke RD, *J Clin Endocrinol Metab*, 2003) puede ser el reflejo del daño inmunológico originado a la célula β , lo cual genera un círculo vicioso en el que el EO es tanto causa como resultado de la disfunción de la célula β . Este daño parece estar

mediado por óxido nítrico (Corbett JA, Diabetes, 1992). El descenso paulatino en parámetros de EO tras la insulinización en estos trabajos podría estar reflejando diferentes situaciones clínicas relacionadas con un menor ataque inmunológico por destrucción masiva de la célula β , con los efectos antioxidantes de la insulina y con los cambios en el control metabólico.

Los datos aquí reportados estarían en concordancia con lo reflejado en la literatura. La reducción de ácido úrico observada tras la intervención no ha podido ser asociada con los cambios en el control metabólico (HbA_{1c}), por lo que otros mecanismos no ligados a la generación de EO pueden haber influido en su descenso. La ausencia de modificación de otros sistemas enzimáticos o antioxidantes apoyaría la idea más generalizada: el efecto de la mejoría del control glucémicos sobre parámetros de EO, ya sean sustratos antioxidantes o productos finales de la oxidación, está aún por confirmar en estudios clínicos prospectivos, siendo necesario el establecimiento de un marcador de EO validado.

6.3.7- Variabilidad glucémica y estrés oxidativo

En nuestra serie los niveles de MDA se correlacionaron de forma positiva con MAGE en el grupo TISCI pre-ISCI. Esta asociación no se mantuvo tras la intervención. MAGE explicó en el modelo de regresión lineal un valor pequeño de MDA de forma independiente a otras variables. La SOD del grupo pre-ISCI se correlacionó negativamente con el número global de excursiones glucémicas globales y con el número de excursiones hiperglucémicas, asociación que no se apreció tras la intervención. No se encontraron asociaciones entre parámetros de EO y medidas de variación glucémica postprandial.

Variabilidad glucémica y desarrollo de complicaciones microvasculares

La potencial implicación de la variabilidad glucémica en el desarrollo de las complicaciones se especula desde hace años. Algunos datos extraídos del DCCT pusieron en evidencia la idea de que independientemente de la HbA_{1c} , otros factores podían influir en la patogénesis de las complicaciones microvasculares. Cuando se estudió en 1995 la asociación entre los niveles de HbA_{1c} y el riesgo de progresión de la retinopatía diabética en pacientes con tratamiento convencional o tratamiento intensivo,

se observó que a igual nivel de HbA_{1c}, el riesgo de desarrollar retinopatía diabética en el grupo tratamiento convencional era superior al del grupo tratamiento intensivo. Los investigadores del DCCT comunicaron entonces que, para la cohorte completa del estudio, la HbA_{1c} sólo podía explicar menos del 25% de la variación del riesgo de desarrollar esta complicación. La única diferencia existente entre ambos grupos era el régimen de tratamiento insulínico (DCCT Research Group, Diabetes, 1995). Una explicación especulativa fue que las excursiones glucémicas del grupo de tratamiento convencional fueran mayores en frecuencia y magnitud al recibir un menor número de inyecciones, y que ésto podría justificar las diferencias. Sin embargo, análisis posteriores realizados por investigadores independientes no encontraron asociación entre la variabilidad glucémica y el desarrollo o progresión de retinopatía o nefropatía en la cohorte de pacientes del DCCT (Kilpatrick ES, Diabetes Care, 2006), estableciéndose que la glucemia media era el principal predictor del riesgo de desarrollo de retinopatía diabética, con una contribución pequeña del índice MAGE, sin serlo otras medidas de variabilidad glucémica como la SD o el valor M (Service FJ, Diabetologia, 2001). En una revisión posterior, los mismos estadísticos del DCCT concluyeron que el aparente efecto de diferente riesgo de complicaciones entre ambos grupos, a igual nivel de HbA_{1c}, era fruto de un artefacto estadístico y que la HbA_{1c} explicaba virtualmente casi todas las diferencias en el riesgo de complicaciones entre el grupo tratamiento intensivo y convencional y que, a igual nivel de HbA_{1c}, el riesgo de desarrollar complicaciones a lo largo del tiempo era similar en ambos grupos (Lachin JM, Diabetes, 2008). Sin embargo, otros grupos sí sostienen la hipótesis de que la variabilidad sí podría implicar un exceso de riesgo de complicaciones, al observar una reducción en la incidencia de retinopatía diabética entre adolescentes diabéticos tipo 1 desde 1990 a 2002, a pesar de cambios poco significativos en las cifras de HbA_{1c} a lo largo de este periodo. La única modificación en el tratamiento fue el uso de tratamiento intensivo con terapia multidosis, con lo que se especulaba que una posible explicación para este hallazgo estribaba en las presumibles diferencias en variabilidad glucémica a lo largo del periodo de seguimiento (Mohsin F, Diabetes Care, 2005).

Por otro lado, y de forma repetida, se ha observado que la hiperglucemia aguda puede originar alteraciones en la velocidad de conducción nerviosa sensitiva y motora, tanto en diabéticos tipo 1 como en sujetos sanos (Feldman J, Clin Invest, 2003). Se ha hipotetizado que las alteraciones de la velocidad de conducción nerviosa desencadenadas por la hiperglucemia aguda se deben a un descenso de la actividad

Na⁺/K⁺-ATPasa o a alteraciones derivadas de la generación de moléculas osmóticamente activas generadas de la vía de los polioles (Kikkawa Y, Clin Neurophysiol, 2005). Bragd *et al* realizaron un estudio longitudinal a lo largo de 11 años en el que se observó que la variabilidad glucémica estaba relacionada con la presencia de neuropatía periférica y era un predictor en el límite de la significación estadística de su incidencia (Bragd J, Diabetes Metab, 2008).

Variabilidad glucémica y EO

La contribución de la variabilidad glucémica al desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares y sus vías patofisiológicas, sigue siendo un objeto importante de debate en la actualidad. La variabilidad glucémica parece estar fuertemente relacionada con la generación de EO *in vitro*, en estudios en animales y preclínicos en humanos.

En estudios *in vitro* se ha demostrado que las exposiciones a concentraciones alternantes de glucemia en cultivos celulares induce una mayor activación de EO y apoptosis celular que la exposición a concentraciones altas pero estables de glucemia (Piconi L, Diabetes Metab Res Rev, 2006; Quagliaro L, Atherosclerosis, 2005; Quagliaro L, Diabetes, 2003).

In vitro se ha estudiado los cambios que la hiperglucemia aguda es capaz de inducir a nivel genético, molecular o celular y, en concreto, endotelial. Un ejemplo de esto es la demostración de la inducción de cambios epigenéticos tras periodos de hiperglucemia aguda transitoria. A este respecto, El-Osta *et al* observaron que la hiperglucemia aguda transitoria era capaz de inducir cambios epigenéticos en el promotor de la subunidad p65 del factor nuclear κB (NF- κB) a través de mecanismos de remodelado de cromatina, en células endoteliales aórticas *in vitro* y en ratones no diabéticos. NF- κB inducía un incremento en la expresión de Il-6, NOS, MCP-1, ICAM-1 y VCAM-1 que se mantenía durante periodos posteriores de normoglucemia. Uno de los aspectos más relevantes demostrado por estos autores, fue que la generación intracelular de ROS, era suficiente para inducir el incremento de expresión de p65 en ausencia de hiperglucemia (El-Osta A, J Exp Med, 2008). Recientemente se ha publicado que, la generación de ROS en el contexto de una situación de hiperglucemia aguda induce la expresión de RAGE y ligando de RAGE en células endoteliales de aorta humana (Yao D, Diabetes, 2010).

Estos hallazgos *in vitro* han sido reproducidos en estudios en animales (Horváth EM, Diabetologia, 2009) y en humanos en contextos experimentales. En este último contexto, se han realizado investigaciones con clamp hiperglucémico que simulan ciclos de excursiones glucémicas prolongadas (>6 horas), lo que lo aleja de la realidad de la variabilidad glucémica (Ceriello A, Diabetes, 2008). Un aspecto importante a considerar en todos estos trabajos es que la simulación de variabilidad difiere sustancialmente con lo que sucede en la vida real. Por ejemplo, en los estudios *in vitro* los cambios del medio hiperglucémico al que se someten los cultivos se realiza cada 24 horas, lo que implica periodos de exposición a concentraciones alternantes claramente alejados de lo que sucede en la diabetes mellitus.

Lo que sí se ha constatado en estudios experimentales en sujetos sanos es que la sobrecarga oral de glucosa es capaz de incrementar la generación de ROS de los leucocitos en algunos grupos de estudio (Mohanty P, J Clin Endocrinol Metab, 2000), lo que podría implicar que la generación de EO es un fenómeno común que se desencadena con la hiperglucemia aguda.

Conociendo el papel del EO en el desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares, el esfuerzo se ha centrado en detectar la existencia de una posible relación entre la variabilidad glucémica con la generación de EO, de modo independiente de medidas de control glucémico global.

La diabetes mellitus tipo 2 presenta un comportamiento muy diferente respecto a la diabetes mellitus tipo 1 en cuanto al fenómeno de variabilidad glucémica. Las conclusiones de los estudios realizados en diabetes mellitus tipo 2 pueden perfectamente no ser extrapolables a la población de diabético tipo 1. En diabéticos tipo 2 se ha encontrado que la ingesta de comidas ricas en carbohidratos frente a comidas bajas en hidratos supone un aumento de la producción de MDA y un descenso de TAS (Ceriello A, Metabolism, 1999). En 2006 se publicó el primer trabajo que relacionó directamente la variabilidad glucémica (utilizando como medida de variabilidad glucémica MAGE) con la generación de EO (medido como 8-iso-PGF_{2α}), independientemente del control glucémico, en pacientes diabéticos tipo 2 tratados con antidiabéticos orales (Monnier L, JAMA, 2006). Estos hallazgos no han sido confirmados por otros grupos (Siegelaar SE, Program of the 45th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, 2009). Estudios más recientes del grupo de Monnier *et al* han confirmado la asociación entre EO y medidas de

variabilidad glucémica (en concreto MAGE), pero sin independencia del control metabólico, lo que conduce a estos autores a concluir que la hiperglucemia mantenida y la variabilidad glucémica parecen contribuir por igual a la activación de EO, al menos en diabéticos tipo 2 tratados con antidiabéticos orales (Monnier L, *Diabetologia*, 2010).

En un modelo sustancialmente diferente en cuanto a la variabilidad glucémica y frecuencia de hipoglucemias como es la diabetes mellitus tipo 1, no se ha podido corroborar ninguna relación entre la variabilidad glucémica y la activación de EO. Varios trabajos que evalúan la posible relación entre la variabilidad glucémica y la generación de EO en diabetes tipo 1 no encuentran relación entre diferentes índices de variabilidad y productos finales de EO (Monnier L, *Diabetologia*, 2010; Wentholt IME, *Diabetologia*, 2008). Enlazando estos datos con los referidos previamente por Killpatrick *et al* (Killpatrick ES, *Diabetes Care*, 2006), y más recientemente por Siegelaar *et al* (Siegelaar SE, *Diabetologia*, 2009), no ha establecido aún el posible papel que puede jugar la variabilidad glucémica en el desarrollo de complicaciones microvasculares, al menos en diabetes mellitus tipo 1, ni que la variabilidad glucémica suponga un estímulo adicional de generación de EO. Algunas de las diferencias observadas entre diabéticos tipo 1 y tipo 2 pueden estar relacionadas por el efecto de la insulina, que por sí ejerce un efecto inhibitorio demostrado en la activación de EO, como se ha sugerido recientemente (Monnier L, *Diabetologia*, 2010) y por ser modelos de variabilidad glucémica radicalmente diferentes.

Nuestros datos estarían en concordancia con lo publicado hasta ahora en diabetes mellitus tipo 1. La asociación encontrada entre MDA y MAGE o SOD con el número global de excursiones hiperglucémicas sólo en el análisis univariante no permite extraer conclusiones a este respecto.

Glucemia postprandial

En un contexto clínico radicalmente diferente al de la diabetes mellitus tipo 1, existe una evidencia epidemiológica robusta que relaciona los niveles de glucemia plasmática tras sobrecarga de glucosa o postprandiales de forma independiente con el desarrollo de enfermedad cardiovascular, con la evidencia conjunta de que la glucemia basal es una variable predictora de éstos mucho más débil, en diferentes grupos poblacionales y tanto en población no diabética (Meigs JB, *Diabetes Care* 2002; De Vegt, *Diabetologia*,

1999; *DECODE Study Group*, Lancet 1999; Donahue RP, Diabetes, 1987) como en población diabética (Hanefeld M, Diabetologia, 1996). Estudios de intervención, con fármacos que selectivamente reducen la glucemia postprandial (acarbosa o repaglinida) demostraron que la reducción de la glucemia postprandial se asociaba con un descenso significativo en la reducción de riesgo del desarrollo de eventos cardiovasculares, especialmente infarto agudo de miocardio (Chiasson JL, JAMA, 2003; Chiasson JL, Lancet, 2002) o con variables subrogadas del desarrollo de aterosclerosis como regresión del engrosamiento de la íntima-media carotídea (Esposito K, Circulation, 2004). Sin embargo, el ensayo clínico HEART-2D no ha podido demostrar la superioridad de un régimen insulínico basado en insulina prandial frente a insulina basal en prevención secundaria de eventos cardiovasculares en diabéticos tipo 2 a igualdad de HbA_{1c} durante el seguimiento y con la única diferencia entre ambos grupos en los niveles de glucemia postprandiales y basales (Raz I, Diabetes Care, 2009). A este respecto, una consideración fisiológica a tener en cuenta es que al igual que la glucosa, los ácidos grasos libres también inducen la producción de anión superóxido a nivel mitocondrial. No sólo el incremento de la glucemia tiene lugar en el postprandio por lo parece razonable preguntarse si los efectos vistos con la hiperglucemia postprandial son independientes de otras modificaciones lipídicas que ocurren en este periodo postprandial. Al presentar la glucemia postprandial características distintas de las fluctuaciones glucémicas no relacionadas con la ingesta, los datos derivados del efecto de la hiperglucemia postprandial y riesgo cardiovascular no son extrapolables a la variabilidad glucémica en general.

Variabilidad glucémica y paciente crítico

Varios grupos diferentes han realizado análisis retrospectivos del potencial papel de la variabilidad glucémica como predictor de mortalidad en adultos ingresados en UCI. Estos trabajos concluyen que la variabilidad glucémica medida como SD fue un predictor significativo de la mortalidad en pacientes críticos, independientemente de la severidad de la enfermedad (Kransley JS, Crit Care Med, 2008; Egi M, Anesthesiology, 2006). Un subanálisis de uno de estos estudios realizado en diabéticos conocidos previamente, no demostró la relación de la variabilidad glucémica con la supervivencia, hipotetizando los autores que las exposiciones previas a variabilidad en los diabéticos los volverían menos vulnerables a éstas en situaciones críticas (Egi M, Anesthesiology,

2006). Aunque el ámbito del paciente crítico tiene muy pocos vínculos con la diabetes ambulatoria, los mecanismos a través de los cuales la variabilidad glucémica podría influir en el pronóstico de éstos podrían ser comunes y tendrán que ser dilucidados.

De todos los trabajos anteriormente expuestos se podría resumir que:

- 1) La asociación a corto o largo plazo existente entre la variabilidad glucémica y el desarrollo de las complicaciones microvasculares no ha sido probada en diabetes mellitus tipo 1 y no ha sido estudiada en diabetes mellitus tipo 2.
- 2) La relación de causalidad entre la variabilidad glucémica y complicaciones macrovasculares o mortalidad no está investigada ni en diabetes mellitus tipo 2 ni en tipo 1. Un único estudio de intervención (HEART-2D) sugiere que la reducción de la variabilidad no mejora el pronóstico cardiovascular en diabéticos tipo 2 con antecedentes infarto agudo de miocardio.
- 3) La relación entre mortalidad y variabilidad glucémica se ha sugerido que existe en el paciente crítico no diabético, sin existir estudios de intervención que lo corroboren y no siendo extrapolable a contextos clínicos asistenciales de pacientes diabéticos tipo 1 o tipo 2.

Son necesarios estudios clínicos que evalúen el impacto de la reducción de la variabilidad glucémica (teniendo en cuenta sus componentes principales: fluctuaciones glucémicas e hiperglucemia postprandial) en el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares y conocer a través de qué mecanismos es deletéreo su efecto. Hasta que existan datos, el objetivo de control glucémico en DM 1 seguirá siendo la HbA_{1c} (American Diabetes Association, Diabetes Care, 2010), si bien el abordaje de la glucemia basal, las excursiones glucémicas y la glucemia postprandial a través del ISCI en pacientes que no pueden conseguir objetivos terapéuticos con terapia multidosis puede ser un enfoque adecuado, tratándose así todos los componentes de la disglucemia. Si la reducción de la variabilidad tiene algún impacto en el pronóstico de este grupo de pacientes tendrá que ser dilucidado.

6.4- INFLAMACIÓN Y DIABETES MELLITUS

Los niveles de PCRus pre-ISCI no se modificaron durante la terapia con ISCI, manteniéndose superiores a los del grupo control antes y después de la intervención. En nuestro estudio, los niveles de PCRus en el grupo TISCI pre-ISCI se correlacionaron positivamente con las cifras de tensión arterial sistólica y diastólica, los requerimientos insulínicos en terapia multidosis, la actividad de la SOD pre-ISCI y los niveles de glucemia basal pre-ISCI.

En diabéticos tipo 2 la actividad inflamatoria está incrementada y se encuentra fuertemente asociada con el riesgo de desarrollo de aterotrombosis (Stehouwer CD, Diabetes, 2002; Jager A, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999). Estos datos no son extrapolables a la población de diabetes tipo 1, ya que la obesidad y el estado de insulinresistencia de la diabetes tipo 2 condicionan, en parte, la actividad inflamatoria y oxidativa. Sin embargo, al igual que en diabetes tipo 2 la actividad inflamatoria medida por PCRus en DM tipo 1 también parece encontrarse incrementada y se ha relacionado con estadios precoces de aterosclerosis carotídea y calcificación coronaria en diabéticos tipo 1 jóvenes (Colhoun HM, Diabetes Care, 2002; Hayaishi-Okano R, Diabetes Care, 2002).

Los 24 diabéticos tipo 1 incluidos presentaron niveles de PCRus pre-ISCI superiores a los controles. Estos datos están en concordancia y son similares a los publicados en diversos estudios transversales (Devaraj S, Diabetes, 2007; Schram MT, Diabetologia 2005; Colhoun HM, Diabetes Care, 2002; Schalkwijk CG, Diabetologia, 1999) y procedentes de la cohorte del DCCT/EDIC (Jenkins AJ, J Diabet Complications, 2008). No se conoce con exactitud qué factores, más allá de la hiperglucemia, determinan la actividad inflamatoria en diabetes mellitus tipo 1. En la cohorte del estudio EURODIAB, el score de inflamación compuesto por IL6, TNF α y PCR se asoció con la HbA_{1c}, el tiempo de evolución de la enfermedad, el sexo femenino, el índice de masa corporal, AGE, HDL colesterol y triglicéridos así como con moléculas de adhesión (VCAM-1 y Selectina E) (Schram MT, Diabetes Care, 2003). En otras publicaciones, los principales predictores independientes de los niveles de PCR en DM tipo 1 fueron el índice de masa corporal, el control glucémico (HbA_{1c}) (Jenkins AJ, J Diabet Complications, 2008; Kilpatrick ES, QJM, 2000; Schalkwijk CG, Diabetologia, 1999),

el tiempo de evolución de la diabetes (Targher G, *Diabet Med*, 2005), el sexo femenino y el uso de anticonceptivos orales (Jenkins AJ, *J Diabet Complications*, 2008).

6.4.1- PCRus y control glucémico

En el grupo TISCI, los niveles de PCRus post-ISCI no se modificaron respecto a los basales (pre-ISCI) a lo largo del seguimiento, manteniéndose significativamente más elevados que el grupo control, antes y después de ISCI.

Los niveles de PCRus se correlacionaron positivamente con las cifras de HbA_{1c} al considerar al grupo completo de estudio antes de la implantación de la bomba de insulina. Los niveles de PCRus en el grupo TISCI pre-ISCI se correlacionaron positivamente con los niveles de glucemia basal pre-ISCI y con los requerimientos insulínicos en terapia multidosis.

Algunos estudios han relacionado el grado de control glucémico con los niveles de PCRus, sin permitir el diseño de estos estudios establecer una relación causa-efecto (Snell-Bergeon JK, *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; Jenkins AJ, *J Diabet Complications*, 2008; King DA, *Diabetes Care*, 2003; Kilpatrick ES, *QJM*, 2000). Por otro lado, la mejoría del control metabólico y la instauración del tratamiento insulínico se han asociado a un descenso de los marcadores de inflamación en algunos contextos clínicos; si bien esto no se ha confirmado en todos los trabajos. En un estudio no controlado que evalúa marcadores de inflamación de bajo grado (IL6 y PCRus), durante el primer año desde el inicio de DM tipo 1 no encuentra modificación en estos parámetros tras la mejoría del control glucémico obtenido en los primeros meses de seguimiento (Schölin A, *Diabetes Metab Res Rev*, 2004). Si la intensificación o mejoría del control metabólico tiene una repercusión directa sobre PCRus se desconoce. En este sentido, algunos trabajos que evalúan esta hipótesis no encuentran diferencias en marcadores de inflamación de bajo grado como PCRus tras intensificar el control glucémico (Heliövaara MK, *Exp Clin Endocrinol*, 2006).

Hasta la fecha no conocemos ningún estudio de intervención en DM tipo 1 en el que una mejoría del control glucémico se asocie con mejoras en el estado proinflamatorio medido por PCRus. El trabajo más interesante que evalúa esta hipótesis es la cohorte de seguimiento del DCCT. En un subanálisis de éste en el que se evaluó el efecto del control glucémico intensivo sobre marcadores de inflamación se constató un

incremento de los niveles de PCRus en aquellos pacientes del grupo tratamiento intensivo que ganaron más peso, mientras que en aquéllos cuya ganancia fue inferior se observó una reducción de PCRus (Schaumberg AD, *Circulation*, 2005). Estos datos se han confirmado en la cohorte de seguimiento del DCCT/EDIC: en el grupo tratamiento intensivo se objetivaron cifras más elevadas de PCRus que en el grupo tratamiento convencional, lo que se ha atribuido a una mayor ganancia ponderal en el primero (Jenkins AJ, *J Diabet Complications*, 2008). Existe una relación conocida entre los niveles de PCR y el peso corporal, ya que su principal estímulo de producción es la IL6 y, en condiciones basales, aproximadamente el 30 % de la IL6 se produce en el tejido adiposo (Ford ES, *Diabetes Care*, 1999). Por otro lado, diferentes estudios muestran una relación directa de PCRus con el desarrollo o el estado de insulinresistencia (Fernández-Real JM, *Endocr Rev*, 2003).

En el DCCT, la ganancia ponderal del grupo tratamiento intensivo y la elevación secundaria de las cifras de PCRus podría reflejar, si se mantiene en el tiempo y en conjunción con otros factores de riesgo, cambios metabólicos adversos atribuidos al tratamiento intensivo y que podrían condicionar un incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular. A pesar de todas estas consideraciones, está claramente demostrado que la mejoría del control glucémico obtenida en el grupo tratamiento intensivo se asoció con una reducción significativa de eventos cardiovasculares y las diferencias en los valores de HbA_{1c} entre el grupo tratamiento intensivo y convencional obtenidos durante el DCCT están involucradas en el beneficio cardiovascular obtenido en el grupo de tratamiento intensivo (Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group, *N Engl J Med*, 2005).

Aunque es evidente que la insulinresistencia que conlleva la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad asociada no permiten extrapolar los hallazgos en diabetes mellitus tipo 2 a la población de tipo 1, un estudio de intervención en diabetes mellitus tipo 2 comprobó que una mejora del control glucémico tras insulinización se acompañó de reducciones significativas en las cifras de PCRus, sin observarse estos cambios, a igual nivel de control glucémico, con el empleo sulfonilureas (Yudkin JS, *Diabetologia*, 2000).

En un contexto clínico totalmente diferente como es el del paciente crítico, el tratamiento insulínico intensivo también se ha asociado con reducciones significativas

de PCR (Hansen TK, J Clin Endocrinol Metab, 2003), habiéndose relacionado esto con un efecto directo de la insulina sobre el estado inflamatorio.

En nuestro estudio, no hubo modificaciones en los niveles de PCRus asociadas con la mejoría del control metabólico durante la terapia con ISCI. Por otro lado, la ausencia de ganancia ponderal del grupo TISCI ha permitido que los niveles de PCRus se mantengan estables tras la intervención. Si el grado de control glucémico en DM tipo 1 está relacionado con los niveles de marcadores de inflamación de bajo grado está aún por dilucidar. Hacen falta más estudios que evalúen la influencia del control metabólico sobre estos marcadores, principalmente PCRus, considerado marcador subrogado de aterosclerosis.

6.4.2- PCRus y variabilidad glucémica

En este estudio los niveles de PCRus no se asociaron con parámetros de variabilidad glucémica.

En estudios *in vitro* se ha demostrado que la exposición de cultivos celulares a concentraciones alternantes de glucemia frente a hiperglucemia mantenida es capaz de inducir la expresión en estas células de moléculas proinflamatorias y de adhesión (Picoli, J Thromb Haemost, 2004; Quagliaro L, Diabetes, 2003), así como la activación de vías de señalización intracelular involucradas en múltiples procesos celulares como proliferación, diferenciación, migración y apoptosis (Risso A, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001); todos los procesos implicados en la aterogénesis.

Los estudios experimentales en humanos también se ha reportado que la generación artificial de picos hiperglucémicos a través de clamp hiperglucémico o bloqueo de la secreción de insulina es capaz de activar la síntesis de moléculas de adhesión y citoquinas proinflamatorias (Gordin D, Ann Med, 2008; Stentz FB, Diabetes, 2004; Esposito K, Circulation, 2002; Marfella R, Circulation, 2000). Estos modelos experimentales en individuos sanos, al igual que sucede con la generación de EO, difieren sustancialmente de la variabilidad glucémica real de la diabetes tipo 1.

En nuestro conocimiento, no existen estudios clínicos que hayan establecido relación entre la variabilidad glucémica y los niveles de PCRus en diabetes mellitus tipo 1, por lo que la relación existente, si la hubiere, y su significado clínico tienen que ser estudiados en estudios diseñados para tal fin.

En nuestro estudio, utilizando una intervención que permite la corrección de la variabilidad glucémica no hemos encontrado un impacto positivo sobre el estado proinflamatorio. Son necesarios estudios más amplios para confirmar esta falta de impacto.

6.4.3-PCRus y complicaciones microvasculares

En nuestro trabajo, el análisis por subgrupos en función de la presencia o no de complicaciones microvasculares, reflejó niveles basales de PCRus similares en ambos grupos.

No está plenamente establecido el valor de los niveles de PCRus como predictor independiente de la aparición de complicaciones microvasculares en la diabetes mellitus tipo 1. En algunos trabajos, PCRus no mostró una asociación con el desarrollo posterior o la progresión de la nefropatía diabética (Lin J, *Diabetes Care*, 2008; Lopes-Virella MF, *Diabetes Care*, 2008; Wolkow PP, *J Am Soc Nephrol*, 2008). En estudios observacionales, los niveles de PCRus se hallaron más elevados en aquellos sujetos con complicaciones microvasculares respecto a los que no las presentaban (Devaraj S, *Diabetes*, 2007; Schram MT, *Diabetes Care*, 2003), y en estadios más avanzados de éstas respecto a las formas más precoces (Targher G, *Diabet Med*, 2005). En concreto, se ha descrito que en la nefropatía diabética en diabetes mellitus tipo 1 los parámetros de inflamación de bajo grado se han encontrado más elevados en el estadio de microalbuminuria persistente (Marcovecchio ML, *Diabetes Care*, 2008; Saraheimo M, *Diabetologia*, 2003; Schalwijk CG, *Diabetologia*, 1999) respecto a la situación de normoalbuminuria y más recientemente, se ha estudiado el valor de los niveles de PCRus en la predicción de la progresión de la nefropatía en un estudio prospectivo en diabetes mellitus tipo 1 (Hansen TK, *Diabetologia*, 2010). Estos datos no han sido confirmados en todas las publicaciones (Abd El-Maksoud AM, *Clin Biochem*, 2009; Jenkins AJ, *J Diabet Complications*, 2008).

Respecto a los resultados del presente estudio, el hecho de encontrar niveles similares de PCRus entre ambos grupos puede estar relacionado con el número de pacientes del grupos TISCI que presentaban algún tipo de complicación (n=8) y que por ser la muestra pequeña no permite alcanzar significación estadística. Analizando lo publicado en la literatura podríamos concluir que los niveles de PCRus podrían estar más elevados en aquellos diabéticos tipo 1 que presentan complicaciones microvasculares

aunque su papel como marcador predictor de éstas no está establecido, por ser un biomarcador que refleja una condición inflamatoria no específica.

6.4.4-PCRus y riesgo cardiovascular en DM tipo 1

Ninguno de los pacientes incluidos en el presente estudio presentaba enfermedad cardiovascular clínicamente manifiesta en el momento de su inclusión o la desarrolló durante el seguimiento, según los criterios de enfermedad cardiovascular establecidos.

En poblaciones con características similares a la nuestra, los niveles de PCRus se han correlacionado fuertemente con estadios precoces de aterosclerosis carotídea (Hayaishi-Okano R, *Diabetes Care*, 2002) y con la presencia de calcificación coronaria en varones (Colhoun HM, *Diabetes Care*, 2002). Sin embargo, en otras publicaciones más recientes PCRus no se asoció con el desarrollo de aterosclerosis medida mediante marcadores subrogados de ésta como es el espesor íntimo-medio carotídeo (Lopes-Virella MF, *Diabetes Care*, 2008).

La aplicación de la PCRus como herramienta para valorar el riesgo cardiovascular global requiere tener conocimientos sobre su distribución en la población, el contexto clínico de la evaluación de PCRus y la magnitud del riesgo de futuros eventos coronarios que se puede esperar en cada nivel de PCRus. En sujetos sanos, las concentraciones de PCRus son generalmente bajas, aumentando de 5 a 100 veces en enfermedades agudas. En los diferentes estudios poblacionales, la distribución por quintiles de hombres y mujeres es similar y en la práctica, los puntos de corte aproximados que se han sugerido para la estratificación de riesgo son: <0.5, 0.5-1, 1.0-2.0, 2.0-4.0, >4mg/L. Por cada quintil de incremento en PCRus el riesgo relativo ajustado de padecer un futuro evento cardiovascular se incrementa un 26 % en los hombres y un 33 % en las mujeres, ajustando por edad, hábito tabáquico, historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz, diabetes, hipertensión, hiperlipemia, nivel de ejercicio e índice de masa corporal, es decir, los determinantes mayores de riesgo evaluados en los algoritmos de predicción que se desarrollaron en el *Framingham Heart Study* (Ridker PM, *Circulation*, 2001). Se ha sugerido un abordaje alternativo más simple que identifica grupos de riesgo (bajo, moderado o alto) de acuerdo a los siguientes puntos de corte: < 1, de 1 a 3 y > 3 mg/L (Ridker PM, *Circulation*, 2003).

En nuestro estudio, la distribución por quintiles de PCRus del grupo TISCI pre- ISCI y post-ISCI no nos permite estratificar a este grupo en función del riesgo, ya que para ello es imprescindible el ajuste por otras variables.

No se conoce el valor como predictor de enfermedad cardiovascular que tiene PCRus en poblaciones de DM tipo 1. La no modificación de este parámetro ni de factores de riesgo cardiovascular (LDL colesterol, HDL colesterol o presión arterial) en el grupo TISCI a lo largo del seguimiento, teniendo en cuenta la caída de la HbA_{1c} observada, no nos permite extraer conclusiones sobre el potencial beneficio de esta terapia en términos de riesgo cardiovascular, más allá del impacto conocido que tiene la mejoría del control glucémico. Otro factor a tener en cuenta es que el diseño y la duración del estudio no permiten evaluar el efecto de esta terapia sobre el desarrollo o progresión de la enfermedad cardiovascular, pero sólo la caída observada de la HbA_{1c} si se mantuviese a largo plazo disminuiría, como es conocido, el riesgo de desarrollo y progresión de macro y microangiopatía.

Hay que considerar que el valor de PCRus como predictor de enfermedad coronaria en un meta-análisis publicado en 2004 (Danesh J, N Engl J Med, 2004) podría ser moderado por lo que es imprescindible considerarlo en el contexto de la evolución del control glucémico y de otros factores de riesgo cardiovascular. En una revisión sistemática y meta-análisis considerando la enfermedad cardiovascular desde una perspectiva general, se concluye que existe una evidencia fuerte que indica que PCR está asociada con el desarrollo de eventos cardiovasculares pero que la adición de PCR a los modelos de predicción clásicos de enfermedad cardiovascular mejora la estratificación del riesgo en personas de riesgo intermedio con una evidencia moderada. Por otro lado, no hay evidencia de que la reducción directa de PCR prevenga el desarrollo de eventos cardiovasculares (Buckley DI, Ann Intern Med, 2009).

No obstante, la combinación de la determinación de PCRus y HbA_{1c} se ha sugerido que podría aportar una información pronóstica y complementaria adicional sobre el riesgo cardiovascular, al menos en diabéticos tipo 2 de alto riesgo, teniendo un riesgo máximo aquellos situados en el cuartil superior de PCRus y HbA_{1c} (Schillinger M, Circulation, 2003).

El valor de los marcadores de inflamación de bajo grado como PCRus en la predicción de complicaciones macrovasculares no está bien establecido ni en el paciente diabético tipo 1 ni en el tipo 2, aunque el valor de PCRus sea diferente en cada uno de los dos tipos. Aunque PCR ha sido considerado como un posible biomarcador predictor del

riesgo vascular, los datos en diabetes mellitus tipo 1 son contradictorios y se necesitan más estudios que evalúen su capacidad predictora en esta población frente a otros biomarcadores potencialmente útiles.

6.4.5- PCRus y tratamiento farmacológico

En este estudio, doce sujetos del grupo TISCI recibían algún tipo de tratamiento farmacológico que, por si mismo, es capaz de disminuir o aumentar los niveles de PCRus (anticonceptivos orales, ácido acetilsalicílico 100 mg, IECA/ARAII y estatinas). Las estatinas han demostrado disminuir los niveles de PCRus también en poblaciones de diabetes mellitus tipo 1 (Jialal I, J Clin Endocrinol Metab, 2007). Los IECA han demostrado disminuir los niveles de PCRus, al menos en individuos con accidentes cerebrovasculares de la población general (Wilson AM, Int J Cardiol, 2006). El ácido acetilsalicílico en sujetos post-infarto agudo de miocardio reduce los niveles de PCRus, sin embargo la dosis de ácido acetilsalicílico de 81 mg/día utilizada en algunos estudios no tiene demostrados efectos antiinflamatorios sobre PCRus (Feldman M, J Am Coll Cardiol, 2001). Los anticonceptivos orales y la terapia hormonal sustitutiva incrementan los niveles de PCRus (Ridker PM, Circulation, 2000), Además de esto, el uso de contraceptivos hormonales o terapia hormonal sustitutiva se ha asociado a un incremento de los niveles de PCRus en las mujeres diabéticas y no diabéticas, sin encontrarse diferencias por la toma de ácido acetilsalicílico, hipolipemiantes o hipotensores en los niveles de PCRus (Colhoun HM, Diabetes Care, 2002).

Los niveles de PCRus pre-ISCI fueron similares en el grupo que recibía tratamiento farmacológico y el que no recibía tratamiento farmacológico. El hecho de que no se introdujeran estos fármacos en los 6 meses anteriores al comienzo del estudio ni hubiera modificación de la dosis a lo largo del seguimiento permite asumir que su influencia sobre los niveles basales de PCRus o su modificación a lo largo del estudio es irrelevante.

6.5- Relación entre hiperglucemia, EO e inflamación

En el presente estudio, los niveles de SOD y MDA se correlacionaron positivamente con PCRus en el grupo pre-ISCI y, a su vez, PCRus lo hizo con HbA_{1c}.

A nivel experimental, el mecanismo fisiopatológico propuesto que relaciona la hiperglucemia con la inflamación enlaza el EO como nexo entre ambas. En modelos experimentales de diabetes, se ha observado un aumento de la actividad NAD(P)H oxidasa en las capas media y adventicia, lo que conlleva un incremento de la expresión de moléculas proinflamatorias y de radicales libres. Esto parece estar también relacionado, al menos en parte, con la formación de AGE, consecuencia de la hiperglucemia y de la generación de anión superóxido. La interacción de AGE con su receptor (RAGE), que se distribuye en monocitos/macrófagos, tejido muscular y adiposo, a través de la activación de las vías intracelulares ERK 1/2 (*Extracellular Signal-regulated Kinase*) y JNK (*c-Jun NH₂-terminal Kinase*), sería la responsable de estimular de la producción de IL 6 por estos tejidos y secundariamente de PCR (Zhang L, *Circulation*, 2003).

En humanos, tantos en sujetos sanos como en diabéticos tipo 1, se ha corroborado en diferentes estudios experimentales el nexo de unión existente entre hiperglucemia, generación de EO e inflamación (Davi G, *Circulation*, 2003; Esposito K, *Circulation*, 2002).

Los hallazgos del presente estudio no permiten establecer una relación de causalidad entre estos parámetros ni orientar acerca de la relación entre hiperglucemia, generación de EO e inflamación. Como se conoce, la hiperglucemia parece ser inductora de la generación de EO y a la vez de citoquinas proinflamatorias, así como de otras moléculas involucradas en los procesos de daño micro y macrovascular. Una vez activados los mecanismos, los fenómenos inflamatorios y oxidativos se exacerbaban y autoperpetúan, existiendo mecanismos complejos que los ligan a nivel celular y que podrían explicar las relaciones aquí observadas.

CONCLUSIONES

7- CONCLUSIONES

1. Los diabéticos tipo 1 presentan una situación de mayor estrés oxidativo e inflamatorio respecto a la población sana.
2. La terapia con sistemas de infusión continua de insulina mejora significativamente el control glucémico (HbA_{1c}) y la variabilidad glucémica en diabéticos tipo 1 seleccionados sobre la base de las indicaciones aceptadas en nuestro entorno a los tres meses de iniciada la terapia.
3. La reducción de la HbA_{1c} obtenida con la terapia con sistemas de infusión continua de insulina no se asocia a un incremento de la tasa de hipoglucemias ni lleva asociada una ganancia de peso.
4. La mejoría del control glucémico obtenida con la terapia con bombas de insulina no se asocia directamente con modificaciones en parámetros inflamatorios o factores de riesgo cardiovascular clásicos.
5. Las modificaciones del control glucémico conseguida con los sistemas de infusión continua de insulina conlleva cambios en algunos parámetros de estrés oxidativo (ácido úrico y superóxido dismutasa).
6. Las estimaciones de la variabilidad glucémica proporcionadas por el sensor CGMS[®] no muestran asociación con un mayor grado de estrés oxidativo o inflamatorio en diabéticos tipo 1 de forma independiente del control glucémico global.
7. Conocer si la reducción de la variabilidad glucémica obtenida con esta terapia puede suponer un beneficio adicional a la mejoría conseguida en el control glucémico en términos de reducción de complicaciones micro o macrovasculares y los mecanismos por los cuales es potencialmente patógena requieren estudios de intervención con seguimiento a largo plazo.

BIBLIOGRAFÍA

8- BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Maksoud AM, El Hefnaway MH, Yahya SM, Seoudi DM, Abdel-Ghaffar AR, Eskander EF, et al. Clin Biochem. 2009; 42 (13-14): 1401-6.
- Acosta Delgado D. Indicaciones y selección de candidatos para ISCI. Av Diabetol. 2005; 21(1): 24-8.
- Aguilar Diosdado M, Amo Alfonso M, Lama Herrera C, Mayoral Sánchez E. II PLAN INTEGRAL DE DIABETES DE ANDALUCÍA (2009-2013). EDITA: Junta de Andalucía. Consejería de Salud.
- American Diabetes Association. Position Statement. Test of glycemia in diabetes. Diabetes Care. 2003; 26 Suppl 1: S106-8.
- American Diabetes Association. Position Statement: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2008; 31 Suppl 1: S55-60.
- American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2003; 26 Suppl 1: S5-20.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2010. Diabetes Care. 2010; 33 Suppl 1:S11-61.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2011. Diabetes Care. 2011; 34 Suppl 1; S11-64.
- American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations 2009. Diabetes Care. 2009; 32 Suppl 1: S3-S5.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2008. Diabetes Care. 2008; Suppl 1: S1-54.

- Ashwell SG, Amiel SA, Bilous RW, Dashora U, Heller SR, Hepburn DA, et al. Improved glycaemic control with insulin glargine plus insulin lispro: a multicentre, randomized, cross-over trial in people with type 1 diabetes. *Diabet Med.* 2006; 23(3): 285-92.
- Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet.* 2001; 358 (9277): 221-9.
- Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, İşimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem.* 2001; 34(1):65-70.
- Bailey TS, Zisser HC, Garg SK. Reduction in haemoglobin A1C with real-time continuous glucose monitoring: result from a 12-week observational study. *Diabetes Technol Ther.* 2007; 9 (3): 203-10.
- Baker JF, Krishnan E, Chen L, Schumacher HR. Serum uric acid and cardiovascular disease: recent developments, where do they leave us? *Am J Med.* 2005; 118 (8): 816-26.
- Barnard KD, Lloyd CE, Skinner TC. Systematic literature review: quality of life associated with insulin pump use in type 1 diabetes. *Diabet Med.* 2007; 24 (6): 607-17.
- Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes.* 1999; 48 (1): 1-9.
- Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation.* 2001; 103 (12): 1618-23.
- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996; 271 (5):C1424-37.
- Berg TJ, Nourooz-Zadeh J, Wolf SP, Tritschler HJ, Bangstad HJ, Anisen KF. Hydroperoxides in plasma are reduced by intensified insulin treatment. *Diabetes Care.* 1998; 21 (8): 1295-300.

- Bergensthal RM, Tamborlane WV, Ahmann A, Buse JB, Dailey G, Davis SN, et al. Effectiveness of sensor-augmented insulin pump therapy in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2010; 336(4): 311-20.
- Berry C, Hamilton CA, Brosnan MJ. Investigation into the sources of superoxide in human blood vessels: angiotensin II increases superoxide production in human internal mammary arteries. *Circulation.* 2000; 101 (18): 2206-12.
- Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism.* 2000; 49 (2): 3-8.
- Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res.* 2001; 89 (9): 763-71.
- Bloomgarden ZT. Type 1 diabetes and glucose monitoring. *Diabetes Care.* 2007; 30 (11): 2965-71.
- Bode BW, Schwart S, Stubbs HA, Block JE. Glycaemic characteristics in continuously monitored patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28(10): 2361-5.
- Boland E, Monsod T, Delucia M, Brandt CA, Fernando S, Tamobrolane WV. Limitations of conventional methods of self-monitoring of blood glucose: lessons learned from 3 days of continuous glucose sensing in pediatric patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2001; 24 (11): 1858-62.
- Boland EA, Grey M, Osterle A, Fredrickson L, Tamborlane W. Continuous subcutaneous insulin infusion. A new way to lower risk of severe hypoglycaemia, improve metabolic control and enhance coping in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 1999; 22 (11):1779-84.
- Bolinder J, Hagstrom-Toft E, Ungerstedt U, Arner P. Self-monitoring of blood glucose in type 1 diabetic patients: comparison with continuous microdialysis measurement of glucose in subcutaneous adipose tissue during ordinary life conditions. *Diabetes Care.* 1997; 20 (1): 64-70.
- Bolli GB, Capan F, Home PD, Kerr D, Thomas R, Torlone E, et al. Comparison of a multiple daily injection regimen with once daily insulin glargine basal insulin and

mealtime lispro, to continuous subcutaneous insulin infusion: a randomised, open, parallel study. *Diabetes*. 2004; 53: 107A.

- Bolli GB, Kerr D, Thomas R, Torlone E, Sola-Gazagnes A, Vitacolonna E et al. Comparison of a multiple daily insulin injection régime (basal once-daily glargine plus mealtime lispro) and continuous subcutaneous insulin infusion (lispro) in type 1 diabetes. A randomized open parallel multicenter study. *Diabetes Care*. 2009; 32 (7):1170-6.
- Bolli GB. The benefits of insulin analogues in intensive treatment of type 1 diabetes mellitus. *Av Diabetol*. 2007; 23 (5): 326-32.
- Boyne MS, Silver DM, Kaplan J, Saudek CD. Timing of changes in interstitial and venous blood glucose measured with a continuous subcutaneous glucose sensor. *Diabetes*. 2003; 52(11): 2790-4.
- Bradley C. Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire (DTSQ). En: Bradley C. (ed). *Handbook of psychology and diabetes*. New York, Taylor and Francis Group, 1994: 111-32.
- Bragd J, Admson U, Bäcklund LB, Lins PE, Moberg E, Oskarsson P. Can glycaemic variability, as calculated from glucose self-monitoring, predict the development of complications in type 1 diabetes over a decade? *Diabetes Metab*. 2008; 34 (6): 612-6.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001; 414 (6855): 813-20.
- Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications. *Diabetes*. 2005; 54 (6):1615-25.
- Bruttomesso D, Crazzolara D, Maran A, Costa S, Dal Pos M, Girelli A, et al. In type 1 diabetic patients with good glycaemic control, blood glucose variability is lower during continuous subcutaneous insulin infusion than during multiple daily injections with insulin glargine. *Diabet Med*. 2008; 25 (3): 326-32.

- Buckley DI, Fu R, Freeman M, Rogers K, Helfnad M. C- reactive protein as a risk factor for coronary heart disease: a systematic review and meta-analyses for de U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2009; 151 (7): 483-95.
- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidative stress. *Circ Res.* 2000; 87 (10): 840-4.
- Calles-Escandón J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: A clinical perspective. *Endocr Rev.* 2001; 22 (1): 36-52.
- Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Pieri C, Marra M, Tonutti L, et al. Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia. *Metabolism.* 1999; 48 (12):1503-8.
- Ceriello A, Dello Russo P, Amstad P, Cerutti P. High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. Evidence linking hyperglycemia and oxidative stress. *Diabetes.* 1996; 45 (4): 471-7.
- Ceriello A, Esposito K, Piconi L, Ihnat MA, Thorpe JE, Testa R, et al. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2008.57(5): 1349-54.
- Ceriello A, Falletti E, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Ezzol Z, et al. Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res.* 1998; 30 (3): 146-9.
- Ceriello A, Giacomello R, Stel G, Motz E, Taboga C, Tonutti L, et al. Hyperglycemia-induced thrombin formation in diabetes: the possible role of oxidative stress. *Diabetes.* 1995; 44 (8): 924-8.
- Ceriello A, Kumar S, Piconi L, Esposito K, Giogliano D. Simultaneous control of hyperglycemia and oxidative stress normalizes endothelial function in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2007; 30(3): 649-54.
- Ceriello A, Morocutti A, Mercuri F, Quagliaro L, Moro M, Damante G, et al. Defective intracellular antioxidant enzyme production in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes.* 2000; 49 (12):2170-7.

Bibliografia

- Ceriello A, Piconi L, Quagliaro L, Wang Y, Schanabel CA, Ruggles JA, et al. Effects of pramlintide on postprandial glucose excursions and measures of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2005; 28 (3): 632-7.
- Ceriello A, Quagliaro L, Catone B, Pascon R, Piazzola M, Bais B, et al. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care*. 2002; 25 (8): 1439-43.
- Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Giacomello R, Stel G, Motz E, et al. Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus: the effect of acarbose. *Diabetologia*. 1996; 39 (4): 469-73.
- Ceriello A. Oxidative stress and glycaemic regulation. *Metabolism*. 2000; 49 (2 Suppl 1): 27-9.
- Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes. Is it time to treat? *Diabetes*. 2005; 54 (1): 1-7.
- Ceriello A: New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a casual antioxidant therapy. *Diabetes Care*. 2003; 26 (5):1589-96.
- Chase HP, Kim LM, Owen SL, MacKenzie TA, Klingensmith GJ, Murtfeldt R, et al. Continuous glucose monitoring in children with type 1 diabetes. *Pediatrics*. 2001; 107 (2): 222-6.
- Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld E, Karasik A, Laakso M. The STPO-NIDDM Trial Research Group: Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. *JAMA*. 2003; 290 (4): 486-94.
- Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M. The STOP-NIDDM Trial Research Group: Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the The STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet*. 2002; 359 (9323): 2072-7.

- Chico A, Barrio R, Levy I, Martín Vaquero P, Ruiz de Adana M, Goñi MJ, et al. Situación actual del tratamiento con sistemas de infusión subcutánea de insulina (ISCI) en España. *Av Diabetol.* 2007; 23(4): 289-96.
- Chico A, Vidal-Ríos P, Subira M, Novials A. The Continuous Glucose monitoring system is useful for detecting unrecognized hypoglycaemia 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; 26 (4): 1153-7.
- Chico A. Optimización del tratamiento con ISCI mediante la monitorización continua de glucosa. *Av Diabetol.* 2005; 21(2): 129-34.
- Ciechanowski K, Kedzierska K, Gołembiewska E, Safranow K, Bober J, Domański L, et al. Impaired synthesis is not the reason for decreased activity of extracellular superoxide dismutase in patients with diabetes. *Arch Med Res.* 2005; 36(2):148-53.
- Clarke WL, Anderson S, Farhy L, Breton M, Gonder-Frederick LG, Cox D, et al. Evaluating the clinical accuracy of two continuous glucose sensor using continuous glucose-error grid analysis. *Diabetes Care.* 2005; 28 (10): 2412-7.
- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16: 31-41.
- Colhoun HM, Schalwijk C, Rubens MB, Stehouwer C.D.A. C-Reactive Protein in type 1 diabetes and its relationship to coronary artery calcification. *Diabetes Care.* 2002; 25(10): 1813-7.
- 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 (43): 1-171.
- Corbett JA, McDaniel ML. Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of β -cell? Possible therapeutic interventions in IDDM. *Diabetes.* 1992; 41 (8):897-903.
- Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS, Luscher TF. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 1997; 96 (7):25-8.

Bibliografia

- Cosson E, Hamo-Tchatchouang E, Dufaitre-Patouraux L, Attali JR, Paries J, Schaepeynck-Bélicar P. *Diabetes Metab.* 2009; 35(4):312-8.
- Costacou T, Zgibor JC, Evans RW, Tyurina YY, Kagan VE, Orchard TJ. Antioxidants and coronary artery disease among individuals with type 1 diabetes: Findings from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *J Diabet Complications.* 2006; 20 (6): 387-94.
- Craven PA, Melhem MF, Phillips SL, DeRubertis FR. Overexpression of Cu²⁺/Zn²⁺ superoxide dismutase protects against early diabetic glomerular injury in transgenic mice. *Diabetes.* 2001; 50 (9): 2114-25.
- Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med.* 1999; 131 (1): 7-13.
- Cummins E, Royle P, Snaith A, Greene A, Robestson L, McIntyre L, Waugh N. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of continuous subcutaneous insulin infusion for diabetes: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2010; 14 (11):1-207.
- Dalle-Done I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006; 52(4): 601-23.
- Danesh J, Phil D, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, et al. C-Reactive Protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2004; 350 (14): 1387-97.
- Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and meta-analyses. *Br Med J.* 2000; 321 (7255): 199-204.
- Darmaun D, Smith SD, Sweeten S, Sager BK, Welch S, Mauras N. Evidence of accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005; 54 (1): 190-6.

- Dave GS, Kalia K. Hyperglycemia induced oxidative stress in type-1 and type 2 diabetic patients with and without nephropathy. *Cell Mol Biol* 2007; 30:53(5):68-78.
- Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, et al. Enhances lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation*. 2003; 107 (25): 3199-203.
- Davi G, Ciabattini G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, et al. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin F2 α and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation*. 1999; 99 (2):224-9.
- Davi G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2005; 7(1): 256-68.
- Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 2007; 357 (24): 2482-94.
- Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in study of human disease. *Free Radic Biol Med*. 1999; 27 (11-12): 1151-61.
- De Mattia G, Bravi MC, Laurenti O, Moretti A, Cipriano R, Gatti A, et al. Endotelial dysfunction and oxidative stress in type 1 and type 2 patients without clinical macrovascular complications. *Diab Res Clin Prac*. 2008; 79 (2): 337-42.
- De Vegt, Dekker JM, Ruhe HG, Stehouwer CDA, Nijpels GBLM, Heine RJ. Hyperglycaemia is associated with all-cause and cardiovascular mortality in the Hoorn population. *Diabetologia*. 1999; 42 (8): 926-31.
- DECODE Study Group: Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE Study Group. European Diabetes Epidemiology Group: Collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe. *Lancet*. 1999; 354 (9179): 617-21.

- Deiss D, Bolindre J, Riveline JP, Bosi E, Tubiana-Rufi N, Kerr D. Improved glycemic control in poorly controlled patients with type 1 diabetes using real-time continuous glucose monitoring. *Diabetes Care*. 2006; 29 (12):2730-2.
- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovas Dis*. 2005; 15 (4):316-28.
- Derr R, Garret E, Stacy GA, Saudek CD. Is HbA1c affected by glycemic instability? *Diabetes Care*. 2003; 26(10): 2728-33.
- DeRubertis FR, Craven PA, Melhem MF, Salah EM. Attenuation of renal injury in db/db mice overexpressing superoxide dismutase: evidence for reduced superoxide-nitric oxide interaction. *Diabetes*. 2004; 53 (3): 762-8.
- Desco MC, Asensi M, Marquez R, Martinez-Valls J, Vento M, Pallardo FV, et al. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol. *Diabetes*. 2002; 51 (4): 1118-24.
- Devaraj S, Cheung AT, Jialal I, Griffen SC, Nguyen D, Glaser N, et al. Evidence of increased inflammation and microcirculatory abnormalities in patients with type 1 diabetes and their role in microvascular complications. *Diabetes*. 2007; 56 (11): 2790-6.
- DeVries JH, Snoek FJ, Kostense PJ, Masurel N, Heine RJ. A randomized trial of continuous subcutaneous insulin infusion and intensive injection therapy in type 1 diabetes for patients with long-standing poor glycemic control. *Diabetes Care*. 2002; 25 (11): 2074-80.
- DeWitt DE, Hirsch IB. Outpatient insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2003; 289 (17):2254-64.
- Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complication trial. *Diabetes*. 1995; 44 (8):968-83.

- Diabetes Control and Complications Trial Research Group: the effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993; 329(14): 977-86.
- Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. *N Engl J Med.* 2005; 353 (25): 2643-53.
- Domínguez C, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A. Oxidative stress at onset in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care.* 1998; 21(10): 1736-42.
- Donahue RP, Abbott RD, Reed DM, Yano K. Postchallenge glucose concentration and coronary heart disease in men of Japanese ancestry. Honolulu Heart Program. *Diabetes.* 1987; 36 (6): 689-92.
- Doyle EA, Weinzimer SA, Steffen AT, Ahern JA, Vincent M, Tamborlane WV. A randomized, prospective trial comparing the efficacy of continuous subcutaneous insulin infusion with multiple daily injections using insulin glargine. *Diabetes Care.* 2004; 27 (7):1554-8.
- Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med.* 2000; 32 (4): 274-8.
- Egi M, Bellomo R, Stachowski E, French CJ, Hart G. Variability of blood glucose concentration and short-term mortality in critically ill patients. *Anesthesiology.* 2006; 105 (2):244-52.
- Elgawish A, Glomb M, Friedlander M, Monnier VM. Involvement of hydrogen peroxide in collagen cross-linking by high glucose in vivo and in vitro. *J Biol Chem.* 1996; 271 (22):12964-71.
- Ellis SL, Bookout T, Garg SK, Izuora KE. Insulin therapy evolution and practice. Use of continuous glucose monitoring to improve diabetes mellitus management. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2007; 36 Suppl 2: 46-68.

- El-Osta A, Brasacchio D, Yao D, Poci A, Jones PL, Roeder RG, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med*. 2008; 205(10): 2409-17.
- Erbagci AB, Tarakcioglu M, Coskun Y, Sivasli E, Namiduru ES. Mediators of inflammation in children with type 1 diabetes mellitus: cytokines in type 1 diabetic children. *Clin Biochem*. 2001; 34 (8): 645-50.
- Esposito K, Giugliano D, Nappo F, Marfella R. Regression of carotid atherosclerosis by control of postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2004; 110 (2):214-9.
- Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans. Role of oxidative stress. *Circulation*. 2002; 106 (16): 2067-72.
- EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet*. 2000; 355 (9207): 873-6.
- Fatourehchi MM, Kudva YC, Murad MH, Elamin MB, Tabini CC, Montori VM. Hypoglycemia with intensive insulin therapy. A systematic review and meta-analysis of randomized trial of continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injection. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(3): 729-40.
- Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2008; 359 (17): 1811-21.
- Feldman EL. Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *J Clin Invest*. 2003; 111 (4): 431-3.
- Feldman M, Jialal I, Devaraj S, Cryer B. Effects of low-dose aspirin on serum C-reactive protein and thromboxane B2 concentrations: a placebo-controlled study using a highly sensitive C-reactive protein assay. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37 (8): 2036-41.
- Fernández-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*. 2003; 24(3): 278-301.

- Fichtlscher S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2000; 102 (9): 1000-6.
- Firoozrai M, Nourbakhsh M, Razzaghy-Azar M. Erythrocyte susceptibility to oxidative stress and antioxidant status in patients with type 1 diabetes. *Diab Res Clin Prac*. 2007; 77(3): 427-32.
- Flores L, Rodela S, Abian J, Clària J, Esmatjés E. F₂ isoprostane is already increased at the onset of type 1 diabetes mellitus: effect of glycemic control. *Metabolism*. 2004; 53 (9): 1118-20.
- Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2004; 27(10): 2540-53.
- Ford ES. Body mass index, diabetes and C-reactive protein among US adults. *Diabetes Care*. 1999; 22 (12): 1971-7.
- Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanism of action. *Am J Med*. 1994; 97: (3A) 5S-13S.
- Friedewald WT, Levi RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifugate. *Clin Chem*. 1972; 18 (6): 499-502.
- Giménez 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 (12): 1419-23.
- Giménez M, Lara M, Conget I. 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. *Diabetes Technol Ter*. 2010; 12(7):517-21.

- Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, et al. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. *Circulation*. 1997; 95 (7): 1783-90.
- Glass Ck, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell*. 2001; 104 (4): 503-16.
- Golembiewska E, Ciechanowski K, Safranow K, Kedzierska K, Kabat-Koperska J. Renal handling of uric acid in patients with type 1 diabetes in relation to glycemic control. *Arch Med Res*. 2005; 36 (1): 32-5.
- Golicki DT, Golicka D, Groele L, Pankowska E. Continuous glucose monitoring system in children with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 2008; 51(2): 233-40.
- Gordin D, Forsblom C, Ronnback M, Parkkonen M, Waden J, Hietala K, et al. Acute hyperglycaemia induces an inflammatory response in young people with type 1 diabetes. *Ann Med*. 2008; 40(8): 627-33.
- Gordin D, Rönnback M, Forsblom C, Heikkilä O, Saraheimo M, Groop PH. Acute hyperglycaemia rapidly increases arterial stiffness in young patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2007; 50 (9):1808-14.
- Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000; 86 (5): 494-501.
- Grupo de trabajo de Nuevas Tecnologías de la Sociedad Española de Diabetes. Biblioteca de la Sociedad Española de Diabetes. Tecnologías aplicadas a la diabetes. Edita: SED.
- Guerci B, Floriot M, Böhme P, Durain D, Benichou M, Jellimann S, et al. Clinical performance of CGMS in type 1 diabetic patients treated by continuous subcutaneous insulin infusion using insulin analogs. *Diabetes Care*. 2003; 26(3):582-9.
- Guigliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 1996; 19 (3): 257-67.

- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidant as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41 (12): 1819-28.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidant of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys Res.* 1990; 280 (1): 1-8.
- Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 2004; 142 (2): 231-55.
- Halliwell B. Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet.* 1994; 344 (8924): 721-4.
- Hammond P, Liebl A, Grunder S. International survey of insulin pump users: Impact of continuous subcutaneous insulin infusion therapy on glucose control and quality of life. *Prim Care Diabetes.* 2007; 1(3):143-6.
- Hanaire-Broutin H, Melki V, Bessieress-Lacombe S, Tauber JP. Comparison of continuous subcutaneous insulin infusion and multiple daily injection regimens using insulin lispro in type 1 diabetic patients on intensified treatment: a randomized study. *Diabetes Care.* 2000; 23 (9): 1232-5.
- Hanefeld M, Chiasson JL, Koehler C, Henkel E, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T. Acarbose slows progression of intima-media thickness of carotid arteries in subjects with impaired glucose tolerance. *Stroke.* 2004; 35 (5): 1073-8.
- Hanefeld M, Fisher S, Julios U, Schulze J, Schwanebeck U, Shmechel H, et al. Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia.* 1996; 39 (3): 1577-88.
- Hansen TK, Forsblom C, Saraheimo M, Thorn L, Wadén J, Høyem P, Ostergaard J, Flyvbjerg A, Groop PH. Association between mannose-binding lectin, high-sensitivity C-reactive protein and the progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2010; 53(7): 1517-24.

- Hansen TK, Thiel S, Wouters PJ, Christiansen JS, Van den Berghe G. Intensive insulin therapy exerts antiinflammatory effects in critically ill patients and counteracts the adverse effects of low mannose-binding lectin levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88 (3): 1082-8.
- Hansson GK Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352 (16): 1685-95.
- Harmel AP, Mathur R. Similar A1C outcomes in type 1 diabetic patients undergoing intensive diabetes management with preprandial rapid-acting insulin either CSII or glargine. *Diabetes Care.* 2004; 27 (1): 272-3.
- Hartnett EM, Stratton RD, Browne RW, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2000; 23(2): 234-40.
- Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Karakami N, Ohtoshi K, Gorogawa S, Kuroda A, et al. Elevated C-reactive protein associates with early-stage carotid atherosclerosis in young subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25 (8): 1432-8.
- Heinemann L. Glucose monitoring in clinical diabetes: reality and promises. *Av Diabetol.* 2005; 21 (1): 15-20.
- Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1990; 265 (3): 621-36.
- Heliövaara MK, Teppo A, Karonen S, Tuominen J, Ebeling P. Improved glycaemia in type 1 diabetes results in decreased levels of soluble adhesion molecules with no change in serum adiponectin or most acute phase proteins. *Exp Clin Endocrinol.* 2006; 144(6): 295-300.
- Hermansen K, Fontaine P, Kukolja KK, Peterkova V, Leth G, Gall MA. Insulin analogues (insulin detemir and insulin aspart) versus traditional human insulins (NPH insulin and regular human insulin) in basal-bolus therapy for patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2004; 47(4): 622-9.

- Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.* 2001; 57 (2): 43-56.
- Hill NR, Hindmarsh PC, Stevens RJ, Stratton IM, Levy JC, Matthews DR. A method for assessing quality of control from glucose profiles. *Diabet Med.* 2007; 24 (7): 753-8.
- Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanism underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res.* 2001; 88 (2): 14-22.
- Hirsch IB, Abelson J, Bode BW, Fischer JS, Kaufman FR, Mastroianni J, et al. Sensor- Augmented insulin pump therapy: results of the first randomized treat-to-target study. *Diabetes Technol Ther.* 2008; 10 (5): 377-83.
- Hirsch IB, Armstrong D, Bergenstal RM, Buckingham B, Childs BP, Clarke WL. Clinical application of emerging sensor technologies in diabetes management: consensus guidelines for continuous glucose monitoring (CGM). *Diabetes Technol Ther.* 2008; 10(4): 232-44.
- Hirsch IB, Bode BW, Garg S, Lane WS, Sussman A, Hu P, et al. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) of insulin aspart versus multiple daily injection of insulin aspart/insulin glargine in type 1 diabetic patients previously treated with CSII. *Diabetes Care.* 2005; 28 (3): 533-8.
- Hirsch IB, Brownlee M. Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycaemic control? *J Diabetes Complications.* 2005; 19 (3): 178-81.
- Hirsch IB. Glycemic Variability: It's not just about A1C Anymore! *Diabetes Technol Ther.* 2005; 7 (5): 780-3.
- Hoeldtke RD, Bryner KD, McNeill DR, Hobbs GR, Riggs JE, Warehime SS, et al. Nitrosative stress, uric acid, and peripheral nerve function in early type 1 diabetes. *Diabetes.* 2002; 51 (9): 2817-25.
- Hoeldtke RD, Bryner KD, McNeill DR, Warehime SS, Van Dyke, Hobbs G. Oxidative stress and insulin requirements in patients with recent-onset type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88 (4): 1624-8.

- Home PD, Lindholm A, Hylleberg B, Round P for the UK insulin aspart study group. Improved glycaemic control with insulin aspart: a multicenter randomized double-blind crossover trial in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1998; 21 (3): 1904-9.
- 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: result of the 5-nations trial. *Diabet Med*. 2006; 23 (2): 141-7.
- Horváth EM, Benko R, Kiss L, Murányi M, Pék T, Fekete K, et al. Rapid “glycaemic swing” induce nitrosative stress, activate poly (ADP-ribose) polymerase and impair endothelial function in a rat model of diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2009; 52 (5): 952-61.
- Hovind P, Rossing P, Tarnow L, Johnson RJ, Parving HH. Serum Uric Acid as a Predictor for Development of Diabetic Nephropathy in Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2009;58 (7):1668-71.
- Ingersoll GM, Marrero DG. A modified quality-of-life measure for youth: psychometric properties. *Diabetes Educator*. 1991; 17:114-20.
- Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. 2000; 49 (11): 1939-45.
- ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2009. *Pediatric Diabetes*. 2009; 10 (Suppl 12): S1-210.
- Jacobson A, Barofsky I, Cleary R, Rand I. Reliability and validity of a diabetes quality of life measure for the diabetes control and complications trial (DCCT). *Diabetes Care*. 1988; 11 (6):725-32.

- Jager A, Van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Yudkin JS, Nijpels G, et al. Von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19 (12): 3071-8.
- Jain SK, McVie R, Smith T. Vitamin E supplementation restores glutathione and malonaldehyde to normal concentration in erythrocytes of type 1 diabetic children. *Diabetes Care.* 2000; 23 (9): 1389-94.
- Jeitler K, Horvath K, Beghold A, Gratzner TW, Neeser K, Pieber TR, et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily insulin injections in patients with diabetes mellitus: systematic reviews and meta-analysis. *Diabetologia.* 2008; 51 (6): 941-51.
- Jenkins AJ, Rothen M, Klein RL, Moller K, Eldridge L, Zheng D, et al. Cross-sectional associations of C-reactive protein with vascular risk factors and vascular complications in the DCCT/EDIC. *J Diabetes Complications.* 2008; 22 (3): 153-63.
- Jialal I, Miguelino E, Griffen SC, Devaraj S. Concomitant reduction of low-density lipoprotein-cholesterol and biomarkers of inflammation with low-dose simvastatin therapy in patients with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92 (8): 3136-40.
- Jones SC, Saunders HJ, Qi W, Pollock CA. Intermittent high glucose enhances cell growth and collagen synthesis in cultured human tubulointerstitial cells. *Diabetologia.* 1999; 42 (9): 1113-9.
- Kaufman FR, Austin J, Neinstein A, Jeng L, Halvorson M, Devoe DJ, et al. Nocturnal hypoglycemia detected with the Continuous Glucose Monitoring System in pediatric patients with type 1 diabetes. *J Pediatr.* 2002; 141 (5): 625-30.

- Kaufman FR, Gibson LC, Halvorson M, Carpenter S, Fisher LK, Pitukcheewanont PA. A pilot study of the continuous glucose monitoring system: clinical decision and glycaemic control after its use in pediatric type 1 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2001; 24 (12): 2030-4.
- Kawano H, Motoyama T, Hirashima O et al. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34 (1):146-54.
- Kessler L, Passedmard R, Oberholzer J, Benhamou PY, Bucher P, Toso C et al, on behalf of the GRACIL group. Reduction of blood glucose variability in Type 1 diabetic patients treated by pancreatic islet transplantation. *Diabetes Care*. 2002; 25 (12): 2256-62.
- Kikkawa Y, Kuwabara S, Misawa S, Tamura N, Kitano Y, Ogawara K, Hattori T. The acute effects of glycemic control on nerve conduction in human diabetics. *Clin Neurophysiol*. 2005; 116 (2): 270-4.
- Kilpatrick ES, Keevil BG, Jagger C, Spooner RJ, Small M. Determinants of raised C-reactive protein concentration in type 1 diabetes. *QJM*. 2000; 93 (4): 231-6.
- Kilpatrick ES, Rugby AS, Atkin SL. A1c variability and the risk of microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2008; 31 (11): 2198-202.
- Kilpatrick ES, Rugby AS, Atkin SL. The effect of glucose variability on the risk of microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2006; 29 (7): 1486-90.
- King DA, Mainous AG, Buchanan TA, Pearson WS. C- Reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2003; 26(5): 1535-9.
- Kitzmiller JL, Block JM, Catalano PM, Conway DL, Constan DR, Gunderson EP, et al. Managing preexisting diabetes for pregnancy. *Diabetes Care*. 2008; 31(5): 1060-79.
- Klonoff DC. Continuous glucose monitoring. Roadmap for 21 st century diabetes therapy. *Diabetes Care*. 2005; 28 (5): 1231-9.

- Knight G, Jennings AM, Boulton AJM, Tomlinson S, Ward JD. Severe hyperglycaemia and ketoacidosis during routine treatment with and insulin pump. *Br Med J*. 1985; 291 (6429): 371-2.
- Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*. 1999; 99 (2): 237-42.
- Kovatchev BP, Otto E, Cox D, Gonder-Frederick LG, Clarke W. Evaluation of a new measure of blood glucose variability in diabetes. *Diabetes Care*. 2006; 29 (11): 2433-8.
- Krinsley JS. Glycemic variability: a strong independent predictor of mortality in critical ill patients. *Crit Care Med*. 2008; 36 (11):3008-13.
- Kristiansen OP, Mandrup TP. Interleukin 6 and diabetes. The good, the bad, or the indifferent? *Diabetes*. 2005; 54 Suppl 2: S114-24.
- Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol*. 1996; 144 (6): 537-47.
- Lachin JM, Genuth S, Nathan DM, Zinman B, Rutledge BN for the DCCT/EDIC Research Group. Effect of glycemic exposure on the risk of microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trials-Revisited. *Diabetes*. 2008; 57 (4): 995-1001.
- Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*. 2003; 46 (6): 760-5.
- Landmesser U, Dikalov S, Price SR. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in hypertension: role of NAD(P) oxidase. *J Clin Invest*. 2003; 111 (8): 1201-9.

- Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function. A critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*. 2004; 109 (21 Suppl 1): 27-33.
- Lechleitner M, Koch T, Herold M, Dzien A, Hoppichler F. Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. *J Intern Med*. 2000; 248 (1): 67-76.
- Lehto S, Niskanen L, Rönnemaa T, Laakso M. Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Stroke*. 1998; 29 (3): 635-9.
- Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M. Poor glycaemic control predicts coronary heart disease events in patients with type 1 diabetes without nephropathy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19 (4): 1014-9.
- Lepore G, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Both continuous subcutaneous insulin infusion and a multiple daily insulin injection regimen with glargine as basal insulin are equally better than traditional multiple daily insulin injection treatment. *Diabetes Care*. 2003; 26 (4): 1321-2.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation in atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105 (9): 1035-43.
- Libby P. Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis and stabilization. *Am J Cardiol*. 2000; 86 (8B): 3J-8J.
- Liese AD, Hense HW, Lowel H, Doring A, Tiezte M, Keil U. Association of serum uric acid with all-cause and cardiovascular disease mortality and incident myocardial infarction in the MONICA Augsburg cohort. *Epidemiology*. 1999; 10 (4): 391-7.
- Lin J, Glynn RJ, Rifai N, Manson JE, Ridker PM, Nathan DM, et al. Inflammation and progressive nephropathy in type 1 diabetes mellitus in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2008; 31 (12): 2338-43.

- Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Marker of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Framing during instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med.* 2000; 343 (16): 1139-47.
- 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.
- Lock DR, Rigg LA. Hypoglycemic coma associated with subcutaneous insulin infusion by portable pump. *Diabetes Care.* 1981; 4 (3): 389-91.
- Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, Pogue J, Yi Q, Zinman B, Bosch J, Dagenais G, Mann JF, Gerstein HC; HOPE Study; MICRO-HOPE Study. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high-risk patients with diabetes: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Diabetes Care.* 2002; 25 (11): 1919-27.
- Lopes-Virella MF, Carter RE, Gilbert GE, Klein RL, Jaffa M, Jenkins AJ, et al. Risk factors related to inflammation and endothelial dysfunction in the DCCT/EDIC cohort and their relationship with nephropathy and macrovascular complications. *Diabetes Care.* 2008; 31 (10): 2006-12.
- López Siguero JP, Martínez Aedo MJ, Moreno Molina JA, Lora Espinosa A, Martínez Valverde A. Evolución de la incidencia de diabetes mellitus tipo 1 en niños de 0 a 14 años en Málaga (1982-1993). *An Esp Ped* 1997; 47: 17-22.
- Lu D, Maulik N, Moraru II, Kreutzer DL, Das DK. Molecular adaptation of vascular endothelial cells to oxidative stress. *Am J Physiol.* 1993; 264 (3): C715-22.
- Ludvigsson J, Hanas R. Continuous subcutaneous glucose monitoring improved metabolic control in pediatric patients with type 1 diabetes: a controlled crossover study. *Pediatrics.* 2003; 111 (5): 933-8.

- Marcovecchio ML, Giannini C, Widmer B, Dalton RN, Martinotti S, Chiarelli F, Dunger DB. C- reactive protein in relation to the development of microalbuminuria in type 1 diabetes: the Oxford Regional Prospective Study. *Diabetes Care*. 2008; 31 (5): 974-6.
- Marfella R, Esposito K, Giunta R, Coppola G, De Angelis L, Farzati B, et al. Circulating adhesion molecules in humans: role of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Circulation*. 2000; 101 (19): 2247-51.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Tox*. 2003; 17 (1): 24-38.
- Marra G, Cotroneo P, Pitocco D, Manto A, Di Leo MAS, Ruotolo V, et al. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2002; 25 (2): 370-5.
- Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinye M, Domínguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med*. 2003; 34 (12): 1563-74.
- Maxwell SRJ, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GHG, et al. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*. 1997; 27 (6): 484-90.
- McCarter RJ, Hempe JM, Chalew SA. Mean blood glucose and biological variations have greater influence on HbA1c levels than glucosa instability. *Diabetes Care*. 2006. 29 (2): 352-5.
- McDonnell CM, Donath SM, Vidmar SI, Werther GA, Cameron FJ. A novel approach to continuous glucose analysis utilizing glycemic variation. *Diabetes Technol Ther*. 2005; 7 (2): 253-63.
- McMahon SK, Airey FL, Marangou DA, McElwee KJ, Carne CL, Clarey AJ, et al. Insulin pump therapy in children and adolescents: improvements in key parameters of diabetes management including quality of life. *Diabet Med*. 2005; 22 (1): 92-6.

- Mecklenburg RS, Benson EA, Benson JW, Fredlund PN, Guinn T, Metz RJ, et al. Acute complications associated with insulin pump therapy: report of experience with 161 patients. *JAMA*. 1984; 252 (23): 3265-9.
- Meigs JB, Nathan DM, Agostino RB, Wilson PWF. Fasting and post-challenge glycemia and cardiovascular disease risk: the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care*. 2002; 25 (10): 1845-50.
- Melki V, Ayon F, Fernandez M, Hanaire-Broutin H. Value and limitations of the Continuous Glucose Monitoring System in the management of type 1 diabetes. *Diabetes Metab*. 2006; 32 (2): 123-9.
- Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, et al. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factor and coronary heart disease. *Heart*. 1997; 78 (3): 273-7.
- Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factor: a population based cross sectional study. *Br Med J*. 1996; 312 (7038): 1061-5.
- Mendall MA, Strachan DP, Butland BK, Ballam L, Morris J, Sweetnam PM, et al. C-reactive protein: relation to the total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. *Eur Heart*. 2000; 21 (19): 1584-90.
- Metzger M, Leibowitz G, Wainstein J, Glaser B, Raz I. Reproducibility of glucose measurements using the glucose sensor. *Diabetes Care*. 2002; 25 (7):1185-91.
- Misso ML, Egberts KJ, Page M, O'Connor D, Shaw J. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) versus multiple insulin injections for type 1 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010; 20 (1):CD005103.
- Mohanty P, Hamouda W, Garg R, Aljada A, Ghanim H, Dandona P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85 (8): 2970-3.

- Mohsin F, Craig ME, Cusumano J, Chan AKF, Hing S, Lee JW, et al. Discordant trends in microvascular complications in adolescents with type 1 diabetes from 1990 to 2002. *Diabetes Care*. 2005; 28 (8): 1974-80.
- Molnar GD, Taylor WF, Ho MM. Day-to-day variation of continuously monitored glycaemia: a further measure of diabetic instability. *Diabetologia*. 1972; 8 (5):342-8.
- Monami M, Lamanna C, Marchionni N, Mannucci E. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily insulin injections in type 1 diabetes: a meta-analysis. *Acta Diabetol*. 2010; 47: 77-84.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43 (2): 109-42.
- Monnier L, Colette C, Mas E, Michel F, Cristol JP, Boegner C, et al. Regulation of oxidative stress by glycaemic control: evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. *Diabetologia*. 2010; 53 (3): 562-71.
- Monnier L, Colette C, Owens DR. Glycemic Variability: The Third Component of the Dysglycemia in Diabetes. Is it Important? How to Measure It? *J Diabetes Sci Technol*. 2008; 2(6): 1094-100.
- Monnier L, Colette C. Glycemic variability. *Diabetes Care*. 2008; 31 Suppl 2: S150-4.
- Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol JP, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. 2006; 295 (14): 1681-7.
- Monsod TP, Flanagan DE, Rife F et al. Do sensor glucose levels accurately predict plasma glucose concentrations during hypoglycemia and hyperinsulinemia? *Diabetes Care*. 2002; 25 (5): 889-93.
- Mooradian AD, Bernbaum M, Albert SG. Narrative Review: A Rational Approach to Starting Insulin Therapy. *Ann Intern Med*. 2006; 145 (2): 125-34.

- Morrow D, Rifai N, Antman E. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently and in combination with troponin T in acute coronary syndroms. *J Am Coll Cardiol.* 1998; 31 (7): 1460-5.
- Murphy HR, Rayman G, Lewis K, Kelly S, Johal B, Duffield K, et al. Effectiveness of continuous glucose monitoring in pregnant women with diabetes: randomised clinical trial. *Br Med J.* 2008; 337: 1-8.
- Murphy NP, Keane SM, Ong KK, Ford-Adams M, Edge JA, Acerini CL, et al. Randomized cross-over trial of insulin glargine plus lispro or NPH insulin plus regular human insulin in adolescents with type 1 diabetes on intensive insulin regimens. *Diabetes Care.* 2003; 26 (3): 799-804.
- Nacional Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of continuous subcutaneous insulin infusión for diabetes; 2003 Feb. Technology Appraisal Guidance No. 57.
- Nacional Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of continuous subcutaneous insulin infusión for diabetes; 2008 Jul. Review of Technology Appraisal Guidance 57. Technology Appraisal Guidance No. 151.
- Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G, et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39 (7): 1145-50.
- Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell.* 1994; 78 (6): 915-8.
- Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zhen H, Schoenfeld D, Heine RJ for the A1c-Derived Average Glucose Study Group. Translating the A1c assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care.* 2008; 31 (8): 1473-8.
- Newman SP, Cooke D, Casbard A, Walker S, Meredith S, Nunn A, et al. A randomized controlled trial to compare minimally invasive glucose monitoring devices with conventional monitoring in the management of insulin-treated diabetes mellitus (MITRE). *Health Technol Assess.* 2009; 13 (28): 1-194.

- Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem.* 2003; 278 (3): 31426-33.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000; 404 (6779): 787-90.
- Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, et al. Relationship between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia.* 1997; 40 (6): 647-53.
- O'Connell MA, Donath S, O'Neal DN, Colman PG, Ambler GR, Jones TW et al. Glycaemic impact of patient-led use of sensor-guided pump therapy in type 1 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetologia.* 2009; 52 (7): 1250-7.
- Palinski W, Ord VA, Plump AS, Breslow JL, Steinberg D, Witztum JL. Apo-E-deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-specific epitopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14 (4): 605-16.
- Pascual de la Pisa B, Hernández Torres E, Lacampa Arechavaleta P, Moya Garrido MN. Efectividad de los nuevos análogos de insulina. Revisión sistemática de la literatura y evaluación económica. Informes, estudios e investigación 2008. Edita: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander W, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for Healthcare professionals from the center for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003; 107 (4): 499-511.
- Penebad CR, Conde IB, Marqui CP. Total free radical- trapping capacity of serum from diabetics. *Clin Chem.* 1994; 40 (11): 2116-7.

- Picardi A, Valorani MG, Vespasiani Gentilucci U, Manfrini S, Ciofini O, Cappa M, et al. Raised C-reactive protein levels in patients with recent onset type 1 diabetes. *Diabet Metab Res Rev.* 2007; 23 (3): 211-4.
- Pickup JC, 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 (3): 593-8.
- Pickup JC, Kidd J, Burmiston S, Yemane N. Determinants of glycaemic control in type 1 diabetes during intensified therapy with multiple daily insulin injections or continuous subcutaneous insulin infusion: importance of blood glucose variability. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006; 22 (3): 232-7.
- Pickup JC, 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 trial. *Br Med J.* 2002; 324 (7339): 1-6.
- Pickup JC, Renard E. Long-Acting insulin analogs versus insulin pump therapy for the treatment of type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2008; 31 Suppl 2: S140-5.
- Pickup JC, Sutton J. 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 (7): 765-74.
- Pickup JC. Are insulin pumps underutilized in type 1 diabetes? Yes. *Diabetes Care.* 2006; 29(6):1449-52.
- Picoli L, Quagliaro L, Da Ros R, Assaloni R, Giugliano D, Esposito K, et al. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1, E-selectin and interleukin-6 expression in human umbilical endothelial cells in culture: The role of poly (ADP-ribose) polymerase. *J Thromb Haemost.* 2004; 2 (8): 1453-9.
- Piconi L, Quagliaro L, Assaloni R et al. Constant and intermittent high glucose enhances endothelial cell apoptosis through mitochondrial superoxide overproduction. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006; 22 (3): 198-203.

- Pitocco D, Di Stasio E, Romitelli F, Zaccardi F, Tavazzi B, Manto A, et al. Hypouricemia linked to an overproduction of nitric oxide is an early marker of oxidative stress in female subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008; 24 (4): 318-23.
- Porcellati F, Rossetti P, Pampanelli S, Fanelli CG, Torlone E, Scionti L, et al. Better long-term glycaemic control with the basal insulin glargine as compared with NPH in patients with type 1 diabetes mellitus given meal-time lispro insulin. *Diabet Med.* 2004; 21 (11): 1213-20.
- Porcetalli F, Rossetti P, Busciatnella Ricci N, Pampanelli S, Torlone E, Hernández Campos S, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the long-acting insulin analog glargine after 1 week of use compared with its first administration in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2007; 30 (5): 1261-3.
- Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Zoudar E, et al. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production. *Atherosclerosis.* 2005; 183 (2): 259-67.
- Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Marinelli L, Motz E, Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: The role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. *Diabetes.* 2003; 52 (11): 2795-804.
- Raccach D, Sulmont V, Reznik Y, Guerci B, Renard E, Hanaire H, et al. Incremental value of continuous glucose monitoring when starting pump therapy in patients with poorly controlled type 1 diabetes: a RealTrend study. *Diabetes Care.* 2009; 32 (12): 2245-50.
- Raskin IB, Klaff L, Bergenstal R, Halle JP, Donley D, Mecca T. A 16-week comparison of the novel insulin analog insulin glargine (HOE 901) and NPH human insulin used with insulin lispro in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2000; 23 (11): 1666-71.

- Raz I, Wilson PW, Strojek K, Kowalska I, Bozikov V, Gitt AK, et al. Effects of prandial vs. fasting glycemia on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: the HEART-2D trial. *Diabetes Care*. 2009; 32 (3): 381-6.
- Reddi AS, Bollineni JS. Renal cortical expression of RNAs for antioxidant enzymes in normal and diabetic rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 235 (5): 598-601.
- 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; 27 (11): 2590-6.
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000; 342 (12): 836-43.
- Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring J, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002; 347 (20): 1557-65.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000; 101 (15): 1767-72.
- Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2001; 285 (19): 2481-5.
- Ridker PM. Clinical application of C-Reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107 (3): 363-9.
- Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potencial adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001; 103 (13): 1813-8.

- Risso A, Mercuri F, Quagliaro L, Damante G, Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis in human vein endothelial cells in culture. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 281 (5): E924-30.
- Rodbard D. Interpretation of continuous glucose monitoring data: glycemic variability and quality of glycemic control. *Diabetes Technol Ther.* 2009; 11 Suppl 1: S55-67.
- Rodrigues IA, Reid HA, Ismail K, Amiel A. 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 (7): 842-9.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c: analysis of glucose profile and HbA1c in the Diabetes Control and Complications Trials. *Diabetes Care.* 2002; 25(2): 275-8.
- Rojas A, Figueroa H, Re L, Morales MA. Oxidative stress at the vascular wall: Mechanistic and pharmacological aspects. *Arch Med Res.* 2006; 37 (4): 436-48.
- Rosolowsky ET, Ficociello LH, Maselli NJ, Niewczas MA, Binns AL, Roshan B, et al. High-normal serum uric acid is associated with impaired glomerular filtration rate in nonproteinuric patients with type 1 diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3 (3): 706-13.
- Ross R. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N Engl Med.* 1999; 340 (2): 115-26.
- Ruiz de Adana M, Domínguez-López M, Tapia MJ, de la Higuera M, González S, Soriguer F. ¿Cómo cuantificar la variabilidad glucémica? *Av Diabetol.* 2008; 24 (1): 77-81.
- Ruiz de Adana M, Rigla M, Vidal P. Consenso sobre el uso de la monitorización continua de glucosa. Documento de posicionamiento. *Av Diabetol.* 2009; 27: 1-3.
- Russell-Jones D, Simpson R, Hylleberg B, Draeger E, Bolinder J. Effects of QD insulin detemir or neutral protamine Hagedorn on blood glucose control in patients with type 1 diabetes mellitus using a basal-bolus regimen. *Clin Ther.* 2004; 26 (5): 724-36.

- Ryan EA, Shandro T, Green K, Paty BW, Señor PA, Bigam D, et al. Assessment of the severity of hypoglycaemia and glycaemic lability in type 1 diabetic subjects undergoing islet transplantation. *Diabetes*. 2004; 53 (4): 955-62.
- Sachedina N, Pickup JC. Performance assessment of the Medtronic-Minimed Continuous Glucose Monitoring System and its use for measurement of glycaemic control in type 1 diabetic subjects. *Diabet Med*. 2003; 20 (12): 1012-5.
- Salardi S, Zucchini S, Santoni R, Rangi L, Gualandi S, Cicognani A, et al. The glucose area under the profiles obtained with continuous glucose monitoring system relationships with HbA1c in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2002; 25 (10): 1840-4.
- Santini S, Marra G, Giardina B, Cotroneo P, Mordente A, Martorana G, et al. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*. 1997; 46 (11): 1853-8.
- Saraheimo M, Teppo AM, Forsblom C, Fagerudd J, Groop PH. Diabetic nephropathy is associated with low-grade inflammation in type 1 diabetic patient. *Diabetologia*. 2003; 46 (10): 1402-7.
- Schalkwijk CG, Poland DC, Van Dijk W, Kok A, Emeis JJ, Drager AM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type 1 diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia*. 1999; 42 (3): 351-7.
- Schaumber DA, Glynn RJ, Jenkins AJ, Lyons TJ, Rifai N, Manson JA, et al. Effect of intensive glycemic control on level of markers of inflammation in type 1 diabetes mellitus in the Diabetes Control and Complications Trial. *Circulation*. 2005; 111 (19): 2446-53.
- Schillinger M, Exner M, Amighi J, Mlekusch W, Sabeti S, and Rumpold H, et al. Joint effects of C- reactive protein and glycated hemoglobin in predicting future cardiovascular events of patients with advanced atherosclerosis. *Circulation*. 2003; 108 (19): 2323-8.

- Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res.* 1999; 84 (5): 489-97.
- Schölin A, Siegbahn A, Lind L, Berne C, Sundkvist G, Björk E, et al. CRP and IL-6 concentrations are associated with poor glycemic control despite preserved β -cell function during the first year after diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2004; 20 (3): 205-10.
- Scholz RW, Reddy PV, Wynn MK, Graham KS, Liken AD, Gumprich E, et al. Glutathione-dependent factors and inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 1997; 23 (5): 815-28.
- Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Fuller JH, Stehouwer CDA. Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia.* 2005; 48 (2): 370-8.
- Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Giorgino F, Ebeling P, Fuller JH, et al. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26 (7): 2165-73.
- Sechi L, Ceriello A, Griffin CA, Catena C, Amstad P, Schambelan M, et al. Renal antioxidant enzyme mRNA levels are increased in rats with experimental diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1997; 40 (1): 23-9.
- Seckin D, Ilhan N, Ilhan N, Ertugrul S. Glycaemic control, markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Diab Res Clin Prac.* 2006; 73 (2): 191-7.
- Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW, Ackerman E, Gatewood LC, Taylor WF. Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes.* 1970; 19 (9): 644-55.

- Service FJ, O'Brien PC. The relation of glycaemia to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetic Control and Complications Trial. *Diabetologia*. 2001; 44 (10): 1215-20.
- Shalitin S, Gil M, Nimri R, de Vries L, Gavan MY, Phillip M. Predictors of glycaemic control in patients with type 1 diabetes commencing continuous subcutaneous insulin infusion therapy. *Diabet Med*. 2010; 27 (3): 229-47.
- Shamir R, Kassis H, Kaplan M, Naveh T, Shehadeh N. Glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus improves lipid serum levels and oxidative stress. *Pediatr Diabetes*. 2008; 9 (2): 104-9.
- Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. High glucose induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes*. 2003; 52 (5): 1256-64.
- Shaepelynck-Bélicar P, Vague Ph, Simonin G, Lassmann-Vague V. Improved metabolic control in diabetic adolescents using the continuous glucose monitoring system (CGMS). *Diabetes Metab*. 2003; 29: 608-12.
- Shiaffini 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; 18 (4): 324-9.
- Shichiri M, Kishikawa H, Ohkubo Y, Wake N. Long-term results of the Kumamoto Study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2000; 23; Suppl 2: B21-9.
- Shlichtkrull J, Munck O, Jersild M. The M-value, an index for blood-sugar control in diabetics. *Acta Med Scand*. 1965; 177: 95-102.
- Siegelaar SE, Barwari T, Kulik W, Hoeskstra JB, DeVries JH. No relationship between glucose variability and oxidative stress in type 2 diabetes patients. Program of the 45th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Viena 2009 (Abstract 179).

- Siegelaar SE, Holleman F, Hoekstra JBL, DeVries JH. Glucose variability: Does it matter? *Endocr Rev.* 2010; 31 (2): 171-82.
- Siegelaar SE, Killpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL, Hoekstra JB, DeVries JH. Glucose variability does not contribute to the development of peripheral and autonomic neuropathy in type 1 diabetes: data from the DCCT. *Diabetologia.* 2009; 52 (10): 2229-32.
- 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; 95 (6): 2868-76.
- Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Toeller M, Ferriss B, Reboldi P, Michel G, et al, the EURODIAB Prospective Complications Study Group: Risk factors for coronary heart disease in type 1 diabetic patients in Europe. *Diabetes Care.* 2004; 27 (2): 530-7.
- Soriano-Perera P, De Pablos Velasco PL. Epidemiología de la diabetes mellitus. *Endocrinología y Nutrición.* 2007; 54 Suppl 3: S2-7.
- Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes.* 2002; 51 (4): 1157-65.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989; 320 (14): 915-24.
- Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi AE. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crisis. *Diabetes.* 2004; 53 (8): 2079-86.
- Strazzullo P, Puig JG. Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007; 17 (10): 409-14.
- Swerdlow AJ, Jones ME. Mortality during 25 years of follow-up of a cohort with diabetes. *Int J Epidemiol.* 1996; 25 (6): 1250-61.

- Takeuchi A, Throckmorton DC, Brogden AP, Yoshizawa N, Rasmussen H, Kashgarian M. Periodic high extracellular glucose enhances production of collagens III and IV by mesangial cells. *Am J Physiol.* 1995; 268 (1): F13-19.
- Tanenberg R, Bode B, Lane W, Levetan C, Mestman J, Harmel AP. Use of the continuous glucose monitoring system to guide therapy in patients with insulin-treated diabetes: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc.* 2004; 79 (12): 1521-6.
- Targher G, Bertolini L, Zoppini G, Zenari L, Falsa G. Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diabet Med.* 2005; 22 (8): 999-1004.
- Targher G, Zenari L, Bertolini L, Muggeo M, Zoppini G. Elevated levels of interleukin 6 in young adults with type 1 diabetes without clinical evidence of microvascular and macrovascular complications. *Diabetes Care.* 2001; 25 (5): 956-7.
- Tesfamariam B, Brown ML, Cohen RA. Elevated glucosa impairs endothelium-dependent relaxation by activating protein kinase C. *J Clin Invest.* 1991; 87 (5): 1643-8.
- The Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. Eight-point glucose testing versus the continuous glucose monitoring system in evaluation of glycaemic control in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90 (6): 3387-91.
- The Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group: Accuracy of the Gluowatch G2 Biographer and the continuous glucose monitoring system during hypoglycemia: experience of Diabetes Research in Children Network. *Diabetes Care.* 2004; 27 (3): 722-6.
- The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group. Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2008; 359 (14): 1-13.

- Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1996; 97 (1): 22-8.
- Torlone E, Pampanelli S, Lalli C, Del Sindaco P, Vincenzo A, Rambotti AM, et al. Effects of the short-acting insulin analog [LYS (B28), PRO (B29)] on postprandial blood glucose control in IDDM. *Diabetes Care.* 1996; 19 (9): 945-52.
- Tsai EC, Hirsch IB, Brunzell JD, Chait A. Reduced plasma peroxy radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes.* 1994; 43 (8): 1010-4.
- Tsui E, Barnie A, Ross S, Parkes R, Zinman B. Intensive insulin therapy with insulin lispro: a randomized trial of continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily insulin injection. *Diabetes Care.* 2001; 24 (10): 1722-7.
- Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ. Sex differences in uric acid and risk factors for coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2001; 87 (12): 1411-4.
- Uotila JT, Kirkkola AL, Rorarius M, Taimala RJ, Metsä-Ketela T. The total peroxy radical trapping ability of plasma and cerebrospinal fluid in normal and preeclamptic parturients. *Free Radic Biol Med.* 1994; 16 (5): 581-90.
- Vague P, Selam JL, Skeie S, De Leeuw I, Elte JW, Haahr H, et al. Insulin detemir is associated with more predictable glycaemic control and reduced risk of hypoglycaemia than NPH insulin in patients with type 1 diabetes on a basal-bolus with premeal insulin aspart. *Diabetes Care.* 2003; 26 (3): 590-6.
- Valabhji J, McColl AJ, Richmond W, Schchter M, Rubens MB, Elkeles RS. Total antioxidant status and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24 (9): 1608-13.
- Vanderjagt DJ, Harrison JM, Ratliff M, Hunsaker LA, Vander Jagt DL. Oxidative stress indices in IDDM with and without long-term diabetic complications. *Clin Biochem.* 2001; 34 (4): 265-70.

- Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martsek P, Hogg N, Masters BSS, Karoui H. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci.* 1998; 95 (16): 9220-5.
- Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases e-NOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002; 106 (12): 1439-41.
- Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation.* 2003; 108 (17): 2054-9.
- Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, et al. A self fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation.* 2002; 106 (8): 913-9.
- Vucic M, Gavella M, Bozikov V, Ashcroft SJ, Rocic B. Superoxide dismutase activity in lymphocytes and polymorphonuclear cells in diabetic patients. *European J Clin Biochem.* 1997; 35 (7): 517-21.
- Waring WS, Mcknight JA, Webb DJ, Maxwell SRJ. Uric acid restores endothelial function in patients with type 1 diabetes and regular smokers. *Diabetes.* 2006; 55 (11): 3127-32.
- Waring WS, Webb DJ, Maxwell SRJ. Uric acid as a risk factor for cardiovascular disease. *QJM.* 2000; 93 (11): 707-13.
- Weissberg-Benchell J, Antisdel-Lomaglio J, Seshadri R. Insulin pump therapy. *Diabetes Care.* 2003; 26 (4): 1079-87.
- 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; 51 (1): 183-9.
- West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* 2000; 17 (3): 171-80.

- Williamson JR, Chang K, Frangos M, Hasan KS, Ido Y, Kawamura T, et al. Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*. 1993; 42 (6): 801-13.
- Wilson AM, Ryan MC, Boyle AJ. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease risk marker or pathogen. *Int J of Cardiol*. 2006; 106 (3): 291-7.
- Winterbourn CC. Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Radic Biol Med*. 1993; 14 (1): 85-90.
- Wójcicki JM. Mathematical description of the glucose control in diabetes therapy. Analysis of the Schlichtkrull “M”-value. *Horm Metab Res*. 1995; 27 (1): 1-5.
- Wolkow PP, Niewczas MA, Perkins B, Ficociello LH, Lipinski B, Warram JH, et al. Association of urinary inflammation markers and renal decline in microalbuminuric type 1 diabetics. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19 (4): 789-97.
- Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes*. 2010; 59 (1): 249-55.
- Yasojima K, Schwab C, McGreer EG, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complements in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 2001; 158 (3): 1039-51.
- Yudkin JS, Panahloo A, Stehouwer C, Emeis JJ, Bulmer K, Mohamed-Ali V, et al. The influence of improved glycaemic control with insulin and sulphonylureas on acute phase and endothelial markers in type II diabetic subjects. *Diabetologia*. 2000; 43 (9): 1099-106.
- Zhang L, Zalewski A, Liu Y, Mazurek T, Cowan S, Martin JI, et al. Diabetes- induced oxidative stress and low-grade inflammation in porcine coronary arteries. *Circulation*. 2003; 108 (4): 472-8.

Bibliografia

- Ziegler D, Sohr CGH, Nourooz-Zadeh J. Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic polyneuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2004; 27 (9): 2178-83.
- Zung A, Zadik Z. Continuous subcutaneous glucose monitoring in children with type 1 diabetes. *Pediatrics*. 2002; 109 (2): 347-58.

LISTADO DE ABREVIATURAS

9- LISTADO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

8OHdG: 8-hidroxi-2-deoxiguanosina

ACGC: automonitorización de glucemia capilar

ADA: Asociación Americana de Diabetes

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADRR: *Average Daily Risk Range* (media diaria de rango de riesgo)

AGE: productos finales de la glicación avanzada

Apo B: apolipoproteína B

ARAI: antagonista del receptor de angiotensina II

bNOS : óxido nítrico sintasa cerebral

CGMS: sistema de monitorización continuo de glucemia

DCCT: *Diabetes Control and Complications Trials*

DCCT-EDIC: *Diabetes Control and Complications Trials-Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications*

DM 1: diabetes mellitus tipo 1

eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial

EO: estrés oxidativo

FADH₂: Flavina Adenina Dinucleótido (forma reducida)

FDA: *Food and Drug Administration*

GAPDH: gliceraldehido 3-fostato deshidrogenasa

GPx: glutatión peroxidasa

GRADE: *Glycaemic Risk Assessment Diabetes Equation* (ecuación de evaluación del riesgo glucémico)

GRx: glutatión reductasa

GSH: glutatión reducido

Abreviaturas

GSSG: glutation oxidado

HbA_{1c}: hemoglobina glicosilada

IC: intervalo de confianza

ICAM-1: molécula 1 de adhesión intracelular

IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina

IL-10: interleuquina 10

IL1b: interleuquina 1b

IL-4: interleuquina 4

IL6: interleuquina 6

INF γ : interferón γ

iNOS: óxido nítrico sintasa inducible

ISCI: sistema de infusión continua de insulina

ISPAD: *International Society of Pediatric Diabetes*

Kg: kilogramos

LDL: lipoproteínas de baja densidad

MAGE: *Mean Amplitude Glycaemic Excursions* (amplitud media de las excursiones glucémicas)

MDA: malondialdehido

Mg: miligramos

mmHg: milímetros de mercurio

MODD/MDD: *Mean of Daily Differences* (media de las diferencias diarias)

NAD(P)H: Nicotinamida Adenina Dinucleotido Fosfato

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleotido

NPH: Neutral Protamine Hagedorn

NPL: Neutral Protamine Lispro

Abreviaturas

ON: óxido nítrico

ONs: óxido nítrico sintasa

PCRus: proteína C reactiva ultrasensible

RD: retinopatía diabética

RNA_m: ácido ribonucleico mensajero

RNS: especies reactivas de nitrógeno

ROS: especies reactivas de oxígeno

SD: desviación estándar

SED: Sociedad Española de Diabetes

-SH: grupo sulfhidrilo

SMG: sistema monitorización de glucosa

SOD: superóxido dismutasa

TAS: capacidad antioxidante total del plasma

TBARS: sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúico

TM: terapia multidosis

TNF α : factor de necrosis tumoral alfa

UCP: *Uncoupling Protein* (proteína desacoplante)

UI/kg: unidades de insulina por kilogramo de peso corporal

UI: unidades de insulina

VCAM-1: molécula 1 de adhesión vascular

ANEXOS

10- ANEXOS

Anexo 1: Indicaciones ISCI en Andalucía

Anexo 2: Consentimiento informado

Anexo 3: Historia clínica protocolizada

Anexo 4: Programa de Educación Diabetológica Avanzado

Anexo 5: Programa de Educación Diabetológica para ISCI

Anexo 6: Escala de satisfacción con el tratamiento

ANEXO 1

INDICACIONES PARA LAS QUE SE AUTORIZA LA INSTAURACIÓN DE BOMBAS DE INFUSIÓN CONTINUA DE INSULINA

1. Planificación de gestación, sin lograr buen control con tratamiento intensivo.
2. Mal control metabólico (HbA_{1c} elevada), a pesar de tratamiento optimizado y colaboración del paciente.
3. Inestabilidad glucémica y/o perfil de glucemia caótico, a pesar de tratamiento y colaboración apropiados (con HbA_{1c} aceptable o buena).
4. Diabetes inestable.
5. Hipoglucemias frecuentes, limitantes.
6. Fenómeno de alba.

Adaptado del modelo de solicitud de tratamiento con bombas de infusión continua de insulina para el Servicio Andaluz de Salud (Resolución SC 566/03 de 16 de Junio de 2003).

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIABILIDAD GLUCÉMICA Y DE LA TERAPIA CON BOMBAS DE INFUSIÓN CONTINUA DE INSULINA EN EL ESTADO OXIDATIVO E INFLAMATORIO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1.

Solicitamos su permiso para participar en el estudio que se está desarrollando en el Hospital Virgen del Rocío, dependiente de la Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición. Para ello, se recogerán datos referentes a peso, talla y presión arterial y se realizará una extracción de sangre en ayunas que será empleada para realizar determinadas medidas relacionadas con la diabetes y sus complicaciones. Estas medidas se realizarán al inicio del estudio y una vez al mes durante 3 meses. En el caso de que vaya a iniciar tratamiento con una bomba de insulina, el estudio se iniciará inmediatamente antes de la colocación de la misma y finalizará a los 3 meses de su colocación. Además se medirán los niveles de glucosa en sangre durante 3 días consecutivos a través de un sensor de glucosa. El sensor se coloca debajo de la piel del abdomen a través de un catéter y permite medir el nivel de glucosa cada 5 minutos. Las mediciones se almacenan en un dispositivo portátil del tamaño de un teléfono móvil. La colocación del sensor es prácticamente indolora, está exenta de riesgos y únicamente genera la incomodidad de tener colocados el catéter y el dispositivo portátil. El sensor nos permitirá conocer exactamente cuáles son los niveles de glucosa a lo largo de 3 días y en el caso de que sea usted diabético permitirá ajustar con más exactitud el tratamiento para su diabetes.

En cualquier momento durante el estudio podría abandonarlo si lo deseara, pudiendo finalizarlo igualmente su médico si lo creyera oportuno. No existe obligación de finalizar el estudio, y si eso ocurriera no tendría ninguna repercusión en su posterior control y tratamiento.

Los datos obtenidos serán confidenciales y de interés exclusivamente científico.

Título del estudio: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA VARIABILIDAD GLUCÉMICA Y DE LA TERAPIA CON BOMBAS DE INFUSIÓN CONTINUA DE INSULINA EN EL ESTADO OXIDATIVO E INFLAMATORIO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1.

Yo

.....

,

he hablado

con.....,

he leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha

Firma del participante

Firma del Facultativo

ANEXO 3

HISTORIA CLÍNICA PROTOCOLIZADA

1. Datos de filiación:

- Nombre y apellidos
- Fecha de nacimiento
- Dirección
- Número de teléfono

2. Antecedentes familiares de interés. Anotar la presencia de

- Factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hiperlipemia, hiperuricemia)
- Enfermedad macrovascular
- Neoplasias
- Obesidad

3. Antecedentes personales de interés. Anotar la presencia de:

- Factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hiperlipemia, hiperuricemia, tabaquismo)
- Trastornos respiratorios (apnea obstructiva del sueño, enfermedad pulmonar obstructiva crónica)
- Intervenciones quirúrgicas previas
- Alergias medicamentosas conocidas
- Tratamientos farmacológicos actuales

4. Enfermedad actual:

- Tiempo de evolución de la diabetes
- Presencia de complicaciones microangiopáticas, según despistaje realizado en los seis meses previos a la inclusión
 - Retinopatía diabética, evaluada mediante fondo de ojo bajo midriasis y/o angiofluoresceína:
 - Ausente
 - Retinopatía diabética no proliferativa
 - Retinopatía diabética proliferativa

- Edema macular
- Nefropatía diabética, evaluada mediante la relación albúmina creatinina en muestra de orina:
 - Ausente (albuminuria <30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina)
 - Microalbuminuria (albuminuria 30-299 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina)
 - Macroalbuminuria (albuminuria >299 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina)
 - Insuficiencia renal crónica establecida
- Neuropatía diabética:
 - Ausente
 - Presente (exploración sensitiva mediante monofilamento y/o neurotensiómetro patológicos)
- Presencia de complicaciones macroangiopáticas:
 - Cardiopatía isquémica crónica
 - Arteriopatía periférica
 - Enfermedad cerebrovascular
- Tratamiento insulínico en el momento de la inclusión en el estudio

5. Examen físico:

- Cuello: palpación. Anotar presencia de bocio o nódulos tiroideos
- Auscultación cardiorrespiratorio
- Abdomen: inspección, palpación y percusión
- Miembros inferiores: anotar la presencia de edemas, signos de trombosis venosa o insuficiencia venosa periférica. Palpación de pulsos pedios
- Medidas antropométricas:
 - Peso y talla. Cálculo del índice de masa corporal (peso en kg dividido entre la altura en metros al cuadrado)
 - Presión arterial y frecuencia cardíaca
 - Circunferencia de la cintura (en el punto medio entre la espina iliaca anterosuperior y el reborde costal inferior)

ANEXO 4. Programa de Educación Diabetológica Avanzado.

Contenido educativo del programa de Educación Diabetológica Avanzado.

Primera sesión

- Valoración inicial para detectar posibles errores en el manejo de su tratamiento actual o causas que lo pueden provocar.
- Revisión de las zonas de inyección: técnicas de rotación y autoexploración de éstas para detectar zonas en mal estado con lipodistrofias parciales o hematomas.
- Modos de conservación de la insulina.
- Cuaderno de anotaciones de los autocontroles de glucemia capilar: importancia de la sistematización de las anotaciones y autoaprendizaje de su lectura.
- Información sobre los diferentes tipos de insulina: tipo (rápida/acción prolongada), tiempo de comienzo de la acción y vida media.
- Objetivos de control metabólico (glucemias preprandiales y postprandiales y hemoglobina glicosilada).
- Establecimiento del número de autocontroles de glucemia capilar necesarios para poder conseguir un buen control metabólico.
- Se avanzará brevemente los contenidos educativos de las siguientes sesiones.

Segunda sesión

- Modificación y titulación de las dosis de insulina: cuándo, cómo y por qué es necesario realizar cambios en la dosificación. Se realizarán ejemplos prácticos que asemejen situaciones reales posibles.
- Bolos correctores en situaciones de hiperglucemia: explicación del factor de sensibilidad a la insulina a partir de la regla de 1500 ó 1800.
- Manejo de la diabetes en los días de enfermedad: cuándo es necesario la determinación de cetonas en orina y cómo realizar los cambios necesarios en su plan terapéutico en caso de enfermedad.
- Presentación de casos prácticos y resolución de éstos.

Tercera sesión

- Se resolverán las dudas que se puedan haber generado de las explicaciones de los días previos.
- Alimentación por raciones e intercambios: aprender a distinguir los principales grupos de alimentos (macronutrientes: hidratos de carbonos, proteínas y lípidos y micronutrientes: oligoelementos y vitaminas). Conocer el concepto de ración y su utilidad para intercambiar éstos. Utilización del vaso medidor para calcular raciones del grupo de las harinas así como medidas en volumen y peso.

Cuarta sesión

- Alimentación: ejercicios prácticos para calcular las raciones con la lista de alimentos que los pacientes aportan. Lectura de la composición nutricional de alimentos envasados y cálculo de raciones en éstos.
- Algoritmo de modificación de insulina cuando se realizan cambios en la alimentación (aumento o disminución de raciones).

Quinta sesión

- Se resolverán las dudas que se puedan haber generado de las explicaciones de los días anteriores.
- Se revisa el cuaderno de autocontrol de la glucemia capilar.
- Ejercicio físico: explicación sobre lo que ocurre durante el ejercicio físico programado y no programado. Actuación ante la actividad física. Resolución de casos prácticos.
- Actuación en viajes: diferencias horarias, comidas en los aviones...
- Importancia del abandono del hábito tabáquico y de la programación de la gestación en mujeres en edad fértil.
- Cuidados de los pies: autoobservación, criterios de pie de riesgo que precisa extremar la vigilancia.

ANEXO 5. Programa de Educación Diabetológica para ISCI.

Contenido educativo del programa de Educación Diabetológica específica para pacientes candidatos a ISCI.

Los contenidos educativos de este programa se dividen en tres fases: contenidos educativos antes de la instauración de ISCI (pre-ISCI), el día de la implantación y una educación avanzada de refuerzo posterior (educación avanzada post-ISCI).

1) Contenidos educativos pre- ISCI

Primera sesión

- Conocer el fundamento del sistema ISCI .Ventajas e inconvenientes.
- Reconocer los elementos que componen el sistema ISCI.
- Conocer los requisitos básicos antes de iniciar el aprendizaje.
- Conocer cuáles son los objetivos de control glucémico.
- Conceptos básicos de la administración de insulina: tasa basal (ritmo de infusión basal) y bolos (bolos preprandiales y correctores).
- Reconocer zonas y técnica de inserción del catéter.

Segunda sesión

- Saber reconocer y resolver situaciones especiales:
 - o Hipoglucemias leves, moderadas y graves.
 - o Hiperglucemia y cetosis.
- Saber calcular el Factor de Sensibilidad y manejo de la Regla de 1800.
- Conocer las recomendaciones dietéticas en caso de hiperglucemia y cetosis.
- Se realizarán ejercicios prácticos para resolver las situaciones de hipo e hiperglucemia.

Tercera sesión

- Alimentación :

- Revisar los conocimientos sobre la terapia médica nutricional.
- Repaso del cálculo de raciones de hidratos de carbono y del índice insulina/hidratos de carbono.
- Realización de ejemplos de dieta por raciones.
- Se determinará y ajustará la dieta base y el número de raciones de hidratos de carbono en cada ingesta.

Cuarta sesión

- Saber calcular las raciones de hidratos de carbono en productos elaborados.
- Alimentación en situaciones especiales.
- Manejo de ISCI realizando ejercicios prácticos de programación de bolos y tasas basales temporales.
- Saber programar diferentes patrones con ISCI.
- Saber la actitud a tomar antes diferentes situaciones: enfermedad, viajes y ejercicio.

Quinta sesión

- Conocer el algoritmo de desconexión temporal y se realización de ejemplos prácticos.
- Conocer la pauta alternativa de desconexión.
- Trabajar con la ISCI:
 - Realizar simulacros de desconexión
 - Realizar ejercicios de programación y cálculos de dosis
- Saber el material imprescindible que deben llevar consigo.

Sexta sesión

- Se realizará, en un plazo inferior a un mes, un refuerzo educativo en el que se repasa:
 - Si está determinando y anotando de forma correcta el número de hidratos de cada ingesta.

- Si está haciendo ajustes de insulina utilizando el factor de sensibilidad y la regla de 1800.
- Se pasará un cuestionario para valorar los conocimientos y habilidades adquiridos a lo largo del curso.
- Rellenarán el “Cuestionario de satisfacción con el tratamiento de la diabetes” (DTSQ de Bradley, adaptado).
- Se entregará información de todos los temas impartidos.
- Una vez aprobada por la Comisión Hospitalaria y aceptada la implantación de la ISCI, se cita de nuevo al paciente para:
 - Entrega de ISCI para que trabaje con ella durante unos días en su casa.
 - Se entrega información escrita sobre la pauta de insulina del día previo a la implantación.
 - Se recuerda el material necesario que deben traer el día de su implantación.
 - Se resuelven las dudas que tenga el paciente.
 - Se cita para el día de su implantación.

2) Día de instauración de ISCI

Primer día

- El paciente se presenta en Hospital de Día de Diabetes con su material.
- Programa su tasa basal según pauta y se conecta la ISCI realizando todos los pasos:
 - Zona de inserción.
 - Inserción del catéter.
 - Llenado del reservorio.
 - Cebado.
 - Inserción.
- Se le dan de nuevo recomendaciones a tener en cuenta:
 - Condiciones de asepsia.
 - Horario para el cambio de catéter.
 - Mediciones de glucosa.
 - Rotación de zonas de inserción.
 - Rigor en el cambio de catéter y reservorio de insulina.

- Permanece toda la mañana en la Unidad realizándose autocontroles y ajustes de dosis si fuera necesario.

Segundo día

- Se revisan las dudas surgidas.
- Se comprueba el ajuste de dosis y la ingesta de hidratos de carbono.
- Se reprograma la tasa basal si fuera necesario.

Tercer día

- Se revisan las dudas surgidas.
- Se comprueba el ajuste de dosis y la ingesta de hidratos de carbono.
- Se reprograma la tasa basal si fuera necesario.

Cuarto día

- Se revisan las dudas surgidas.
- Se comprueba el ajuste de dosis y la ingesta de hidratos de carbono.
- Reajuste, si es preciso, de la tasa basal temporal.

Quinto día

- Se revisa las dudas surgidas.
- Se recuerdan las pautas de desconexión temporal.

3) Educación avanzada post-ISCI

Un mes después de instaurada y tras el alta en la Unidad de Día, se citan de nuevo para un curso de Educación Avanzada. Su duración es de tres días y se tratan los siguientes contenidos:

- Tipos de bolos.
- Diferentes patrones basales.
- Pautas de desconexión.
- Actuaciones en situaciones especiales: ejercicio, enfermedad, viajes...

ANEXO 6

CUESTIONARIO DE SATISFACCIÓN CON EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES (DTSQ de Bradley, adaptado).

Las siguientes preguntas se refieren al tratamiento de su diabetes y su experiencia en estas últimas dos semanas. Por favor, conteste a cada pregunta rodeando con un círculo un número en cada una de las escalas.

1. ¿Está usted satisfecho con su tratamiento actual? ¿Cuánto?

Muy satisfecho 6 5 4 3 2 1 0 Muy insatisfecho

2. Últimamente, ¿con qué frecuencia ha considerado usted que su nivel de azúcar en sangre estaba demasiado alto?

Nunca 6 5 4 3 2 1 0 Casi todo el tiempo

3. Últimamente, ¿con qué frecuencia ha considerado usted que su nivel de azúcar en sangre estaba demasiado bajo?

Nunca 6 5 4 3 2 1 0 Casi todo el tiempo

4. Últimamente, ¿considera usted que su tratamiento es conveniente? ¿Cuánto?

Muy conveniente 6 5 4 3 2 1 0 Muy inconveniente

5. Últimamente, ¿considera usted que su tratamiento es flexible? ¿Cuánto?

Muy flexible 6 5 4 3 2 1 0 Muy inflexible

6. ¿Está usted satisfecho con el conocimiento de su diabetes? ¿Cuánto?

Muy satisfecho 6 5 4 3 2 1 0 Muy insatisfecho

7. ¿Le recomendaría usted esta forma de tratamiento a alguien?

Sí, definitivamente 6 5 4 3 2 1 0 No, definitivamente
recomendaría el no recomendaría el
tratamiento tratamiento

8. ¿Estaría satisfecho de continuar el tratamiento actual?

Muy satisfecho 6 5 4 3 2 1 0 Muy insatisfecho